



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA
MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

“Efecto del tratamiento de ultrasonido de alta intensidad y agua subcrítica sobre un concentrado proteico del chapulín de milpa (*Sphenarium purpurascens*), en la fragmentación de la tropomiosina y en sus características tecnofuncionales”

Tesis
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:
IBP. Nayeli del Carmen Mendoza Medina

Dirigido por:
Dr. Eduardo Castaño Tostado

Santiago de Querétaro, Qro. Octubre 2024

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

“Efecto del tratamiento de ultrasonido de alta intensidad y agua subcrítica sobre un concentrado proteico del chapulín de milpa (*Sphenarium purpurascens*), en la fragmentación de la tropomiosina y en sus características tecnofuncionales”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestra en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

IBP. Nayeli del Carmen Mendoza Medina

Dirigido por:

Dr. Eduardo Castaño Tostado

Asesores:

Dr. Eduardo Castaño Tostado
Asesor

Firma

Dr. Gustavo Adolfo Castillo Herrera
Asesor

Firma

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano
Asesor

Firma

Dra. Ma. Anaberta Cardador Martínez
Asesor

Firma

Dra. Ma. Estela Vázquez Barrios
Asesor

Firma

Nombre y Firma
Director de la Facultad

Nombre y Firma
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario Querétaro, Qro.

Resumen

El chapulín de milpa (*S. purpurascens*), es una fuente de proteína de alta calidad cuyo consumo está limitado por la alergenicidad asociada a la proteína tropomiosina (TM). Este estudio tuvo como objetivo reducir la TM en concentrados proteicos de chapulín mediante tratamientos de ultrasonido (US) y agua subcrítica (AS), evaluando el impacto en las propiedades tecnofuncionales de la proteína tratada. El concentrado proteico se obtuvo por tratamiento alcalino y se caracterizó bromatológicamente antes y después de cada tratamiento de US y de AS; El concentrado proteico se sónico a 20 kHz a 20 minutos, 400 W de potencia y variando la duración de pulsados y calentamiento. Cuantificando la presencia de TM (ng/mL) por el método ELISA. El tratamiento de US a 400 W, 20 min, con pulsos continuo y acoplado con calentamiento logró una reducción del $27.49 \pm 1.37\%$ en el contenido de TM. Por su parte, el tratamiento con AS fue sometido a 130°C , 20 MPa y utilizando 1.0 M de ácido cítrico, redujo cerca del 90% de TM con mejoras en las propiedades funcionales, incrementó la capacidad espumante ($34.44 \pm 1.57\%$), emulsificante ($78.47 \pm 2.8\%$) y su índice de solubilidad a pH de 7.0 ($35.87 \pm 1.30\%$); en contraste con US el cual solo mejoró la capacidad de retención de aceite ($8.21 \pm 0.23 \text{ g/g}$). con el propósito de promover la inclusión de insectos en la dieta humana, se formuló un dulce tomando de base el típico dulce a base de tamarindo incorporando harina de chapulín sin tratar con US o AS, el cual mostró tener un alto contenido de proteína (9.81 %), grasa (1.28 %) y fibra (8.33 %). Además, se evaluó la vida de anaquel determinándose que a partir de la cuarta semana a temperatura ambiente (25°C) el producto comenzó a perder sus atributos de calidad, en particular en su textura (pérdida de humedad). En conclusión, el estudio muestra el potencial de las tecnologías emergentes, como US y AS, para la reducción de proteínas alergénicas en alimentos, finalmente, la inclusión de chapulín en la matriz alimentaria fue bien aceptado por los panelistas y nos brindó información valiosa en su vida de anaquel.

PALABRAS CLAVE: *Sphenarium purpurascens*, tropomiosina, ultrasonido, agua subcrítica.

Abstract

The milpa grasshopper (*Sphenarium purpurascens*) is a high-quality protein source, whose consumption is limited by allergenicity associated with the protein tropomyosin (TM). This study aimed to reduce TM in grasshopper protein concentrates through ultrasound (US) and subcritical water (SW) treatments, evaluating the impact on the techno functional properties of the treated protein. The protein concentrate was obtained through alkaline treatment and bromatological characterized before and after each US and SW treatment, quantifying the presence of TM (ng/mL) using the ELISA method. The concentrate was sonicated at 20 kHz for 20 minutes, with a power of 400 W, varying pulse duration and heating. The US treatment at 400 W, 20 min, with continuous pulses and heating achieved a $27.49 \pm 1.37\%$ reduction in TM content. Meanwhile, the SW treatment, conducted at 130°C , 20 MPa, using 1.0 M citric acid, reduced TM by approximately 90%, with improvements in functional properties, such as foaming capacity ($34.44 \pm 1.57\%$), emulsifying capacity ($78.47 \pm 2.8\%$), and solubility index at pH 7.0 ($35.87 \pm 1.30\%$), in contrast to US, which only improved oil retention capacity (8.21 ± 0.23 g/g). To promote the inclusion of insects in the human diet, a sweet product was formulated based on traditional tamarind candy, incorporating untreated grasshopper flour (without US or SW), which showed a high protein (9.81%), fat (1.28%), and fiber (8.33%) content. Additionally, the shelf life was evaluated, determining that by the fourth week at room temperature (25°C), the product began to lose quality attributes, particularly in texture (moisture loss). In conclusion, the study proves the potential of emerging technologies, such as US and SW, for reducing allergenic proteins in food. Finally, the inclusion of grasshopper in the food matrix was well accepted by the panelist and provided valuable information about its shelf life.

KEY WORDS: *Sphenarium purpurascens*, allergenicity, tropomyosin, ultrasound.

DECLARACIÓN DE RESPONABILIDAD DE ESTUDIANTE:

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.

Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentada en el documento.



*Napoleón
Leyenda.*

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi profundo agradecimiento a mi asesor, el Dr. Eduardo Castaño Tostado, por su tiempo, dedicación y paciencia. Por sus enseñanzas y su calidad de ser maestro, gracias por hacer posible este proyecto.

También agradezco a mis asesores, la Dra. Silvia Amaya, Dra. Estela Barrios, Dra. Anaberta Cardador, Dr. Gustavo Castillo, y al Dr. Isac Rivas, por su tiempo, conocimiento, observaciones y correcciones que favorecieron a este trabajo.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT). Por la beca otorgada para realizar los estudios de maestría CVU: 192754

Agradezco a mis compañeros y amigos de laboratorio, Silvi, Lulú e Isac, por su compañía, amistad y apoyo. Igualmente agradezco a las personas que se integraron en este proceso, en especial a Tere por su amor, paciencia y apoyo.

Finalmente, expreso mi gratitud infinita a mi familia, a mis tíos, a mis padres y a mis hermanas, por estar siempre a mi lado, por confiar en mí y alentarme a creer en mis capacidades. Gracias por todo.

Índice	Página
Resumen	3
Abstract	4
DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE:	5
AGRADECIMIENTOS	6
Índice de Figuras	9
Índice de Tablas	10
Introducción	11
2. Antecedentes	13
2.1 Insectos como alimento: valor nutricional de los insectos	13
2.1.1 Composición nutricional de <i>Sphenarium purpurascens</i>	14
2.1.2 Toxicidad de los insectos comestibles	15
2.2 Desarrollos para la crianza de insectos comestibles	17
2.3 Impacto de los insectos comestibles: económico y social	18
2.3.1 Tendencias en el mercado	19
2.4 Concentrados de proteína de insecto: propiedades y obtención	19
2.4.1 Propiedades funcionales de la proteína de insectos	21
2.5 Alergias alimentarias	22
2.5.1 Alergenicidad en insectos comestibles: riesgo para los consumidores	23
2.5.2 Reacción cruzada: tropomiosina	24
2.5.3 Predicción de epítomos	26
2.6 Reducción de la alergenidad de insectos comestibles	27
2.6.1 Proceso de ultrasonido para la eliminación de alérgenos	28
2.6.2 Cambios conformacionales en la proteína por el tratamiento de Ultrasonido	31
2.7 Proceso de agua subcrítica para la eliminación de alérgenos	32
3. Justificación	33
4. Objetivos	34
4.1 Objetivo General	34
4.2 Objetivos específicos	34
5. Metodología	34
5.1 Obtención del concentrado proteico	35
5.1.2 Caracterización proximal: muestras de extracto proteico	35
5.1.3 Determinación de quitina	36

5.1.4 Evaluación del tratamiento de ultrasonido	36
5.1.5 Evaluación del tratamiento con agua subcrítica	37
5.2 Caracterización: Ensayo ELISA tipo Sándwich para la detección de tropomiosina	37
5.4 Propiedades tecnofuncionales del extracto de proteína	38
5.4.1 Solubilidad	38
5.4.2 Capacidad de retención de agua y capacidad de retención de aceite	39
5.4.3 Capacidad de formación y estabilidad de emulsiones	39
5.5 Digestibilidad	39
5.6 Formulación de golosina	40
5.7 Análisis vida de anaquel y análisis sensorial del producto de confitería	41
5.8 Diseño y análisis estadísticos	42
6. Resultados y discusión	43
6.1 Caracterización proximal del material	43
6.2 Propiedades tecno funcionales de la harina de chapulín y del concentrado proteico	44
6.3 Solubilidad	46
6.4 Capacidad de retención de agua	47
6.5 Capacidad de retención de aceite	47
6.6 Capacidad de formación de emulsión	48
6.7 Capacidad de formación de espuma	49
6.8 Efectos de los tratamientos de ultrasonido y agua subcrítica sobre la harina de chapulín y del concentrado proteico	49
6.9 Electroforesis en gel SDS-PAGE	52
6.10 Digestibilidad	53
6.11 Formulación de Golosina	55
6.12 Análisis microbiológico del dulce con harina de chapulín	56
6.13 Análisis sensorial del producto de confitería	57
6.14 Análisis nutrimental del producto	62
6.15 Análisis vida de anaquel del dulce con harina de chapulín	65
7. Conclusiones	69
9. REFERENCIAS	71

Índice de Figuras

Figura	Página
Figura 1 Morfología del chapulín <i>S.purpurascens</i>	15
Figura 2 Estructura de la tropomiosina predicho por Robetta server.....	25
Figura 3 Proyecciones de los componentes principales de las determinaciones tecnofuncionales de los tratamientos.....	45
Figura 4 Contenido de tropomiosina (ng/ml) de concentrado proteico de chapulín y cada uno de los tratamientos con ultrasonido y agua subcrítica.....	51
Figura 5 Electroforesis SDS-PAGE del concentrado proteico y los diferentes tratamientos.....	52
Figura 6 Porcentaje de Digestibilidad de la materia prima y de los concentrados proteicos.....	55
Figura 7 Gráfico de la evaluación sensorial de las formulaciones para el dulce de tamarindo con chapulín (CHAPULÍN) y formulación sin chapulín (CONTROL).....	58
Figura 8 Gráfico de la evaluación sensorial del grupo “HOMBRES” para el atributo SABOR, para las formulaciones de dulce de tamarindo con chapulín (CHAPULÍN) y formulación sin chapulín (CONTROL).....	58
Figura 9 Gráfico de la evaluación sensorial del grupo “MUJERES” para el atributo SABOR, para las formulaciones de dulce de tamarindo con chapulín (CHAPULÍN) y formulación sin chapulín (CONTROL).....	59
Figura 10 Proyecciones de los componentes principales para el grupo “HOMBRES” de las determinaciones sensoriales, lado izquierdo, proyección de las variables (ATRIBUTO) lado izquierdo, proyección de evaluación de cada individuo por cada formulación (CONTROL y CHAPULÍN).....	60
Figura 11 Proyecciones de los componentes principales para el grupo “MUJERES” de las determinaciones sensoriales, lado izquierdo, proyección de las variables (ATRIBUTO) lado izquierdo, proyección de evaluación de cada individuo por cada formulación (CONTROL y CHAPULÍN).....	61
Figura 12 Dulce de tamarindo con la inclusión de 10% de proteína de chapulín, con 3 sellos según la NOM-051.....	63
Figura 13 Regresión lineal para el porcentaje de AGL, representados por el índice de acidez, en el dulce de tamarindo con harina de insecto a lo largo del tiempo.....	66
Figura 14 Cinética de humedad del dulce de tamarindo con harina de insecto a lo largo del tiempo.....	68
Figura 15 Evolución de la actividad de agua (A_w) en función del tiempo. Relación entre la Oxidación de grasas y Riesgo microbiológico.....	68

Índice de Tablas

Tabla	Página
Tabla 1. Propiedades funcionales de las proteínas.	21
Tabla 2. Ingredientes para la formulación de dulce con proteína de chapulín.	40
Tabla 3 Caracterización proximal del material para la harina de chapulín y para el concentrado proteico.	44
Tabla 4 Propiedades Tecnofuncionales para cada uno de los tratamientos, control, Ultrasonido y Agua Subcrítica.	46
Tabla 5 Formulación Típica Dulce de tamarindo.	56
Tabla 6 Análisis microbiológicos Coliformes Totales, Mohos y Levaduras y Mesófilos aerobios del dulce con la harina de chapulín.	56
Tabla 7 Declaración Nutrimental. Parte de arriba, formulación de dulce de tamarindo con la inclusión del 10% de proteína de chapulín.	64

Introducción

Es importante promover el consumo de insectos, ya que pueden ser una estrategia clave para enfrentar desafíos económicos, ambientales y nutricionales. Por otro lado, los insectos son una fuente rica en proteínas, grasas, minerales y vitaminas, y su cría utiliza menos recursos naturales en comparación con la ganadería tradicional. Además, su producción genera menos emisiones de gases de efecto invernadero (Marchi et al., 2021).

Sphenarium purpurascens (orthoptera: pyrgomorphidae), conocido comúnmente como “chapulín de milpa”, es la especie de chapulín más abundante en México con una distribución geográfica por estados de Oaxaca, Guerrero, Michoacán, Jalisco, Puebla, Hidalgo, Morelos, Ciudad de México, Chiapas y Tabasco (Cuj-Laines et al., 2018); (Torruco-Uco et al., 2019). De los reportes disponibles en la caracterización de *S. purpurascens*, se ha determinado que presenta un contenido de proteína entre 56% a 76% (Rodríguez-Miranda et al., 2019). Diferentes estudios han mostrado que la proteína contiene todos los aminoácidos esenciales con un contenido mayor de isoleucina, leucina, lisina, treonina, valina e histidina (Melo-Ruiz et al., 2015), lo que la posiciona como una alternativa de proteína de alta calidad. Sin embargo, los productos derivados de insectos comestibles pueden presentar algunos riesgos potenciales de seguridad debido a la presencia de metales pesados, contaminantes químicos y microbiológicos; aparte, puede exhibir efectos nocivos en las personas que padecen alergias hacia los artrópodos. En consecuencia, ante riesgos alergénicos, es necesario identificar procesos para su reducción (Barre et al., 2021).

Algunos procesos industriales como tratamientos térmicos, hidrólisis enzimáticas, ultrasonido (US), microondas (MW) e incluso altas presiones hidrostáticas (HPP), pueden ser útiles para tratar harinas de insectos para incrementar sus aplicaciones (Boukil et al., 2022), además de mejorar las propiedades tecnofuncionales de las proteínas, incluyendo las de insectos. Estas propiedades están principalmente relacionadas con la estructura y composición de aminoácidos. Para el uso de concentrados proteicos de insectos, es esencial entender su composición y sus propiedades tecnofuncionales como su

solubilidad, estabilidad, capacidad gelificante, emulsionante y espumante (Bußler et al., 2016).

Algunas técnicas de procesamiento pueden alterar las proteínas al inducir la desnaturalización, formación de agregados proteicos o reordenamiento de las proteínas que conducen cambios para la reducción de alérgenos. Se ha mostrado que los tratamientos no térmicos han sido efectivos para alterar la reactividad de los alérgenos en varios alimentos (Shriver & Yang, 2011).

Debido a lo anterior, es importante evaluar la elección de una tecnología de procesamiento que considere el efecto sobre las propiedades funcionales, la seguridad, calidad sensorial y nutricional del producto.

En este estudio el interés estuvo centrado en harinas de *Sphenarium purpurascens* con contenido de tropomiosina causante de reacciones alérgicas.

Por lo tanto, se propuso, a partir de un concentrado de proteína de insecto comestible *Sphenarium purpurascens*, evaluar los tratamientos de ultrasonido de alta intensidad y su comparación con agua subcrítica, para reducir el contenido de tropomiosina. Además, desde un punto de vista tecnológico, fue importante evaluar las propiedades tecnofuncionales de la harina de chapulín para caracterizarla como ingrediente potencial en la formulación de nuevos productos alimenticios. Finalmente, en otra vertiente del estudio, se formuló y evaluó sensorialmente una golosina mexicana que incorporó como un ingrediente a la harina de chapulín pero sin tratamiento alguno.

2. Antecedentes

2.1 Insectos como alimento: valor nutricional de los insectos

Los insectos son una clase de animales invertebrados que incluyen alrededor de un millón de especies diferentes; sin embargo, solo un pequeño porcentaje de estas especies son consideradas comestibles. China y Tailandia también son productores y consumidores líderes, por su parte, México es un país con una amplia diversidad de insectos, incluyendo más de 500 especies de insectos comestibles, lo que lo convierte en un país líder en este tipo de alimentación (Gahukar, 2016).

Las características nutricionales de los insectos pueden variar dependiendo de las diferentes etapas del ciclo de vida de éste; desde huevo, larva, pupa, ninfa y la etapa adulta, estas características se encuentran asociadas a la especie y están estrechamente delimitadas a la alimentación proporcionada y el momento en que son consumidas como alimento, pues una misma especie suele ser consumida en una o dos de sus etapas de desarrollo. El contenido de proteínas, en etapa adulta suele ser el mayor y varía entre un 20% a 70% (según la especie), se considera que es una proteína de calidad por su riqueza en aminoácidos esenciales que son importantes para el crecimiento y desarrollo humano, en cuanto a su contenido de lípidos puede variar entre el 5% a 35% (con mayor concentración en etapas larvales o primeros estadíos); por su parte, el contenido de carbohidratos este varía de 2% a 10%. Además, los insectos son una fuente de vitaminas y minerales, como la vitamina (B₁₂) y minerales (hierro, calcio y selenio) (Van Huis et al., 2013).

Es importante tener en cuenta que el contenido nutricional, depende de la variedad y el tipo de insecto comestible. Además, su crianza y procesamiento pueden afectar su valor nutricional (Marchi et al., 2021).

En comparación con algunas proteínas tradicionales, como la carne de pollo y de res, con un porcentaje de proteína entre 19.3% y 21.8 % (en base seca), los insectos poseen un mayor contenido proteico, como es el caso del grillo y gusano con un valor entre 59% y 72% respectivamente (Kouřimská & Adámková , 2016).

El cultivo de grillo (*Acheta domesticus*), perteneciente al orden de Ortóptera, es una de las especies de mayor interés debido a su alto porcentaje de proteína. Su consumo tiene beneficios para los seres humanos, ya que se ha demostrado su capacidad antioxidantes, antiinflamatorias, antidiabéticas y antiobesogénicas (Kemsawasd et al., 2022).

En un experimento, se administró a veinte individuos adultos sanos de entre 18 y 65 años, 25 g/día de polvo de grillo entero durante un lapso de 14 días. Los hallazgos indicaron que la ingesta de grillo tuvo efecto positivo sobre la presencia de *Bifidobacterium animalis*, teniendo un impacto benéfico sobre el microbiota intestinal (Stull et al., 2018).

La importancia del potencial de los insectos como fuente de proteína de alta calidad, tiene cada vez mayor relevancia. Según la Food and Agriculture Organization (FAO, 2021), para 2030 se deberá alimentar a más de 9 000 millones de personas y a miles de millones de animales de crianza con fines alimentarios, recreativos y como mascotas, además, la misma FAO, estima que para el año 2050, se debe producir un 70% más de alimentos para consumo humano, lo cual indica que se deben buscar alternativas para enfrentar estas situaciones. De manera que los insectos comestibles pueden ser una alternativa viable.

2.1.1 Composición nutricional de *Sphenarium purpurascens*

S. purpurascens, tiene la característica de una cabeza triangular y dividida de forma simétrica por una línea central, su cuerpo es robusto, alargado y posee alas pequeñas, siendo las hembras adultas más grandes, fuertes, con cabeza más grande y antenas pequeñas (Figura 1). Según la especie puede variar de color desde un verde hasta tonalidades grises y marrones, dependiendo de la vegetación donde se desarrollan (Castellanos-Vargas et al., 2009).

De los reportes disponibles en la caracterización de *S. purpurascens*, se ha determinado que presenta un contenido de proteína entre 56% a 76% (Rodríguez-Miranda et al., 2019). En cuanto a su composición de lípidos, *S. purpurascens* presenta altos niveles de

ácidos grasos poliinsaturados (cerca del 69.3%), sin embargo, el contenido de lípidos para esta especie es relativamente bajo, en comparación con otras especies (Torruco-Uco et al., 2019). Es necesario realizar más estudios que establezcan el tipo de ácidos grasos presentes en *S. pupurascens* (Rodríguez-Miranda et al., 2019).

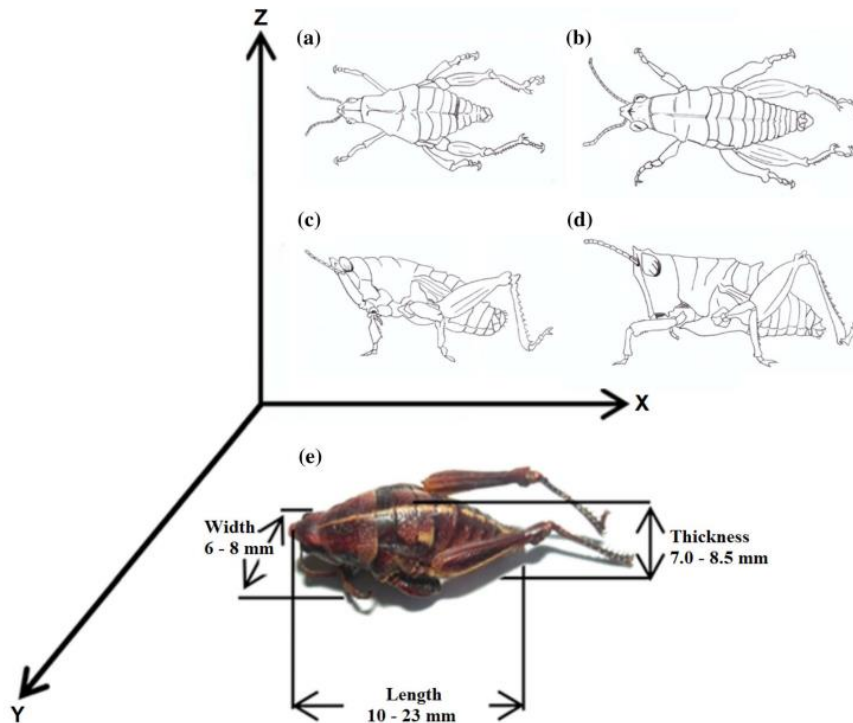


Figura 3 Morfología del chapulín *S.pupurascens*, a) y c), insecto macho. b) y d) insecto hembra. e) dimensiones promedio del chapulín de milpa (Rodríguez-Miranda et al., 2019).

En cuanto a su perfil de aminoácidos, según datos disponibles en la literatura, es posible afirmar que posee un gran contenido de isoleucina, leucina, lisina, metionina, cisteína, fenilalanina, tirosina, treonina, valina e histidina, siendo mayoritariamente su composición de aminoácidos esenciales (Ramos-Elordy 2012).

2.1.2 Toxicidad de los insectos comestibles

Existen aún desafíos que se deben afrontar, para convertir la entomofagia en una práctica común. El riesgo de que los insectos recolectados en campo estén contaminados por plaguicidas, metales pesados o microorganismos patógenos, que

podría resultar un problema serio para los consumidores, debe ser considerado. Es por ello, que existen empresas comerciales que se enfocan en domesticar a los insectos para uso comestible (Fernandez-Cassi et al., 2018).

Al cultivar insectos en condiciones controladas, se puede reducir el riesgo de contaminación y asegurar la calidad del alimento (Arp et al., 2021).

Los insectos destinados a la alimentación humana deben cumplir los requisitos generales de sanidad animal dictados por autoridades competentes, lo cual incluye normas de salud animal y medidas de bioseguridad sobre enfermedades transmisibles de animales. Las especies de insectos criados y sus productos no deben ser patógenos, ni vectores de patógenos o tener efectos adversos en la salud de las personas, animales, plantas o medio ambiente. En general, los insectos utilizados para alimentos y piensos se consideran seguros, a pesar de ello, en la actualidad se sigue evaluando las sustancias o elementos que pueden constituir un riesgo de contaminación que afecte a la salud de personas y animales (Feed, 2021).

rea, la European Food Safety Authority (EFSA) publicó una evaluación de riesgos asociados a la producción y consumo de insectos, donde destaca que los sustratos y piensos utilizados para alimentar a los insectos tendrán un impacto en el contenido de contaminantes químicos y biológicos en el producto final (Fernandez-Cassi et al., 2018).

Por otra parte, la FAO, publicó un informe sobre insectos comestibles, donde se menciona la importancia de la calidad e inocuidad de los piensos o sustratos utilizados para la cría de insectos (Arp et al., 2021).

Fernández et al., (2018), mencionan que los peligros biológicos en los grillos procesados son poco frecuentes, salvo por la presencia de esporas de hongos que pueden representar un riesgo durante la fabricación del polvo de grillo. En Estados Unidos, no existen protocolos estandarizados de cosecha y procesamiento para la producción de polvo de grillo, lo que conduce a una alta variación en las cargas microbianas del producto final. Esta variación puede incluir recuento de mesófilos aeróbicos y hongos,

así como algunos patógenos como *Staphylococcus* y *Bacillus* reportando recuentos mesófilos aeróbicos que oscilan entre 1.0 y 6.0 UFC/g (Fernandez-Cassi et al., 2018).

2.2 Desarrollos para la crianza de insectos comestibles

En México es necesario impulsar desarrollos tecnológicos para la crianza de insectos comestibles, por lo que es importante normar al sector productor en buenas y sustentables prácticas de crianza de insectos.

En el subcapítulo III, sección I, del diario oficial DOF:29/10/2013, “Acuerdo por el que se da a conocer los lineamientos para la operación orgánica de las actividades agropecuarias”, menciona normar la producción específica a las especies: abejas, insectos de recolección, captura silvestre y otros. El cual, se entiende por animales recolectados o bajo sistemas de cultivos entre otros a los huevecillos, larvas, ninfas o adultos de insectos, tales que podrán ser certificados como orgánicos, siempre y cuando cumplan con los requisitos. Deben provenir de áreas de producción orgánica con poca o nula intervención humana, el confinamiento y procesamiento no alteran o impactan al ecosistema y en caso de ser alguna especie regulada por la SEMARNAT, se deberá de acompañar con certificados, permisos, y registro por parte de la SEMARNAT.

A raíz de la falta de legislación, se requiere de la comprobación de seguridad alimentaria con el objetivo de evaluar el perfil de riesgo de insectos comestibles seguros y adecuados para su consumo, como: los grillos congelados, deshidratados y en polvo, que sirvan de insumo para el desarrollo de productos humano y animal (Arp et al., 2021).

La cría de insectos a gran escala como los grillos y algunas larvas de gusanos, llevan un proceso de domesticación, generalmente en ambientes cerrados y controlados, permitiendo garantizar la producción durante todo el año. El proceso de domesticación requiere de un proceso controlado: temperatura, humedad, alimentación, prevención de parásitos y microorganismos, evitando enfermedades para un mejor crecimiento y desarrollo de los insectos; todo esto posibilita lograr producciones a escala comercial que sean económicamente competitivas con la producción de carne tradicional (Kemsawasd et al., 2022).

Los grillos *Acheta domesticus* criados en un sistema de cultivo cerrado han sido consideradas seguros por la comisión técnica de la EFSA y se utilizan como ingrediente alimentario en varios productos alimenticios como galletas saladas, palitos de pan, imitaciones de carne y aperitivos (Turck et al., 2021).

2.3 Impacto de los insectos comestibles: económico y social

El consumo de insectos como fuente de proteína en alimentos, es cada vez más aceptado, pero su apariencia sigue siendo un obstáculo ya que resulta desagradable para algunos consumidores. Por lo tanto, se requieren métodos de procesamiento adecuados para convertirlos en una proteína aceptable y con utilidad para el uso en formulaciones de alimentos sin comprometer la seguridad alimentaria, la calidad nutricional o características sensoriales del producto (Barre et al., 2021).

Los métodos comunes incluyen extracción de lípidos, proteólisis enzimática, procesamiento térmico, congelamiento, deshidratación y fermentación. Cada uno con ventajas y desventajas que deben ser consideradas al momento de elegir el proceso adecuado, y a la vez promueva su aceptación como una opción viable y sostenible en la producción de alimentos (Liceaga M, 2021).

La FDA, considera como alimentos a los insectos, siempre y cuando hayan sido criados bajo ese propósito, y exige que los alimentos que contengan insectos tengan etiquetas de advertencia de alérgenos debido a la posibilidad de reacciones cruzadas en personas alérgicas a crustáceos (Liceaga M, 2021).

Aunque el mercado de los ortópteros comestibles tiene un futuro prometedor, la fabricación de productos a base de insectos sigue siendo un gran desafío. También se debe de hacer hincapié en la investigación para la implementación de la tecnología y la innovación de procesos para la cría y el procesamiento de grillos; es necesario transferir conocimientos científicos y tecnológicos para facilitar su explotación comercial y tener un impacto social positivo en su uso (Kemsawasd et al., 2022).

2.3.1 Tendencias en el mercado

El mercado de insectos comestibles ha sido impulsado por industrias con implementación de políticas y regulaciones favorables para su producción y consumo, como la autorización del uso de insectos en la alimentación humana y animal por parte de la Unión Europea y la FDA en Estados Unidos. Se espera que crezca la producción de insectos a más del 47% entre el año 2019 a 2026. El Global Marketing Insights Inc. reporta como uno de los productos principales, a la harina de grillo, que se utiliza esencialmente para mejorar los perfiles nutricionales de los productos como lo son panadería y confitería; además productos funcionales como pastas, barras de proteína, entre otros (Ahuja & Bayas, 2020).

Un análisis de la percepción del consumidor sobre los insectos comestibles informó una respuesta positiva por parte de la mayoría de los participantes con edades comprendidas entre 18 a 55 años, el 77% estaba dispuesto a probar la entomofagia mientras que el resto prefería consumir bocadillos a base de insectos (Tao & Li, 2018).

En otro estudio sobre galletas a base de grillo, se logró un producto con alta aceptación sensorial ya que las galletas tuvieron un color correcto, sabor sabroso, olor agradable y textura suave, lo que sugirió mayor demanda hacia el mercado (Biró et al., 2020).

2.4 Concentrados de proteína de insecto: propiedades y obtención

La producción de harinas de insectos implica la deshidratación o asado del insecto completo y su posterior molienda para obtener un polvo fino. Sin embargo, las propiedades tecnofuncionales de la proteína en las harinas de insectos, como su capacidad de emulsificación, formación de espuma y solubilidad, pueden verse afectadas por las interacciones entre quitina y proteína; lo que puede limitar su aplicación en formulaciones de productos alimenticios (Liceaga M, 2021).

Algunos procesos industriales pueden mejorar las propiedades tecnofuncionales de las proteínas, incluyendo las de insectos. Se han reportado que el uso de tratamientos térmicos, hidrólisis enzimáticas, ultrasonido (US), microondas (MW) e incluso altas presiones hidrostáticas (HPP) son técnicas que pueden mejorar algunas propiedades

tecnofuncionales como es la capacidad de las proteínas, en formación de espuma, retención de agua entre otras. Estos métodos pueden ser útiles para superar algunas de las limitaciones existentes en las harinas de insectos y mejorar su aplicación (Boukil et al., 2022). La hidrólisis enzimática sobre las proteínas de grillo también puede mejorar su solubilidad y funcionalidad. Los cambios conformacionales en la proteína que resulta de la hidrólisis pueden aumentar su capacidad para formar emulsiones y geles (Liceaga M, 2019).

Por otro lado, la quitina, es un polisacárido estructural que se encuentra en el exoesqueleto de los insectos entre 12 y 137 mg de quitina/ Kg materia seca; se trata de una cadena larga de N- acetil glucosamina. Los autores atribuyen la mejora de la funcionalidad de los hidrolizados de grillo a la eliminación de la porción de quitina durante la centrifugación, ya que particularmente aumenta la solubilidad de la proteína de grillo (Liceaga M, 2019). Los hidrolizados de proteína de grillo contienen todos los aminoácidos esenciales; con mayor concentración de aminoácidos hidrofóbicos, como leucina, isoleucina y valina los cuales son importantes para la síntesis de proteínas musculares y mejorar la función cognitiva del ser humano (Hall et al., 2018).

La hidrólisis de los enlaces peptídicos da lugar a péptidos con diferentes tamaños y aminoácidos libres; la disminución del peso molecular de las cadenas peptídicas y el aumento en la cantidad de grupos polares hidrófilos puede generar el aumento de la solubilidad de la proteína y mejorar su capacidad para formar emulsiones. Además, la hidrólisis también puede cambiar la configuración molecular de la proteína; pueden mejorar la calidad de los productos, en cuanto a su digestibilidad y absorción de aminoácidos (Liceaga M, 2019).

En otro estudio con el gusano *Tenebrio molitor*, se evaluó el efecto de las altas presiones (HPP) sobre el porcentaje de proteína del insecto (caracterizada por poseer un 53% de proteína base seca) entre de las cuales se encuentra la tropomiosina. Se evaluó los cambios estructurales de las proteínas, donde se encontró que las estructuras, secundaria, terciaria y cuaternaria sufrieron diferentes modificaciones conformacionales,

lo cual condujo a nuevas interacciones proteína- proteína dependiendo del nivel de intensidad aplicado (Boukil et al., 2022).

2.4.1 Propiedades funcionales de la proteína de insectos

Los concentrados de proteínas poseen propiedades funcionales deseables que las convierten en candidatos ideales para la inclusión en formulaciones de alimentos. Estos concentrados tienen la capacidad de unirse con otros componentes como proteínas, lípidos, carbohidratos y minerales, y así, formar sistemas complejos a través de estas interacciones (Gravel & Doyen, 2020).

Estas propiedades están principalmente relacionadas con la estructura y composición de aminoácidos. Los insectos comestibles han ganado mayor importancia como fuentes sostenibles de proteínas en la cadena de suministro de ingredientes para la industria alimentaria. Para el uso de concentrados proteicos de insectos, es esencial entender su composición y sus propiedades tecnofuncionales, como su solubilidad, estabilidad, capacidad gelificante, emulsionante y espumante (Bußler et al., 2016).

Algunas propiedades como: solubilidad, capacidad de retención de agua, capacidad de retención de aceite, capacidad de formación de geles, formación de espumas y emulsiones, se describen a continuación de manera general en la Tabla 1.

Tabla 1. Propiedades funcionales de las proteínas.

Propiedad funcional	Descripción
Solubilidad	Esta propiedad depende de la estructura de la proteína, siendo las de estructura compactas, las que menos favorecen las interacciones con el agua. Algunos aminoácidos polares y cargados negativamente en la superficie de la proteína también afectan a la solubilidad, al igual el tamaño de la molécula. (Kramer et al., 2012).
Espumante	Se define como un gas suspendido en una fase dispersa formada por un líquido y es estabilizada por

	proteínas en la interfaz. Lo cual las proteínas poseen la capacidad de migrar a la interfase y desplegarse para la formación de una capa de burbujas, aportando mayor estabilidad (Mazloomi-Kiyapey, et al., 2019).
Retención de agua	Es la capacidad de las proteínas para absorber y retener agua, debido a la presencia de sus grupos funcionales hidrófilos (Salvador Dergal, 2020).
Emulsionante	Las emulsiones son una mezcla de dos líquidos inmiscibles de manera homogénea. Para su formación es requerido de energía mecánica, agua, aceite y un emulsificante. Las proteínas son consideradas como buenos emulsificantes gracias a su superficie anfipática (Salvador Dergal, 2020).
Formación de geles	Resulta de la capacidad crear interacciones proteína-proteína y proteína-agua, lo cual provee una matriz polimérica para la retención de agua (Salvador Dergal, 2020).

2.5 Alergias alimentarias

En la actualidad la alergia alimentaria constituye un problema creciente de salud pública afectando a la población, tanto niños como adultos. Se denomina “hipersensibilidad a los alimentos”, a cualquier reacción adversa a un alimento. Dentro de estas reacciones existen dos tipos: las reacciones mediadas por mecanismos inmunológicos denominadas, “alergia a los alimentos” y las reacciones no mediadas por mecanismos inmunológicos conocidas como “hipersensibilidad no alérgica” o intolerancia (Escudero et al., 2017).

Las reacciones mediadas por mecanismos inmunológicos se clasifican: dentro de las alergias tipo 1, conocidas como reacciones que se producen por un anticuerpo IgE (isotipo de inmunoglobulina E) (Iglesias, 2018).

Los alérgenos alimentarios son proteínas o glicoproteínas, con un tamaño entre 10 y 70 kDa. La mayoría de los alérgenos, son estables al calor, a los ácidos orgánicos y enzimas como proteasas. En los alimentos puede existir uno o varios alérgenos principales, a los cuales responden inmunitariamente los pacientes sensibilizados al alimento. Otros alérgenos, pueden ser compartidos con otras especies de esta o incluso en familias alejadas filogenéticamente, como lo son las proteínas con funciones similares (profilinas, tropomiosinas, seroalbúmina, entre otras.) (Esteban et al., 2007).

Por otro lado, una reacción cruzada se crea entre dos alérgenos, en los cuales se necesita que exista de una homología parcial, de ambas proteínas o incluso el reconocimiento de un solo epítipo, con lo que los anticuerpos generados contra un alérgeno pueden reaccionar con otro alérgeno debido a las similitudes estructurales, desencadenando así una respuesta alérgica. Las proteínas con estructuras moleculares conservadas tienden a presentar secuencias poco alteradas filogenéticamente, por lo cual existe una mayor posibilidad de compartir epítopos secuenciales y conformacionales. Cabe aclarar para que exista una reactividad cruzada, es necesario una homología mayor a un 35% en la longitud de ochenta aminoácidos o identidad en ocho aminoácidos contiguos (Esteban et al., 2007).

2.5.1 Alergenicidad en insectos comestibles: riesgo para los consumidores

Los alimentos a base de insectos podrían presentar algún tipo de riesgo para los consumidores, particularmente a aquellos que presentan hipersensibilidad a los crustáceos, debido a que puede ocurrir una reactividad cruzada. La tropomiosina (TM), es uno de los principales alérgenos de insectos que trae consigo efectos negativos en la salud humana. Por tal motivo, se han realizado investigaciones, para estudiar los efectos de procesamiento de dichas tecnologías en su procesamiento de inmunoreactividad (Liceaga M, 2019).

Según la OMS y la Unión Internacional de Sociedades Inmunológicas, no se han notificado casos de alergia del consumo de insectos del orden Ortóptera. En cambio, sí se ha sugerido reacciones alérgicas entre grillos y otros artrópodos, esto debido a las proteínas de los insectos que reaccionan, de forma cruzada *in vitro* con los anticuerpos

IgE de pacientes alérgicos a ácaros de polvo y crustáceos, como lo es a la tropomiosina (Prósper Ortega, 2020).

Un riesgo importante asociado a los insectos es su potencial alergénico. Se han reportado un gran número de insectos causantes de reacciones alérgicas como la anafilaxia. Esto se relaciona con los mecanismos primarios de sensibilización, o también conocida como reactividad cruzada de IgE con otras especies alergénicas taxonómicamente relacionadas a artrópodos. Algunos de los alérgenos más comunes en artrópodos son la tropomiosina, arginina quinasa y gliceraldehído 3- fosfato (Breiteneder, 2018).

En la estructura tridimensional compacta de la proteína, la unión de los ligandos, enlaces disulfuro y la glicosilación contribuyen a la estabilidad de ésta. Estos factores son relevantes tanto para la resistencia de la proteína a la desnaturalización por los tratamientos térmicos, como para las condiciones del tracto gastrointestinal. Una de las características estructurales relacionadas con la estabilidad, es la presencia de enlaces disulfuro, restringiendo el pliegue tridimensional, de tal manera que las perturbaciones por temperatura, que se administren a la estructura proteica, con frecuencia es limitada y reversible (Breiteneder, 2018).

El límite de detección en una reacción alérgica por insectos comestibles dependerá de varios factores, incluyendo la sensibilidad individual, la cantidad y concentración de la proteína alergénica y la forma en que el insecto se consume (crudo o cocido). El umbral de partículas para una reacción alérgica a los insectos es muy bajo y puede variar de una persona a otra. Es importante considerar que la alergia a los insectos puede ser una condición seria y potencialmente mortal, por lo que es recomendable a las personas con antecedentes de reacciones alérgicas, evitar el consumo de insectos (Escudero et al., 2017).

2.5.2 Reacción cruzada: tropomiosina

La tropomiosina (TM) (Figura 2) es una proteína filamentosa que se encuentra en las células eucariotas, principalmente en las células musculares animales, y es esencial para

la contracción muscular. Esta proteína se encuentra enrollada alrededor de filamentos de actina y su longitud varía según el tipo de músculo; posee una longitud promedio de aproximadamente de 276 a 284 aminoácidos con un peso molecular de 34 a 38 kDa, según la especie y está conformado por dos hélices alfa, con dos conjuntos de siete sitios de unión a actina (Saetang et al., 2022).

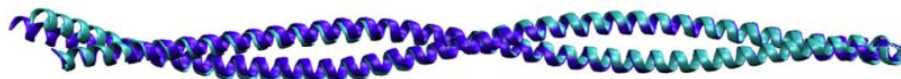


Figura 4 Estructura de la tropomiosina predicho por Robetta server (Saetang et al., 2022)

En cuanto a su conservación, la tropomiosina es una proteína altamente conservada, y se encuentra en gran variedad de organismos. En invertebrados (crustáceos, moluscos e insectos) representa entre un 1-3% de la masa muscular (Costa et al., 2020).

La reacción cruzada que puede provocar la tropomiosina en personas sensibles, especialmente a pacientes alérgicos a crustáceos (camarón, cangrejo y langosta), también puede provocar la misma reacción alérgica al consumo de insectos, como los gusanos o larvas de escarabajo (*Tenebrio molitor*) (Costa et al., 2020).

En comparación con otros alérgenos comunes, como el cacahuate, las dosis desencadenantes a reacciones alérgicas suelen ser relativamente altas (262-280 mg de proteína) por lo tanto, se considera que al menos una pequeña parte de dosis de tropomiosina es suficiente para desencadenar síntomas clínicos graves (Costa et al., 2020).

En cuanto a la alergia a los mariscos y otros artrópodos, como ácaros del polvo doméstico y cucarachas, no se conoce su causa exacta la cual provoca estas reacciones inmunológicas a las proteínas presentes (tropomiosina). Se atribuye a factores genéticos, exposición repetida al alérgeno y la edad (Saetang et al., 2022). En un estudio realizado en Singapur mostró que el 72.4% de los niños atópicos a los mariscos también estaban sensibilizados a los ácaros de polvo (Chiang et al., 2007).

Se ha mostrado que la tropomiosina de ácaros del polvo tiene una identidad de secuencia del 80-82% con la tropomiosina del camarón (Pen a 1). Esto significa que poseen una alta similitud en términos de su secuencia de aminoácidos, por lo tanto, se puede desencadenar una respuesta alérgica cruzada (Wong et al., 2016), es decir se puede provocar la misma reacción alérgica causada por camarones.

2.5.3 Predicción de epítomos

La alergenicidad de una proteína puede verse influenciada por una variedad de factores. Algunas técnicas de procesamiento pueden alterar la estructura de la proteína, por lo tanto, modificar los epítomos de unión a IgE puede afectar la respuesta a una alergia (Broekman et al., 2015).

Algunos alérgenos contienen epítomos específicos de los anticuerpos IgE. Para identificar los epítomos específicos de la tropomiosina, se han utilizado diferentes herramientas bioinformáticas y técnicas experimentales, como el uso de la herramienta AlgPRED la cual ayuda a predecir la posibilidad de que una proteína cause sea alergia y de esta manera, identificar posibles reacciones cruzadas en diferentes especies (Saetang et al., 2022).

En 2022, Saetang et al., realizaron un estudio de predicción *in silico*, donde se identificaron posibles epítomos responsables de la reactividad cruzada entre tres tropomiosinas de tres especies, incluyendo Der f 1 (ácaro del polvo doméstico americano), Pen m 1 (camarón tigre negro) y Per a 7 (cucaracha americana), fueron predichas por sus estructuras en la base de datos AlphaFold (Saetang et al., 2022). En este estudio se demostró una fuerte reacción alérgica a los mariscos y a los insectos, lo que puede plantear un problema de preocupación sobre el consumo de insectos como fuente alternativa de nutrientes

Cabe señalar que durante el estudio hubo algunas limitaciones, ya que todos los resultados procedían de las evaluaciones *in silico* la cual podría proporcionar información inexacta. Además, los epítomos propuestos en el estudio necesitan de una mayor confirmación a través de otros estudios experimentales para que los datos sean útiles.

La mayoría de los estudios, utilizan técnicas de ELISA, métodos comunes para evaluar la alergenicidad de alimentos procesados, sin embargo, es importante destacar que éstos no proporcionan información sobre la funcionalidad de la unión de IgE a la proteína alergénica modificada. Por lo cual, es primordial realizar estudios adicionales que evalúen tanto la estructura de la proteína como su capacidad para desencadenar una respuesta alérgica (Liceaga M, 2021).

Es importante tener en cuenta, que la identidad de aminoácidos entre dos estructuras proteicas comparadas puede estar relacionada con probabilidad de una reactividad cruzada. Por lo tanto, para determinar la presencia o ausencia de alergenicidad, se recomienda pruebas clínicas adicionales, como la prueba de activación de basófilos (BAT) y pruebas cutáneas de punción (SPT) (Marchi et al., 2021).

2.6 Reducción de la alergenicidad de insectos comestibles

Algunas técnicas de procesamiento, como la proteólisis, fermentación, germinación, no son relevantes para todos los alimentos, por lo tanto, no son ampliamente utilizadas para la reducción de alérgenos.

El calentamiento puede alterar las proteínas al inducir la desnaturalización, formación, agregación o reordenamiento de las proteínas, lo que conduce a cambios en su reactividad. Los tratamientos térmicos (ebullición, horneado o asado) se pueden utilizar en múltiples productos para alterar al alérgeno; sin embargo, también se sabe que estos tratamientos modifican las propiedades organolépticas y el contenido nutrimental del producto (Shriver & Yang, 2011).

Recientemente, se ha mostrado que los tratamientos no térmicos, han sido efectivos para alterar positivamente la reactividad de los alérgenos en varios alimentos. Estos tratamientos incluyen procesos de alta presión, luz ultravioleta, campos eléctricos pulsados, radiación gamma, ultrasonido de alta frecuencia, modificaciones genéticas e incluso procesamientos químicos y enzimáticos (Shriver & Yang, 2011).

El procesamiento térmico puede tener un impacto negativo en la alergenicidad de los alimentos. Un estudio mostró, que el tostado en seco aumentó la alergenicidad de los

cacahuates; lo que significa que el procesamiento térmico en este caso aumentó la capacidad de la proteína para unirse a las inmunoglobulinas E. Sin embargo, en ese mismo estudio, con nueces de árbol el procesamiento térmico tuvo efecto opuesto; en este caso hubo una transformación en la proteína (Broekman et al., 2015).

Se ha reportado sobre los efectos de la hidrólisis enzimática de proteínas de grillo en la actividad alergénica de la tropomiosina. Hall et al., (2018) utilizaron sueros humanos alergénicos a camarones para evaluar la actividad de la tropomiosina después de la hidrólisis enzimática de la proteína de grillo, utilizando alcalasas, encontraron que el grado de hidrólisis tenía un efecto significativo en la actividad alergénica de la tropomiosina; los hidrolizados con un grado de hidrólisis del 10- 40% redujeron la reactividad de IgE a la proteína, mientras los hidrolizados con un grado de hidrólisis del 60- 85% eliminaron casi por completo la reactividad de IgE a la tropomiosina. Sin embargo, los efectos y uso de las enzimas comerciales, sobre la reactividad de la tropomiosina han sido escasamente reportados (Hall et al., 2018)

El grado de hidrólisis se define como el porcentaje de enlaces peptídicos hidrolizados con respecto a la proteína original y es determinado por la condición específicas establecidas durante el proceso de hidrólisis (Benitez et al., 2008).

En general, la hidrólisis puede reducir la capacidad de una proteína para desencadenar una respuesta alérgica al reducir su tamaño, lo que puede hacer que sea menos reconocible por el sistema inmunológico. Se cree que la hidrólisis enzimática afecta la conformación de los epítopos de la proteína lo que puede disminuir la actividad alergénica (Hall et al., 2018). En los últimos años, la investigación se ha enfocado en encontrar alternativas a la hidrólisis enzimática, centrándose en la liberación de péptidos; en este sentido, se ha explorado el uso de agua subcrítica como una herramienta prometedora para obtener péptidos bioactivos (Rivas-Vela et al., 2021).

2.6.1 Proceso de ultrasonido para la eliminación de alérgenos

El ultrasonido se define como una onda de sonido a una frecuencia que excede el límite auditivo al oído humano (20kHz). Al actuar sobre un medio líquido, la onda ultrasónica

genera presiones positivas, lo cual genera una compresión y expansión periódica sobre las moléculas del medio líquido (Yuan et al., 2021).

La tecnología del ultrasonido (US) funciona por cavitación acústica, donde se produce una formación secuencial e implosión asimétrica de burbujas de baja presión con efectos mecánicos y químicos. Las tensiones creadas por el US pueden mejorar el rendimiento de extracción y las funcionalidades de las proteínas, la desintegración de los enlaces estructurales y las moléculas unidas a la proteína (Ampofo & Ngadi, 2022).

En su expansión de presión, la onda ultrasónica produce pequeñas burbujas o cavidades, lo cual absorben energía acústica hasta que alcanzan un tamaño crítico y explotan, liberando energías superiores; a este fenómeno se denomina efecto de cavitación (Makino et al., 1983). Actualmente se clasifican dos tipos de ultrasonido según el rango de frecuencia: ultrasonido de baja frecuencia (20- 100 kHz) y ultrasonido de alta frecuencia (100 kHz- 1 MHz). La mayoría de la literatura disponible sobre US ha informado con rangos de frecuencia de 20 a 40 kHz, y la mayoría de los estudios concluyen que 20 kHz es la mejor condición para generar efectos de alta intensidad y cavitación con una desnaturalización mínima de proteínas, en comparación con frecuencias extendidas (40 kHz) (Ampofo & Ngadi, 2022).

Se espera que, a una intensidad de 40 kHz, la cual se genera a una alta intensidad y cavitación causa consecuencias negativas en la formación de espuma y despliegue de proteínas (Ampofo & Ngadi, 2022).

El ultrasonido, debido a su potencial para la degradación de contaminantes orgánicos, se ha investigado en la mejora de la calidad sensorial de alimentos. También se ha mostrado que el ultrasonido puede aumentar la biodisponibilidad de nutrientes, liberación de compuestos antioxidantes, mejora de la digestibilidad de proteínas y lípidos (Yuan et al., 2021). Se le atribuye a los radicales libres producidos por el efecto de cavitación la razón principal de la degradación de contaminantes, además el poder afectar las propiedades físicas y funcionales de las proteínas incluyendo los alérgenos alimentarios.

Aunque la tecnología de ultrasonido tiene un gran potencial para la eliminación de agentes patógenos en alimentos, aún existen desafíos que deben ser estudiados, como la selección adecuada de frecuencia, intensidad, duración y temperatura del tratamiento, los cuales son factores importantes para lograr una eficiencia óptima (Yuan et al., 2021).

También se ha observado que los tratamientos de US parecen ser más eficientes cuando se combinan con otras técnicas, en lugar de usarse por sí solo. Por lo tanto, el US se puede considerar como una alternativa para la reducción de alérgenos alimentarios, considerando la optimización de las condiciones de procesamiento (Yuan et al., 2021).

Los alérgenos son sensibles al US, por lo que se sugiere que esta tecnología podría tener una aplicación potencial en la reducción de alérgenos presentes en soya, cacahuate, camarones, entre otros (Yuan et al., 2021).

En 2013 Hao et al., evaluaron el uso de tratamientos de US sobre cacahuate, informando una reducción significativa del 50% en la unión del IgE a las secuencias de proteína Ara h1 y Ara h2 (Li et al., 2013).

Otro estudio en 2018 reveló que la aplicación de US de alta intensidad, HIU (100 - 500W) en camarones *Exopalaemon modestus* degradó la tropomiosina y generó fragmentos de proteína por radicales libres inducidos por HIU, lo cual sugiere a estos radicales como responsables de atacar los residuos de aminoácidos, provocando así, su pérdida; específicamente en aminoácidos azufrados (cisteína y metionina) lo cual puede conducir a la formación de enlaces disulfuros mixtos. Además, menciona que una HIU con mayor intensidad (600 - 800W) con tiempos superiores a 10 min, podría aumentar la reducción de la alergenicidad (Zhang et al., 2018).

En 2021, Soria-Calderón reportó una reducción de 33.65% del alérgeno de tropomiosina presente en la proteína de Chapulín (*Sphenarium purpurascens*), utilizando una potencia de US de 500 W y un tiempo de trabajo de 20 min. Los resultados obtenidos representan un primer avance en la utilización del tratamiento de US para la eliminación del efecto alergénico de la tropomiosina presente en insectos (Soria Calderón, 2021).

2.6.2 Cambios conformacionales en la proteína por el tratamiento de Ultrasonido

La estructura primaria de una proteína representa la secuencia de aminoácidos, por otro lado, la estructura secundaria está conformada por enlaces peptídicos entre diferentes aminoácidos, conformando hélices alfa y láminas beta unidas por puentes de hidrógeno. La estructura terciaria, se presenta debido a enlaces disulfuro, puentes de hidrógeno, interacciones electrostáticas e hidrofóbicas entre los radicales de los aminoácidos que conforman la estructura primaria, la estructura cuaternaria es una conformación superior y se presenta entre diferentes subunidades de proteínas (Lin et al., 2021).

Cuando se exponen las proteínas a procesamiento como US de baja intensidad se conduce a la ruptura de enlaces covalentes (disulfuro) o que da lugar a proteínas parcialmente desplegadas (perdida de la estructura terciaria). En contraste, con US de alta intensidad se provoca la hidrólisis de las proteínas generando péptidos. Esta acción conlleva a alteraciones en las estructuras terciaria, secundaria incluso primaria de la proteína, lo que da lugar a cambios secuenciales en sus propiedades tecnofuncionales y nutricionales (Ampofo & Ngadi, 2022). Sin embargo, el cambio conformacional de las proteínas inducido por US dependerá de las condiciones de sonicación; es decir, del tiempo, potencia y temperatura.

De acuerdo con la pureza de la proteína con un contenido del 86% al 100% se atribuye a una proteína aislada. Estos aislados de proteína, contienen aproximadamente un 90% de proteína en peso seco y se han utilizado ampliamente en aplicaciones alimentarias como en sustitutos lácteos, bebidas y cárnicos (Lin et al., 2021).

Algunos investigadores han sugerido que el uso de US de alta intensidad tiene la capacidad de modificar la conformación de las proteínas al incidir en los enlaces de puente de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y destruir la estructura cuaternaria y terciaria de las proteínas, debido al efecto de cavitación; además, la temperatura provocada por el efecto de cavitación puede inducir el replegamiento de nuevas estructuras proteicas (Zhang et al., 2018). Estas modificaciones estructurales, pueden exponer a más sitios accesibles para su hidrólisis y aumento en su actividad biológica (Lin et al., 2021).

Se ha determinado que el uso de US puede ocasionar una disminución de los residuos de triptófano (Cheng et al., 2018). Sin embargo, no se dispone de información acerca del impacto exacto del US a nivel molecular en la estructura de la proteína.

2.7 Proceso de agua subcrítica para la eliminación de alérgenos

El agua subcrítica (AS) se refiere al agua en estado líquido en un rango de temperaturas de 100 a 374°C y presiones de hasta 22 MPa. En estas condiciones, el agua presenta propiedades únicas, facilitando la solubilización de compuestos apolares, disminuyendo la constante dieléctrica, viscosidad y densidad. Por otro lado, el producto iónico aumenta, provocando un incremento en la concentración de iones H e OH, siendo éstos como catalizadores ácidos o básicos para las reacciones de hidrólisis (Marcet et al., 2016).

El efecto de las altas presiones y temperaturas, por separado, ha sido demostrado no ser efectivos para la hidrólisis de proteínas, ya que sus efectos no han sido suficientes para la desnaturalización de éstas, es decir se ve limitada la desnaturalización de las estructuras cuaternarias, terciarias e inclusive secundarias. Sin embargo, cuando éstos efectos se encuentran en conjunto, ocurren mecanismos de hidrólisis irreversibles de primer orden, promoviendo la ruptura de interacciones débiles como los enlaces de puente de hidrógeno, produciendo la pérdida de estructuras cuaternarias y hasta secundarias, además, es importante mencionar que el aumento de iones puede modificar el pH del medio provocando la degradación de aminoácidos (a temperaturas superiores a 200°C) y productos de reacción de Maillard (Rivas-Vela et al., 2021).

Por lo tanto, el agua subcrítica (AS) tiene la capacidad de producir la hidrólisis de carbohidratos y proteínas, sin necesidad de catalizadores adicionales (Pattnaik et al., 2021).

3. Justificación

La inclusión de insectos en la dieta humana puede tener un impacto positivo en la nutrición, en especial en las zonas de acceso limitado a los alimentos. Es por ello por lo que la cría y domesticación de insectos, para la inclusión en alimentos puede ser una estrategia prometedora para contribuir a mejorar la seguridad alimentaria. Históricamente en el mundo en diferentes regiones la entomofagia prevalece; en México presenta una gran diversidad de insectos comestibles y culturas que los consumen.

Sin embargo, los alimentos a base de insectos podrían presentar algún tipo de riesgo para algunos consumidores, particularmente a aquellos que presentan hipersensibilidad a los crustáceos, debido a que puede ocurrir una reactividad cruzada.

Por tal motivo, surge el interés de investigar los posibles efectos de tecnologías emergentes en el procesamiento de proteínas de insectos comestibles. Al evaluar el efecto del ultrasonido de alta intensidad, sobre la reducción en la proteína asociada a la alergenicidad de un concentrado proteico de harina de chapulín, *Sphenarium purpurascens*, la cual se caracterizó para confirmar su seguridad alimentaria.

La inclusión de ingredientes como posible aditivo con alto valor nutrimental a productos alimenticios en vías de desarrollo y las tendencias en el mercado por parte de los consumidores, dan como resultado una búsqueda de satisfacer las demandas orientadas a la mejora de la salud y al mismo tiempo ofreciendo productos creativos como lo es los alimentos funcionales. En este sentido, la inclusión de la harina de chapulín en un producto novedoso como es un confite enchilado a base de pulpa de tamarindo hace de un producto atractivo para el consumidor, aportando beneficios a su salud y al mismo tiempo acercando a la pérdida de la entomofobia.

4. Objetivos

4.1 Objetivo General

Evaluar efectos del ultrasonido de baja frecuencia y del agua subcrítica sobre la reducción de la proteína (tropomiosina) asociada a la alergenicidad, en un concentrado proteico de *Sphenarium purpurascens*, así como en sus propiedades tecnofuncionales, asimismo, innovar en el uso de una harina de este insecto, pero sin tratamiento, como ingrediente de un producto de confitería mexicana.

4.2 Objetivos específicos

- Obtener un concentrado proteico de *Sphenarium purpurascens* y caracterizarlo respecto al contenido de tropomiosina y a sus propiedades tecnofuncionales.
- Evaluar el efecto de la aplicación de ultrasonido y agua subcrítica en el concentrado proteico sobre el contenido de tropomiosina y en sus propiedades tecnofuncionales.
- Formular y evaluar sensorialmente un producto de confitería, base pulpa de tamarindo, con la inclusión como ingrediente de la harina de chapulín, sin tratamiento.
- Estimar la vida de anaquel fisicoquímica del producto de confitería.

5. Metodología

Se trabajó con chapulines de la milpa *Sphenarium purpurascens* suministrados por la empresa Delinsect®. Bajo las especificaciones del proveedor, los insectos fueron sometidos a un periodo de ayuno de dos días para limpiar el tracto gastrointestinal y se calentaron (100 °C por 20 minutos) como método de sacrificio. A la recepción de la materia prima, se almacenaron en congelación a -20 °C o se seleccionaron inmediatamente para molerse y poder almacenarlos en congelación (-20°C) hasta su uso. Las muestras se caracterizaron en su composición proximal, se aplicó el ensayo ELISA tipo Sándwich para la identificación de TM, se sometieron a electroforesis en gel

SDS-PAGE y se realizó una determinación en sus propiedades tecnofuncionales al extracto proteico antes y después de tratarlo con ultrasonido. Finalmente se aplicó harina de chapulín a la formulación de una golosina a base de pulpa de tamarindo y se evaluó en sus propiedades fisicoquímicas y en su vida de anaquel.

El proyecto experimental se realizó dentro del Laboratorio de Innovación y Desarrollo de Alimentos, en el Posgrado en Alimentos, y en la Planta Piloto de Alimentos ubicado en el Parque Biotecnológico; ambos laboratorios pertenecen a la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.

5.1 Obtención del concentrado proteico

Los chapulines, fueron molidos empleando un molino de café y tamizados a través de una malla de 0.5 mm. Posteriormente se llevaron a un almacenamiento a -20°C.

El polvo de chapulín se desgrasó por medio de agitación con etanol al 97 % en relación 1:10 durante 5 h. Después se centrifugó a 3500 rpm por 15 min a 20 °C para recuperar el precipitado en forma de pastilla (Pellet). Una vez obtenida la pastilla, ésta se mantuvo en agitación durante 1 h con una solución de NaOH 0.2 % en una proporción de 1:10 (p/v), pH 11.0, a temperatura ambiente (~25°C). Después de la centrifugación a 8000 g, se aisló las proteínas por precipitación por punto isoeléctrico a pH 3.0 y 25°C, basado en la metodología descrita por Zielińska et al., (2018). Las proteínas precipitadas se centrifugaron a 4 °C durante 20 min a 8000 g y se lavaron con agua destilada. Finalmente, los concentrados proteicos se secaron en estufa de aire forzado a 50 °C y se almacenaron a -20°C.

5.1.2 Caracterización proximal: muestras de extracto proteico

Se siguieron los métodos oficiales descritos por la AOAC, 2012. La determinación de humedad se realizó por el método AOAC 925.09; el porcentaje de cenizas según AOAC 923.03; el contenido de proteína cruda AOAC 920.87; contenido de grasa cruda AOAC 920.39C; el contenido de fibra cruda AOAC 962.09 y porcentaje de extracto libre de nitrógeno seguido de AOAC 986.25.

5.1.3 Determinación de quitina

Se siguió la metodología descrita por Aámková et al., (2017). Se utilizó 1.0 g de muestra, a la cual se le adicionó 100 mL de HCL 1M, la mezcla se colocó a 100°C por 1 h, posteriormente se filtró al vacío con papel filtro Whatman N.1 y se realizó lavados con agua caliente destilada y adicionalmente se realizó un lavado con KOH al 5% lo que provocó la saponificación de las grasas, se finalizó el lavado hasta obtener un pH neutro. El residuo fue recuperado en un matraz al cual se le añadió 100 mL de NaOH 1M, la mezcla se colocó a 80°C por 20 h, pasado el tiempo la muestra se filtró al vacío con papel filtro Whatman N. 1, finalmente los papeles filtro con el residuo recuperado se secaron en horno a 40°C durante 24 h. Finalmente se determinó cenizas del residuo sólido, El contenido de quitina se determinó por la siguiente ecuación:

$$\%Quitina = \frac{(\text{peso residuo} - \text{peso cenizas}) * 100}{\text{peso de la muestra}}$$

5.1.4 Evaluación del tratamiento de ultrasonido

Los tratamientos de ultrasonido se realizaron con un procesador Cole Palmer de 500 vatios, a una frecuencia fija de 20 kHz. Se preparó una mezcla en proporción de 1:20 (p/v) proteína de insecto y agua destilada; 100 ml de esta mezcla se sonicaron usando recipientes de vidrio con una recirculación de agua.

Se utilizó un diseño factorial completo con dos réplicas, donde los factores a evaluar fueron el tiempo (20 min), potencia (400 W), tipo de sonicado (continuo, pulsado), calentamiento (con ebullición, sin ebullición), incluyendo una muestra control sin tratamiento de ultrasonido. Además, se monitoreó la temperatura (°C) como una covariable. Las unidades experimentales se prepararon en una proporción de 1:20 (p/v) de proteína de insecto y agua destilada. La variable respuesta fue la cuantificación de la tropomiosina presente.

Después del tratamiento de ultrasonido, las muestras se liofilizaron con un equipo Freeze Dry System Labconco y se almacenaron a -20 °C hasta su análisis de cuantificación de tropomiosina.

5.1.5 Evaluación del tratamiento con agua subcrítica

Para el tratamiento de agua subcrítica se realizó un tratamiento a 130°C, 20MPa y 1M de ácido cítrico durante 20 y 30 min. Estas muestras fueron donadas por parte de un proyecto anterior (Rivas-Vela, 2023, CIATEJ, Zapopan, México).

5.2 Caracterización: Ensayo ELISA tipo Sándwich para la detección de tropomiosina

Para el ensayo ELISA tipo sándwich se utilizó el kit Shrimp Tropomyosin ELISA 2.0, InbBio (Charlottesville, VA, EUA), para la cuantificación del contenido de tropomiosina de las muestras analizadas.

El kit ELISA contiene una placa de microtitulación de 96 pocillos recubierta con anticuerpo monoclonal 1A6, el cual se une al epítipo específico presente del extracto de ácaro (*D. pteronyssinus*) alérgeno de tropomiosina, Der p 10 (Reactividad cruzada con tropomiosina de mariscos). Contiene, un tampón de lavado (concentrado 10x), tampón de ensayo (concentrado 10x), sustrato de revelado TMB y solución de parada (ácido sulfúrico 0.5 N).

Para comenzar el ensayo se siguió el procedimiento descrito en el manual del Kit.

Se prepararon diluciones 1x de los concentrados de tampón de ensayo y de lavado en agua destilada. Posteriormente, a temperatura ambiente, se retiró la placa de microtitulación de la bolsa de aluminio y se realizaron lavados añadiendo 150 µl de tampón de lavado a cada pozo, vaciando los pocillos invirtiendo la placa y luego golpeando suavemente sobre papel absorbente para eliminar solución del tampón residual. Repitiendo el ciclo de lavado dos veces más. Después, se agregaron los estándares, las muestras y los blancos a la placa, realizando diluciones 1/10. Se agregaron 100 µl de tampón de ensayo a todos los pocillos, mas 80 µl adicionales a todos los pocillos de la columna de los estándares. Se mezclaron los pocillos pipeteando de arriba abajo asegurándose que el volumen final de cada pocillo debe ser de 100 µl. Se cubrió la placa y se incubó a temperatura ambiente lejos de la luz directa durante 1 hora. Posteriormente, se agitó suavemente el anticuerpo de detección policlonal y se preparó una mezcla de

conjugado/anticuerpo de detección 1:1000 agregando 11 μ l de anticuerpo policlonal y 11 μ l de IgG anti-conejo de cabra conjugada con peroxidasa a 11 ml de tampón de ensayo. Mezclando bien y lavando la placa 3 veces con 150 μ l de tampón de lavado. Finalmente se agregó 100 μ l de mezcla de conjugado y anticuerpo a cada pocillo. Se volvió a incubar durante 1 hora, lejos de la luz directa. Pasado el tiempo, se lavó nuevamente la placa 3 veces más, para finalmente añadir a cada pocillo 100 μ l de TMB controlando la reacción a medida que se desarrolló el color azul, posteriormente se midió la absorbancia OD 450nm hasta alcanzar un valor de absorbancia entre 0.08-0.09 para el estándar 1. Una vez en esta absorbancia, se añadió la solución de parada agregando 50 μ l de solución a cada pocillo verificando el cambio de color (cambió a amarillo). Se midió nuevamente la absorbancia a 450 nm dentro de los 30 minutos.

5.3 Electroforesis en gel SDS-PAGE

Para esta parte se siguió el protocolo descrito por Yi et al., (2013). Brevemente, las muestras se disolvieron en soluciones amortiguadoras Tris/HCl 20 mM, EDTA 2 mM a pH 8.0 con una concentración de proteína de 7 mg/ml. Las soluciones con la muestra diluidas en una proporción de 1:1 en un tampón (Tris/HCl 20 mM, EDTA 2 mM pH 8.0, SDS al 5 % (p/v), 0.016 % (p/v) de DTT, 0.02% de azul coomassie). Posteriormente, las muestras se calentaron a 95 °C durante 5 min y se centrifugaron durante 2 min a 3000 x g antes de correrlas en el gel. Se adquirieron proteínas estándar de 10-250 kDa como patrón de referencia.

5.4 Propiedades tecnofuncionales del extracto de proteína

5.4.1 Solubilidad

La solubilidad se determinó siguiendo la metodología de Mishyna et al. (2019) con modificaciones. Con el uso de 0.4 g de muestra y 20 ml de agua destilada. El pH de la disolución se ajustó a un pH 7 mediante la adición de 1 M NaOH o 1 M HCl. La dispersión se agitó con vórtex durante 30 s a temperatura ambiente. Posteriormente, las dispersiones se centrifugaron a 3000 g durante 20 minutos a temperatura ambiente y se

determinó la concentración de proteína del sobrenadante mediante el método de Bradford.

5.4.2 Capacidad de retención de agua y capacidad de retención de aceite

La capacidad de retención de agua (CRW por sus siglas en inglés) y la capacidad de retención de aceite (CRO por sus siglas en inglés) se determinó por el método descrito por Ahmedna et al. (1999) con modificaciones. A 0.5 g de muestra se le adicionó 5 ml de agua destilada o 5 ml de aceite vegetal comercial (aceite Nutrioli), según sea el caso, en tubos Falcon de 50 ml previamente pesados. La mezcla se agitó con vórtex durante 30 s a temperatura ambiente. Posteriormente, las dispersiones se centrifugaron a 3000 g durante 20 minutos a temperatura ambiente. El sobrenadante se descartó y se registró el peso del tubo con la pastilla.

$$CRW \text{ o } CRO = \frac{(\text{peso con el precipitado} - \text{peso del tubo solo})}{\text{peso de la muestra}} = \left(\frac{\text{g de solución}}{\text{g de muestra}} \right)$$

5.4.3 Capacidad de formación y estabilidad de emulsiones

La capacidad de formación y estabilidad de emulsión se determinó siguiendo el método utilizado por Zielińska et al., (2018). Se colocaron 0.5 g de muestra en agua destilada para obtener una solución al 1 % (p/v). Se mezclaron 10 ml de la solución y 10 ml de aceite vegetal en un tubo falcon de 50 ml. Posteriormente se homogenizó la dispersión con ayuda de Ultraturrax a una velocidad de 20 000 rpm durante 1 minuto. El homogenizado se centrifugó a 3000 g durante 5 min a temperatura ambiente y se registró el volumen de las capas formadas. Para la medición de la estabilidad de la emulsión, la emulsión formada se calentó durante 30 min a 80 °C en baño maría. Después del tiempo de incubación, la emulsión se centrifugó a 3 000 g por 5 min a temperatura ambiente y se registró el volumen de las capas formadas.

5.5 Digestibilidad

La digestibilidad proteica se determinó empleando un método *in vitro* reportado por Abadía et al., (2013), con modificaciones. Se expuso 0.5 g de muestra a condiciones

gástricas simuladas agregando 10 ml de saliva artificial y 80 ml de jugo gástrico simulado. Las muestras se homogenizaron manualmente por 1 min y se incubaron a 37 °C durante 2 h. Después del tiempo de incubación, la muestra fue expuesta a condiciones intestinales simuladas, para lo cual la muestra se centrifugó 6000 rpm por 5 min a temperatura ambiente se recuperó el precipitado al cual se le agregaron 27 ml de jugo intestinal simulado, para su posterior incubación a 37 °C durante 4 horas. Después del tiempo de incubación la muestra se centrifugó nuevamente con las mismas condiciones y se recuperó el precipitado, el cual se secó en horno a 37 °C durante 24 horas. Finalmente se determinó el contenido de proteína por el método de Kjeldahl. La digestibilidad proteica se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\%Digestibilidad = \frac{Pi (g) - Pf(g)}{Pi (g)} * 100$$

5.6 Formulación de golosina

Para la evaluación de la inclusión de la harina de chapulín sin tratamiento como ingrediente, se formuló una golosina a base de tamarindo sustituyendo la cantidad de tamarindo y azúcar glass, con la inclusión de la harina de chapulín en 10% (p/p) y un control sin inclusión de la harina, mediante un diseño de mezclas, donde los factores de estudio fueron el porcentaje de harina de chapulín, el porcentaje de azúcar y el porcentaje de pulpa de tamarindo. Considerando 100 gramos como el 100 %, se obtuvo una formulación que se muestra en la Tabla 2:

Tabla 2. Ingredientes para la formulación de dulce con proteína de chapulín.

Ingredientes	Cantidad (%)
Pulpa de tamarindo	43
Harina de chapulín	10
Azúcar glass	31
Mezcla de chiles (60/40) Guajillo & árbol	4.3

Grenetina	5.6
Ácido cítrico	1.2
Sal	2.1

Se tamizó la proteína y el azúcar glas, posteriormente, a la pulpa de tamarindo ya preparada, se le quitó las semillas que contenían. Se integró los sólidos poco a poco a la pulpa de tamarindo, todo a temperatura ambiente (25–C), una vez obteniendo una masa uniforme y se laminó con un rodillo y se cortaron cuadros, todos del mismo tamaño. Se dejó reposar el dulce por un día, para que perdiera humedad. Pasadas 24 h, se escarchó el dulce rociando una mezcla de agua con maltodextrina, y se pasó por un tamiz con chile en polvo. Inmediatamente, se llevó a bolsas de polipropileno y se sellaban. Almacenando en un lugar fresco y seco, sin luz directa hasta su análisis.

Toda la producción se llevó a cabo en la Planta Piloto de Alimentos, ubicada en el Parque Biotecnológico de la Universidad Autónoma de Querétaro, aplicando las buenas prácticas de manufactura para asegurar la inocuidad del producto.

Las pruebas microbiológicas para asegurar su inocuidad (en su calidad microbiológica) se realizaron de acuerdo con las normativas mexicanas:

NOM-111-SSA1-2014, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.

NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.

5.7 Análisis vida de anaquel y análisis sensorial del producto de confitería

Para el estudio de vida útil, las muestras del producto terminado se almacenaron a temperatura ambiente (25°C). Se realizaron muestreos cada semana, midiendo sus parámetros fisicoquímicos: porcentaje de humedad, pH, Aw y contenido de ácidos grasos libres.

Se llevó a cabo el análisis sensorial del producto desarrollado en el laboratorio de evaluación sensorial, ubicado en el Parque Biotecnológico de la Universidad Autónoma de Querétaro. A cada panelista se le informó acerca de la prueba y del producto que consumiría, se le entregó un formato de consentimiento informado (Anexo 2 y Anexo 3) donde el panelista podía aceptar o no su participación en la evaluación.

Se reclutaron al menos 50 consumidores habituales de dulces de tamarindo, adultos entre 18 a 80 años (Hough & Garitta, 2012). Se les preguntó su frecuencia de consumo y se tomó en cuenta que no presentaran alergia a crustáceos o derivados, en algún ingrediente presente en la formulación. Los consumidores fueron reclutados por medio de infografías en físico y en digital (Anexo 5).

Para el análisis sensorial, se presentó un set de 2 muestras codificadas para cada evaluador, que consistieron en pequeñas porciones de 9.5 g de cada producto formulado. Las muestras se presentaron en pequeños platos de plástico codificados al azar y se usó agua purificada a 25 °C para limpiar el paladar.

Se establecieron los atributos a evaluar (textura, sabor, color y sabor) incluyendo su aceptabilidad en general, mediante una escala hedónica del 1 al 9 (1= No me gusta extremadamente al 9=Me gusta extremadamente). Se les permitió a los evaluadores manipular la muestra de manera libre, y ofrecer comentarios sobre el producto en caso de que existiera (Anexo 4).

5.8 Diseño y análisis estadísticos

En la experimentación con ultrasonido (US), se realizó un diseño factorial completo (2^2) completamente aleatorizado, donde los factores a evaluar fueron tiempo (20 min), potencia (400 W), tipo de sonicado (continuo, pulsado) y calentamiento (con ebullición, sin ebullición). Todos los tratamientos se realizaron en total de tres unidades experimentales independientes. Los datos del experimento con ultrasonido (US) y agua subcrítica (AS) se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA), siempre y cuando se cumplieran las condiciones de normalidad y varianzas constantes. Para la comparación de medias entre las muestras, se utilizó la prueba de Tukey.

6. Resultados y discusión

6.1 Caracterización proximal del material

Los resultados de la caracterización proximal de la harina de chapulín y el extracto proteico se muestran en la Tabla 3. Donde se puede observar para la harina obtenida de *S.purpurascens* un alto contenido de proteína del 61.13%. Distintos autores se han dedicado a estudiar una gran variedad de insectos comestibles, con el fin de demostrar los beneficios para la salud donde han informado sobre contenidos de proteína que van en un rango desde 43.9% a 77.1% para diferentes especies de saltamontes y grillos (Ibarra-Herrera et al., 2020).

El segundo componente mayoritario en la harina son los carbohidratos totales con un 21.45%, de los cuales un 11.55% se le atribuye a su contenido de quitina. La quitina se encuentra en forma de fibra insoluble, sirviendo como material estructural para el insecto (Hirsch et al., 2019). Se ha mostrado ser beneficiosa para la salud humana ya que, al ser una fuente de fibra insoluble, presenta propiedades prebióticas (Stull et al., 2018).

En cuanto a su fracción lipídica representó un 13.28%, encontrándose dentro del rango reportado para *S.purpurascens* (5.75%- 19.56%), siendo valores altos comparados con otras clases de ortópteras como lo es para *A. domesticus* (3.6 %) (Torruco-Uco et al., 2019). Aunque el contenido lipídico de *S.purpurascens* puede ser relativamente bajo, a comparación con otras fuentes de alimentos, posee la capacidad de proporcionar un contenido alto de ácidos grasos insaturados (67-75%) lo cual puede convertirlos en una fuente de aceite de alta calidad (Ibarra-Herrera et al., 2020).

Por otro lado, el contenido de proteína en el concentrado proteico fue entre 61.13% a un 67.43%, esto debido al método de extracción alcalina, ya que las proteínas se solubilizan selectivamente a pH 12, dando como resultado que, durante el proceso de precipitación, los componentes como la grasa y el exoesqueleto (quitina) puedan ser eliminados. Esto da como resultado final, una purificación y concentrado de proteína de insecto (Brogan et al., 2021). Por otro lado, el proceso de desengrasado aportó una reducción de contenido lipídico de un 3.3 %. Sin embargo, para el caso de la quitina no hubo una

disminución, esto puede ser debido a que los insectos contienen una gran cantidad de quitina, polisacáridos ricos en nitrógeno y proteínas entrelazadas. Lo cual, entre estas matrices puede causar estimaciones altas en los contenidos de proteína y carbohidratos (Janssen et al., 2017).

Tabla 3 Caracterización proximal del material para la harina de chapulín y para el concentrado proteico.

Componente	Harina <i>S. purpurascens</i> (%)	Concentrado proteico <i>S. purpurascens</i> (%)
Proteína	61.135 ± 0.004	67.433 ± 0.187
Lípidos	13.280 ± 0.028	3.381 ± 0.110
Cenizas	4.206 ± 0.131	1.379 ± 0.037
Carbohidratos	21.450 ± 0.103	27.824 ± 0.041
Quitina	11.554 ± 0.036	14.430 ± 0.69

Los resultados se presentan como promedio de tres réplicas ± desviación estándar.

6.2 Propiedades tecno funcionales de la harina de chapulín y del concentrado proteico

Los resultados para las determinaciones tecnofuncionales de la harina de chapulín y del concentrado proteico antes y después de cada tratamiento, se pueden observar de manera general en la Figura 3, mediante un análisis de componentes principales (PCA). La identificación para cada tratamiento fue codificada de acuerdo con la Tabla 4, donde se puede observar con mayor facilidad los valores obtenidos para cada variable.

En esta proyección de PCA se recupera un 87.39% de varianza, por lo cual se puede considerar confiable.

En el primer gráfico, Figura 3A, la primera dimensión con una varianza recuperada del 63.52%, se puede observar en círculo azul el agrupamiento de los tratamientos con agua subcrítica (AS), estos caracterizados por poseer mayores capacidades en la formación

de espumas, emulsiones y solubilidades altas así mismo, se caracterizan por su baja de retención de agua y de aceite.

Por otro lado, en la Figura 3B, para el lado negativo del eje, se diferencian dos agrupamientos en círculos verde y rojo, estos representados por los tratamientos con Ultrasonido (US) y los controles (harina de chapulín, proteína extraída, y proteína extraída con el tratamiento térmico de ebullición). Éstas, caracterizadas por presentar mayores capacidades en su retención de agua y aceite y bajos porcentajes en el resto de las propiedades tecnofuncionales. En la segunda dimensión, en el eje positivo, es posible diferenciar a los tratamientos con ultrasonido (1US, 2US y 4 US) de los tratamientos de agua subcrítica (AS), y los controles, destacando por su alta capacidad de retención de agua y aceite.

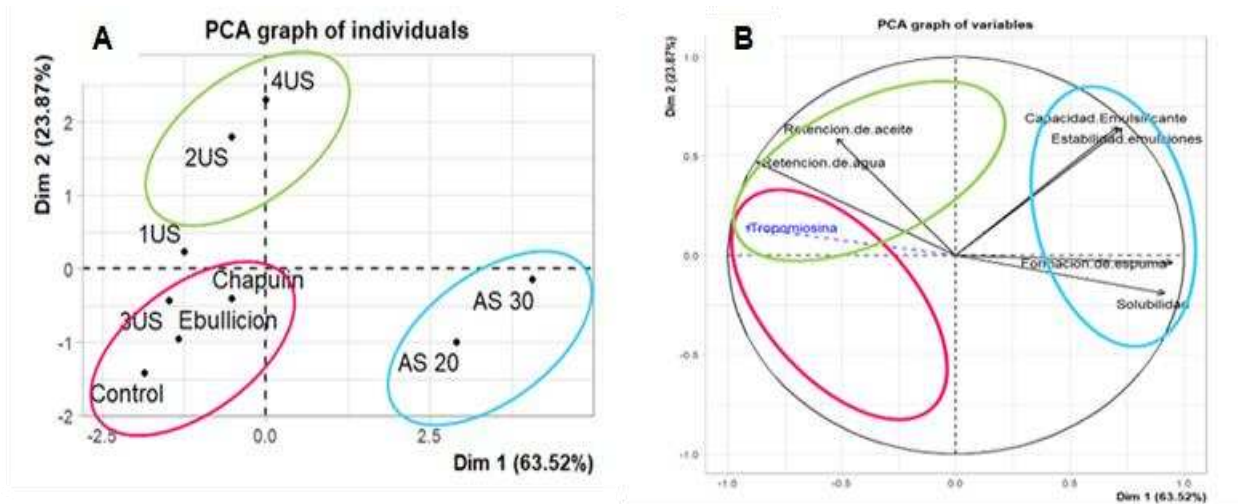


Figura 3 Proyecciones de los componentes principales de las determinaciones tecnofuncionales de los tratamientos US= ultrasonido, AS=agua subcrítica, Chapulín= harina de chapulín, Control= concentrado proteico, Ebullición= proteína solo con ebullición.

Los datos obtenidos para cada uno de los tratamientos se muestran en la Tabla 4 en las cuales se describen a continuación cada una de sus propiedades funcionales.

6.3 Solubilidad

Se muestra para la harina de chapulín una solubilidad a pH 7.0 de 10.10%, conforme se realizaron los tratamientos de US y AS, el porcentaje de solubilidad aumentó hasta un 16.60% y 35.87% respectivamente. Cabe mencionar, que, entre los tratamientos de US, no hubo diferencia significativa para sus valores obtenidos en su solubilidad. Estos valores concuerdan con otras especies de insectos reportados, por ejemplo, para *S. gregarian* y *A. mellifera* mostrando solubilidades bajas a un pH 7.0 (15.8 % y 12.4% respectivamente) y obteniendo un aumento después de su extracción de un 33 - 42% (Mishyna et al., 2019). Una solubilidad baja puede deberse a la presencia de lípidos, la cual reduce la capacidad de absorción de agua de las proteínas, lo que provoca una reducción en su capacidad de hinchamiento, y en consecuencia una solubilidad baja (Awuchi et al., 2019).

Tabla 4 Propiedades Tecnofuncionales para cada uno de los tratamientos, control, Ultrasonido y Agua Subcrítica

Componente	WAC (g/g)	OAC (g/g)	EC (%)	FC (%)	Solubilidad pH7 (%)
Harina chapulín	3.91± 0.08 ^{bc}	3.87±0.39 ^a	62.29±1.91 ^b	6.25±1.77 ^b	10.10±0.21 ^b
(C)	4.05± 0.130 ^{bc}	6.14±0.50 ^{ab}	26.25±3.81 ^c	5.00±0.00 ^b	15.92±0.19 ^c
(E)	3.61± 0.62 ^b	6.62±0.57 ^{bc}	38.40±0.010 ^d	6.25±1.77 ^b	16.46±0.19 ^c
(1US)	4.42± 0.010 ^{bc}	7.93±0.16 ^c	49.47±1.86 ^e	12.50±0.00 ^c	16.75±0.60 ^c
(2US)	4.74± 0.34 ^{bc}	8.21±0.23 ^c	71.28±3.05 ^d	12.50±0.00 ^c	16.32±0.38 ^c
(3US)	4.22± 0.43 ^c	7.71±1.11 ^c	37.82±2.66 ^a	12.50±0.00 ^c	16.73±0.19 ^c
(4US)	4.56± 0.02 ^{bc}	8.15±0.98 ^c	77.33±0.83 ^a	12.50±0.00 ^c	16.60±0.00 ^c
(AS20)	1.84± 0.05 ^a	5.06±0.25 ^{ab}	66.80±0.88 ^b	32.22±1.57 ^a	33.77±0.82 ^a
(AS30)	1.62± 0.04 ^a	4.64±0.38 ^a	78.47±2.8 ^a	34.44±1.57 ^a	35.87±1.30 ^a

Los resultados se presentan como promedio de tres réplicas ± desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) según la prueba de Tukey. US= ultrasonido, AS= agua subcrítica, E= concentrado proteico con ebullición, C= concentrado proteico, 1US= 400w/20min/cavitación continua, 2US= 400W/20min/cavitación pulsada, 3US= 400W/20min/cavitación continua/ebullición, 4US= 400W/20min/cavitación pulsada/ ebullición, AS20= agua subcrítica/ 20 min, AS30= agua subcrítica/ 30 min

Por otro lado, el aumento de la solubilidad se puede atribuir a la liberación de fragmentos peptídicos pequeños, éstos generando un aumento en los grupos amino y carboxilo, los cuales van a interactuar con las moléculas de agua y mejorando la hidratación de las proteínas (Purschke et al., 2018). Tener una buena solubilidad en las proteínas es importante en las aplicaciones alimentarias, ya que facilita la formación de emulsiones, espumas y geles (Zielińska et al., 2018).

6.4 Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención agua y de aceite de las proteínas en los alimentos depende de factores intrínsecos como su conformación, composición de aminoácidos, polaridad o hidrofobicidad (Suresh & Samsher, 2013). Los valores obtenidos para la capacidad de retención de agua (WAC) se muestran en la Tabla 4. No se observaron diferencias significativas entre tratamientos de US (4.56 g de agua / gramo de muestra) pero sí con respecto a los controles (3.91 gramo de agua / gramo de muestra). Se ha reportado como alternativa el uso de US principalmente en productos cárnicos y lácteos, para mejorar las propiedades de las proteínas, su solubilidad en agua y para retener agua (Téllez-Morales et al., 2020). Una alta WAC en estos extractos proteicos pueden utilizarse al añadirse a formulaciones de varios alimentos, como lo son quesos, productos de panadería, embutidos y masas (Awuchi et al., 2019).

En cuanto al AS, ésta provoca una disminución en la WAC, ya que los valores obtenidos son de 1.61 ± 0.04 (g/g). Esto concuerda con valores reportados para algunos ortópteros como *A. domesticus* con valores de 2.03 g/g y *Gryllidae sp.* 2.38 g/g (Torruco-Uco et al., 2018). Una WAC muy baja puede afectar la calidad de los productos alimenticios obteniendo un alimento rígido, seco y con volumen bajo.

6.5 Capacidad de retención de aceite

Los valores obtenidos para la capacidad de retención de aceite (OAC) se muestran en la Tabla 4. Para la harina de insecto fue de 3.87 g/g, la cual no mostró diferencia significativa con respecto a los valores obtenidos para AS (4.64 g/g). Sin embargo, estos

valores concuerdan con datos reportados para distintas especies (*G. sigillatus* 2.82 g/g y *A. domesticus* 3.37 g/g) (Torruco-Uco et al., 2018).

Por otro lado, para los tratamientos con US esta capacidad aumenta hasta a un 8.20 ± 0.22 (gramo de aceite / gramo de muestra), esto concuerda con Leni et al., (2020) al reportar hasta cuatro veces en el aumento de OAC de la harina de gusano. La posible razón del aumento en la OAC es debido al incremento en la presencia de cadenas no polares, quedando expuestos para unirse con cadenas de hidrocarburos oleosos. Esta capacidad resulta beneficiosa en las interacciones estructurales en los alimentos, ya que pueden mejorar la palatabilidad del alimento, la vida útil y retención de sabores, particularmente en productos cárnicos, de panadería o productos donde sea deseable la absorción de grasa (Chandra et al., 2015).

6.6 Capacidad de formación de emulsión

Los valores obtenidos para la capacidad de formación de emulsión (EC) se muestran en la Tabla 4. Para la harina de chapulín fue de 62.29%, este valor fue mayor en las muestras tratadas con AS hasta un 78.47%, a diferencia con los datos obtenidos para los diferentes tratamientos con US, en los cuales existió variabilidad entre tratamientos; Para los tratamientos con US, con sonicación pulsada, se obtuvo valores altos hasta de un 77.33%, en cambio cuando se utilizó el tipo de sonicación continua, este valor disminuyó, al igual que los controles (proteína extraída y con ebullición) hasta un 25.5 %. Estos valores bajos obtenidos en su EC concuerdan con otras especies reportadas, alrededor de un 20.33% promedio en su capacidad emulsificante para *L. migratoria*, *A. domesticus* y *Gryllidae sp.* (Torruco-Uco et al., 2018). El menor valor después de haberse extraído la proteína puede deberse al proceso de desengrasado que se aplicó, ya que esto puede provocar la agregación de ciertas proteínas y compuestos que causen disminución en la hidrofobicidad de la proteína extraída (Kim et al., 2020).

En cuanto al aumento en la EC en los tratamientos con AS, puede atribuirse a la desintegración de la proteína, la desnaturalización y a los cambios estructurales, los cuales, provocan una mayor exhibición de aminoácidos hidrofóbicos lo cual van a

generar el aumento en la capacidad de emulsificación de las proteínas (Bußler et al., 2016).

6.7 Capacidad de formación de espuma

La capacidad de formación de espuma (FC) inicial para la harina de chapulín fue de 6.25%, este valor no cambió significativamente con respecto a los controles, estos valores concuerdan con los reportados para *S. purpurascens* con un valor de 6.17% (Torruco-Uco et al., 2018).

Por otro lado, para los tratamientos con US, este valor fue mayor (12.5 %), pero fue significativamente más alto en las muestras tratadas con AS (34.33 %).

La desnaturalización parcial de las proteínas genera un despliegue gradual, exponiendo sus sitios hidrofóbicos, los cuales son adsorbidos con mayor facilidad entre las interfases agua-aire, reduciendo la tensión superficial y provocando un aumento en la capacidad espumante (Awuchi et al., 2019, Zielinska et al., 2018) por lo tanto, se podría considerar a los tratamientos de AS como buenos agentes espumantes para la aplicación de alimentos que requieran ser aireados o añadir textura, como alimentos horneados, dulces o helados.

6.8 Efectos de los tratamientos de ultrasonido y agua subcrítica sobre la harina de chapulín y del concentrado proteico

La alergenicidad (presencia de tropomiosina TM) del concentrado proteico y sus distintos tratamientos, fueron analizados por la prueba ELISA tipo sándwich. Los contenidos de tropomiosina para cada uno de los tratamientos se pueden observar en la Figura 4.

El contenido de tropomiosina (TM) inicial en el concentrado proteico (control) fue de 42.63 ± 2.23 ng/ml. Comparado con el tratamiento con calentamiento de ebullición, se puede observar en la Figura 4 que no existió una diferencia significativa. Posteriormente, para los tratamientos con US, se puede observar una variabilidad entre tratamientos, sin embargo, se destaca el tratamiento de US con 400/20/C/E, fue el que obtuvo una mayor reducción (entre los cuatro tratamientos con US) obteniendo un contenido 30.82 ± 1.37

ng/ml, es decir se redujo cerca del 27.5 % de tropomiosina con respecto al control (concentrado proteico). Chen et al., (2023), reportaron el uso de US a 500 W de potencia por 30 min sobre la proteína TM extraída de almejas (*M. veneriformis*) para la cuantificación y reducción de TM, donde obtuvieron una reducción del 36.9 % atribuyendo a la disminución a los cambios conformacionales de la tropomiosina (TM), en particular a la destrucción u ocultación de los epítomos presentes de la proteína. Así mismo, el efecto del US fue atribuido el efecto de cavitación que produce ruptura de los enlaces Van der Waals y enlaces de Hidrógeno, produciendo la modificación de la TM. Además, es importante tener en cuenta, que varios de estos métodos de procesamiento, que alteran la conformación de los epítomos, pueden crear nuevas regiones de unión induciendo nuevas sensibilizaciones y/o respuestas alérgicas (Hall & Liceaga, 2020).

Por otro lado, se han reportado otras tecnologías novedosas para la disminución de la reactividad de la TM, como los tratamientos con altas presiones (HTP) y, además con la combinación de distintos métodos, como las proteólisis enzimáticas con microondas, así como HTP con US (Mejrhit et al., 2017). En el presente trabajo se aplicó US acoplado a un tratamiento térmico (ebullición >90°C, 15 min), mostrando que por sí solo el ultrasonido y con acoplamiento térmico, si produce cambios en el reconocimiento de IgE del alérgeno de la proteína de chapulín, provocando también cambios reversibles en su despliegues proteicos y reordenamiento de enlaces.

Sin embargo, poco se sabe de los efectos de US sobre la alergenicidad de la proteína de chapulín y en particular con el acoplamiento con tratamientos térmicos.

Finalmente, se observa (Figura 4) una disminución significativa de la proteína, al ser tratados con AS, aunque entre ambos tratamientos, presentan valores similares. Estas condiciones destacaron por presentar más del 90 % de reducción de TM con respecto al control, obteniendo en el tratamiento con AS al tiempo de 30 minutos, poseer una concentración de 3.80 ± 0.31 ng/ml.

En un estudio similar, donde se evaluó el grado de hidrólisis de la TM de un concentrado de grillo (*G. sigillatus*) mediante el uso de calentamiento por microondas y acoplado a hidrólisis enzimática (3% p/p de alcalasa), mostró una cuantificación de TM de <10

ng/mL, y reportando su grado de hidrólisis cerca del 50%. Atribuyendo al calentamiento por microondas, la liberación de péptidos bioactivos, y al despliegue de proteínas que éstas a su vez, quedaron accesibles para las enzimas las cuales provocaron una hidrólisis de los epítomos activos (Hall & Liceaga, 2020).

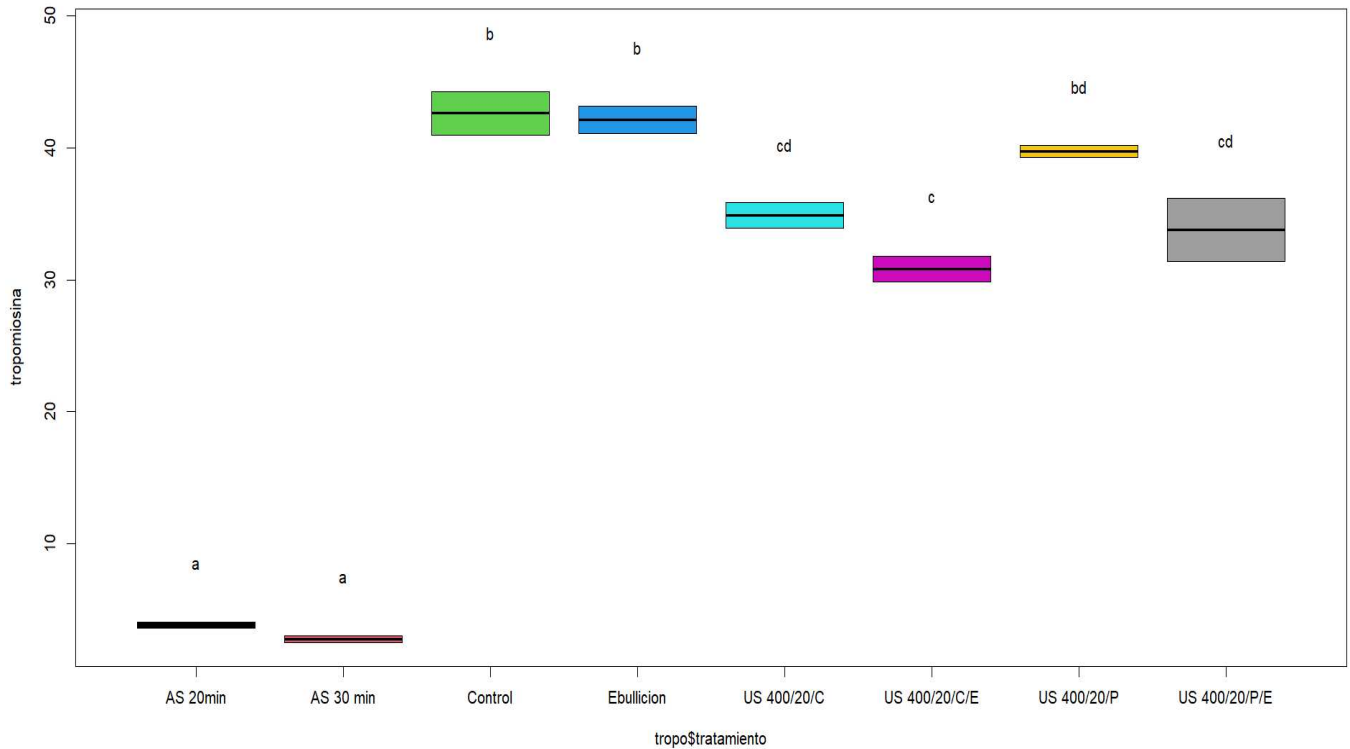


Figura 4 Contenido de tropomiosina (ng/ml) de concentrado proteico de chapulín y cada uno de los tratamientos con ultrasonido y agua subcrítica. AS= agua subcrítica a 20 min y 30 min, US= ultrasonido (el primer número representa la potencia, segundo al tiempo) C= representa sonication continuo, P= representa sonication pulsado, E= Ebullición. Los resultados se presentan como promedio de dos réplicas \pm DE. Diferentes letras indican diferencias significativas.

La TM (esta proteína alergénica presente en los insectos) se considera muy resistente al calor, debido a su estructura conformada en espiral por alfas hélices. Estas estructuras pueden colapsar al calentarse a temperaturas superiores a 80°C, sin embargo, si la estructura nativa no alcanza este punto puede volver a reformarse y en consecuencia volver a conservar su actividad alergénica (Ozawa, Watabe & Ochiai, 2011).

Dicho lo anterior, puede complementar al hecho de porqué los tratamientos de AS, lograron hidrolizar a la proteína a tal punto de solo ser cuantificable menos de 10 ng/ml de TM. Esto debido a las altas presiones y temperaturas alcanzadas, junto con el medio ácido y tiempo prolongado, a tal punto de superar la barrera del reordenamiento proteico, produciendo en gran parte solo hidrolizados.

6.9 Electroforesis en gel SDS-PAGE

Se realizó una electroforesis en gel SDS-PAGE para determinar la distribución molecular del concentrado proteico de la harina de chapulín y de los tratamientos con US y AS (Figura 5).

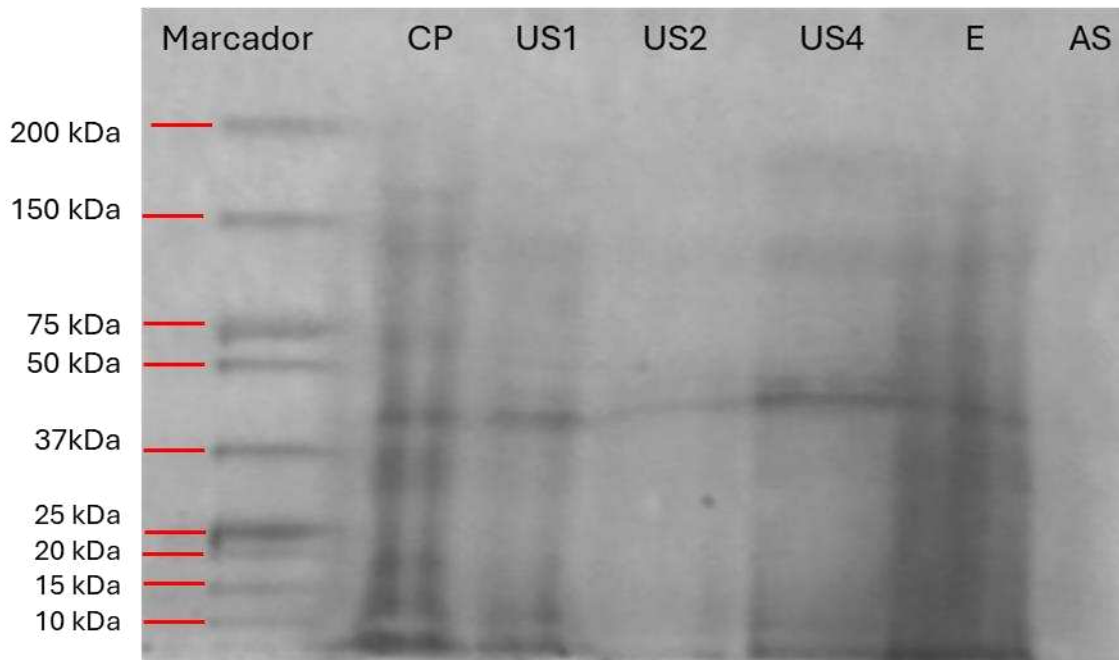


Figura 5 Electroforesis SDS-PAGE del concentrado proteico y los diferentes tratamientos. (CP=concentrado proteico, US1= ultrasonido 400W/20min/C, US2=ultrasonido 400W/20min/P, US4= ultrasonido, 400W720min/P/E, E=ebullición, AS= agua subcrítica).

Se utilizó como referencia un marcador proteico de un rango de 10 a 250 kDa colocado en el primer carril, para el segundo carril fue para el concentrado proteico, los carriles tercero, cuarto y quinto fueron asignados para los tratamientos con US, el sexto y séptimo fueron para el tratamiento con ebullición y AS.

Se puede observar una variabilidad en la distribución de las proteínas desde 150-15 kDa para los carriles, 3, 4 y 5, Además de una banda ligeramente cercana a los 36- 37 kDa, la cual corresponde a la TM que se encuentra aún presente. En cuanto al tratamiento con AS, se puede observar diferencias, ya que la distribución molecular de los fragmentos parece ser menores 25 kDa, por lo cual no se logran identificar por ser de muy bajo peso molecular, siendo estas bandas casi ausentes. El propósito de incluir a el AS en el mismo gel fue comparar los resultados y evidenciar la hidrólisis de la proteína, lo cual se refleja en la ausencia de fragmentos en el gel de electroforesis.

El uso de AS provocó degradación de las proteínas durante el proceso, lo que resultó en la conversión de péptidos de muy bajo peso molecular, a su vez esto redujo la alergenicidad (a comparación de los tratamientos con US y ebullición).

La falta de distinción de las bandas para los tratamientos tanto para US y AS puede deberse los efectos de degradación de las moléculas de TM y/o al efecto de la pequeña cantidad de proteína que pudieron ser detectados mediante la SDS-PAGE. Otros estudios, han complementado este hecho con la identificación de los fragmentos de TM con mayor precisión mediante el uso de HPLC (Zhang et al., 2018).

6.10 Digestibilidad

Se analizaron las muestras para cada uno de los tratamientos de US y AS, además de la muestra inicial de chapulín, control (proteína extraída), y el dulce de tamarindo elaborado con la integración de proteína de insecto. Los resultados de la determinación de la digestibilidad proteica se muestran en la Figura 6.

Se obtuvo para la muestra de chapulín (muestra inicial antes de ser extraída su proteína TM), una digestibilidad de un 60.52 % \pm 0.41. Este dato concuerda con los rangos reportados para la orden Ortóptera, que va desde un 57 % a 91.7%, siendo valores aproximados, éstos variando entre especie y etapa de vida del insecto (larva o adulto) (Rodríguez-Rodríguez et al., 2022).

Posteriormente, al ser extraída la proteína de chapulín (control) existe una disminución en su digestibilidad cercana a un 40 %, esto puede deberse al hecho, de estar

concentrando la proteína TM. En un estudio realizado por Liu et al. (2021), reportaron para sus muestras proteicas una alta resistencia digestiva, lo cual sugieren para la TM poseer una secuencia de aminoácidos termoestables o indigestibles de los cuales demuestran ser sus epítomos lineales, éstos al ser tratados con US o altas presiones (HTP), fueron digeridos con dificultad demostrando que la alergenicidad de estos epítomos aún se mantenían.

Además, otro factor importante que puede afectar a una baja digestibilidad de las proteínas es el efecto de la quitina, ya que ésta puede estar correlacionada de forma negativa (Marono et al., 2015). Este polisacárido (glucosamina y N-acetilglucosamina) no se degrada ni se absorbe por el intestino delgado, por lo tanto, puede poseer propiedades antinutricias (Rodriguez-Rodriguez et al., 2022).

En cuanto a los tratamientos con US y ebullición, no hubo diferencia significativa entre ellos. Siendo un valor máximo en su digestibilidad de $52.18 \% \pm 0.50$, y para el tratamiento con AS, se obtuvo una alta digestibilidad de un $93.06 \% \pm 1.50$. Estos valores dependen muchas veces de las condiciones del tratamiento ya que pueden transformar a las proteínas de distintas formas después del procesamiento.

Mutungi et al. (2017), mencionan que la formación de enlaces disulfuro y los complejos formados por las proteínas reducen la digestibilidad, provocando que no se encuentren disponibles para las enzimas. Por otro lado, Chen et al. (2023), reportaron el uso de US y HTP solos y en conjunto. Obtuvieron valores cercanos de un 60% hasta 74% de digestibilidad de la tropomiosina, sugiriendo que los tratamientos térmicos aumentaban en este caso significativamente la digestibilidad proteica, debido a los posibles cambios estructurales inducidos por el calor exponiendo sus sitios de corte y aumentando los sitios de unión de las enzimas.

Finalmente, la digestibilidad *in vitro* es una técnica que imita los procesos digestivos que ocurren en los humanos o animales. Sin embargo, estos métodos no pueden del todo simular por completo las condiciones reales de pH y temperatura del sistema digestivo, es por eso, que suelen tener valores más bajos que la digestibilidad *in vivo* obtenida con animales (Rodriguez-Rodriguez et al., 2022)

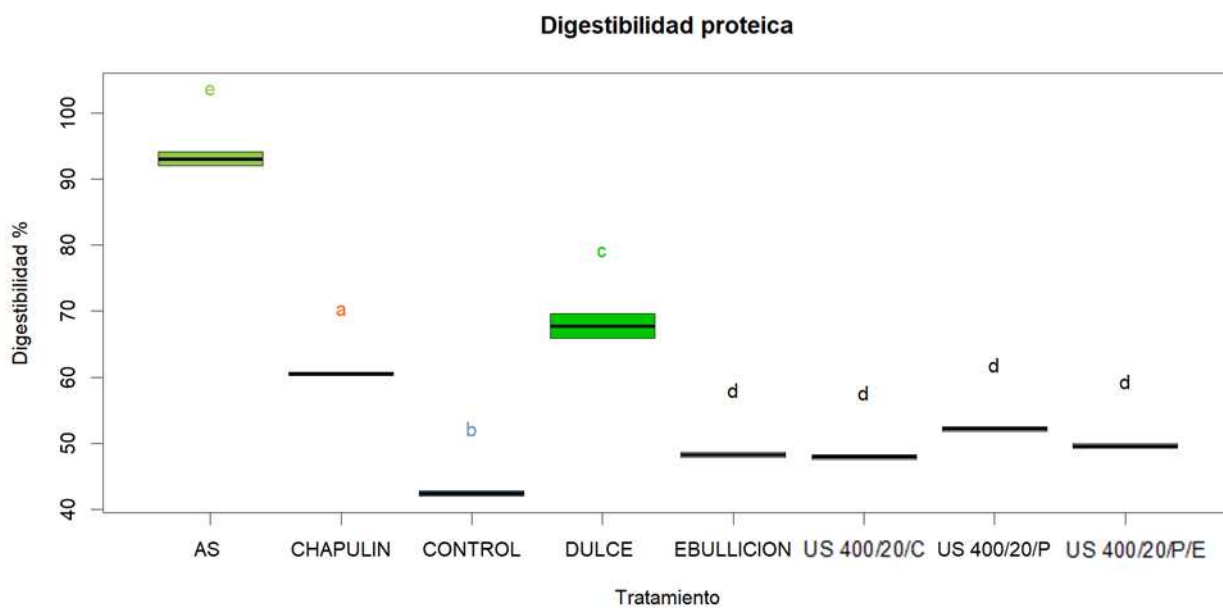


Figura 6 Porcentaje de digestibilidad de la materia prima y de los concentrados proteicos. AS= agua subcrítica a 30 min, Chapulín= Harina de chapulín, Control= Concentrado proteico, Dulce= Formulación de dulce 10% de chapulín, US= Ultrasonido (El primer número representa la potencia, el segundo el tiempo) C= tipo de sonicado continuo, P= tipo de sonicado pulsado, E= ebullición. Los resultados se presentan como promedio de dos réplicas \pm DE. Diferentes letras indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) empleando la prueba de Tukey.

6.11 Formulación de Golosina

La formulación que se utilizó para la elaboración del dulce con harina de chapulín (ya descrita en la Tabla 2) fue de acuerdo con las formulaciones tradicionales de un dulce de tamarindo (con modificaciones) presentadas en la Tabla 5.

Turck et al., (2021) proponen a *A. domesticus* como un ingrediente destinado para alimentos estándar, es decir consumido por cualquier grupo de la población. Proponen utilizar formulaciones para varios productos alimenticios y clasificándolos por jerarquías, mostrando los niveles máximos de su uso para cada una de la clasificación del alimento.

Nuestro dulce, entra en la clasificación de “chocolates y similares”, declarando un uso máximo de 10 g (g insecto/ 100 g).

Tabla 5 Formulación Típica Dulce de tamarindo

Ingredientes	% (m/m)
Pulpa de tamarindo	7.4
Sacarosa	29.75
Jarabe de maíz	22.28
Azúcar Glas	29.75
Chile guajillo	3.3
Chile de árbol	0.4
Sal	3.7
Sorbitol 70%	0.6
Color	0.05
Sabor	0.1
Benzoato de sodio	0.07
Ácido cítrico	2.6

Para la formulación, se le añadió el 10% de harina de chapulín, reduciendo pulpa de tamarindo y azúcar glass.

6.12 Análisis microbiológico del dulce con harina de chapulín

Se realizó el análisis microbiológico para el dulce de chapulín, con la finalidad de evaluar su calidad microbiológica y para poder realizarse el análisis sensorial sin que el dulce representará algún riesgo microbiológico a los panelistas. Los resultados de la Tabla 6 indican que el dulce desarrollado cumple con las especificaciones establecidas en las normas mexicanas e internacionales (equivalente a la ISO 4833)

Tabla 6 Análisis microbiológicos Coliformes Totales, Mohos y Levaduras y Mesófilos aerobios del dulce con la harina de chapulín.

Microorganismo	Conteo para el dulce
Mesófilos aerobios	$\leq 20^2$ UFC/g
Mohos y Levaduras	≤ 10 UFC/g
Coliformes Totales	Menos de un coliforme 1/10

6.13 Análisis sensorial del producto de confitería

El análisis sensorial se llevó a cabo con 50 panelistas no entrenados, con edades de entre 18 a 70 años. De los cuales, el 37 % pertenece al grupo de entre 18 a 25 años, seguido del 26 % para panelistas entre 31 a 40 años, 21 % para los grupos de 26 a 30 años y finalmente, 16 % representa a personas de entre 41 a 68 años. De los 50 panelistas, 40 % representa a hombres, y el 60 % a mujeres. De los participantes encuestados, el 78 % son consumidores habituales de dulces de tamarindo, además el 76 % de los panelistas sí pertenecen a un público habitual de consumidores de insectos.

Los participantes calificaron las dos formulaciones, un control y el dulce de tamarindo con chapulín, mediante una escala hedónica de 9 puntos. Se puede observar en la Figura 7 los resultados de la evaluación del atributo sabor, para la muestra “chapulín” y “control”.

Para ambas formulaciones, los valores promedio dentro de la escala fueron por encima del valor de 6 puntos, lo que es igual a “gusta mucho”, sin embargo, entre ambas formulaciones, sí existe diferencia significativa percibida por los panelistas. Esto nos indica, que, aunque gustaron ambos dulces, el control gustó más. No obstante, realizando un análisis más profundo se encontraron datos que nos brindaron más información acerca de la preferencia de los panelistas. Se separaron los resultados de los panelistas en Hombres y Mujeres.

En la Figura 8, se observa los resultados de preferencia del atributo sabor entre las muestras, analizando para hombres. A diferencia del análisis inicial, se puede apreciar para ambas muestras valores similares en su distribución. Lo cual indica la falta de diferencia sensorial entre las dos formulaciones. Caso contrario para las mujeres, donde se puede observar en la Figura 9, las diferencias notables entre las dos formulaciones.

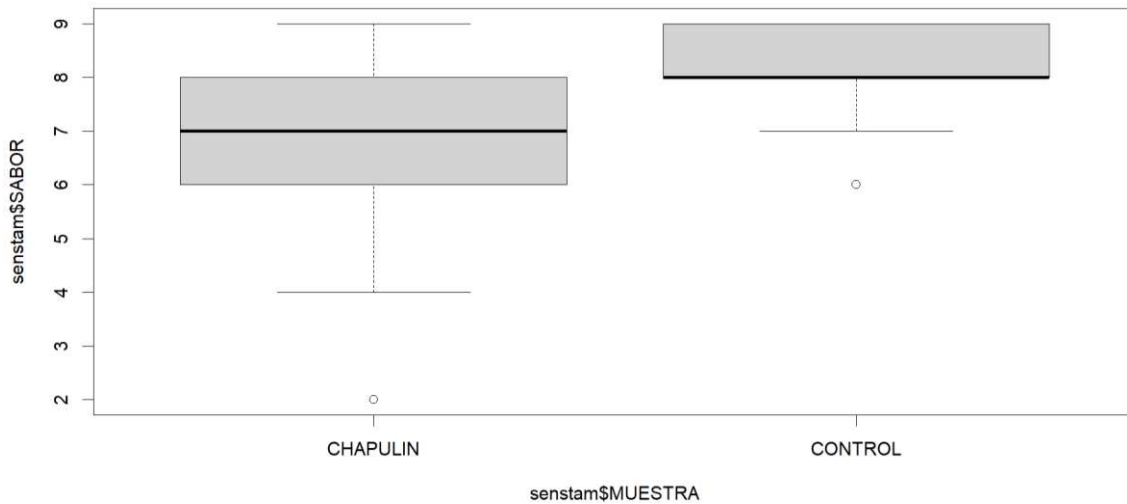


Figura 7 Gráfico de la evaluación sensorial de las formulaciones para el dulce de tamarindo con chapulín (CHAPULÍN) y formulación sin chapulín (CONTROL). Los resultados se presentan como el promedio de 50 réplicas \pm DE.

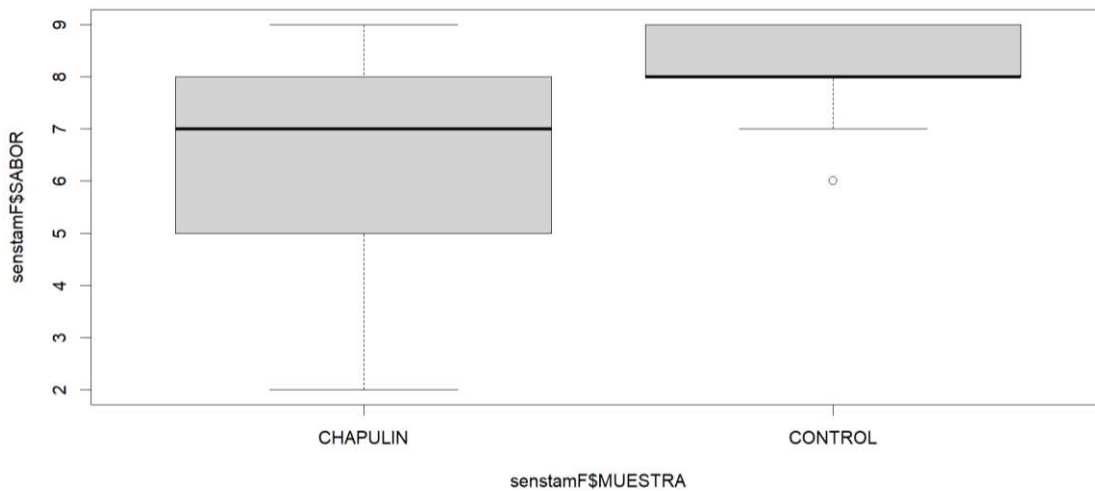


Figura 8 Gráfico de la evaluación sensorial del grupo “HOMBRES” para el atributo SABOR, para las formulaciones de dulce de tamarindo con chapulín (CHAPULÍN) y formulación sin chapulín (CONTROL). Los resultados se presentan como el promedio de 50 réplicas \pm DE.

Dado a lo anterior, al analizar los datos de manera global a interpretar los datos por sexo, nos mostraba resultados distintos. Por eso mismo, los demás atributos de las dos muestras fueron analizadas por sexo: hombres y mujeres.

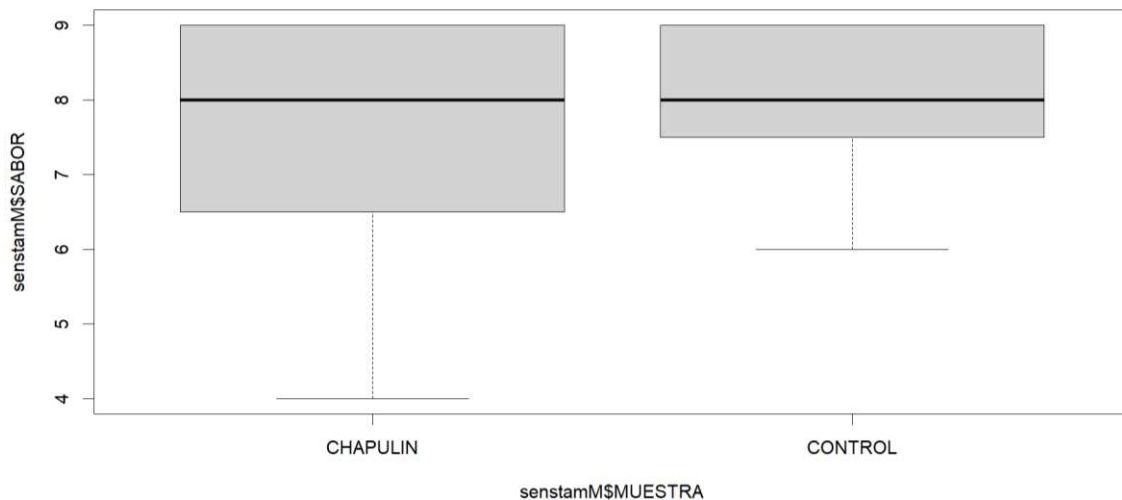


Figura 9 Gráfico de la evaluación sensorial del grupo “MUJERES” para el atributo SABOR, para las formulaciones de dulce de tamarindo con chapulín (CHAPULÍN) y formulación sin chapulín (CONTROL). Los resultados se presentan como el promedio de 50 réplicas \pm DE.

Se realizó un análisis multivariado para cada uno. En la Figura 10, se tienen los gráficos específicos para todos los panelistas hombres, donde se evaluaron las variables de cada muestra (atributos evaluados), dando como resultados un análisis de componentes principales bipolar, en el cual se obtuvo el 70.23% de la variabilidad total siendo este un valor confiable.

En la Figura 10 B, se observan la distribución de los individuos, agrupados por colores rojo para las formulaciones control y azul para la formulación con chapulín, representado cada uno la evaluación de cada panelista a cada muestra.

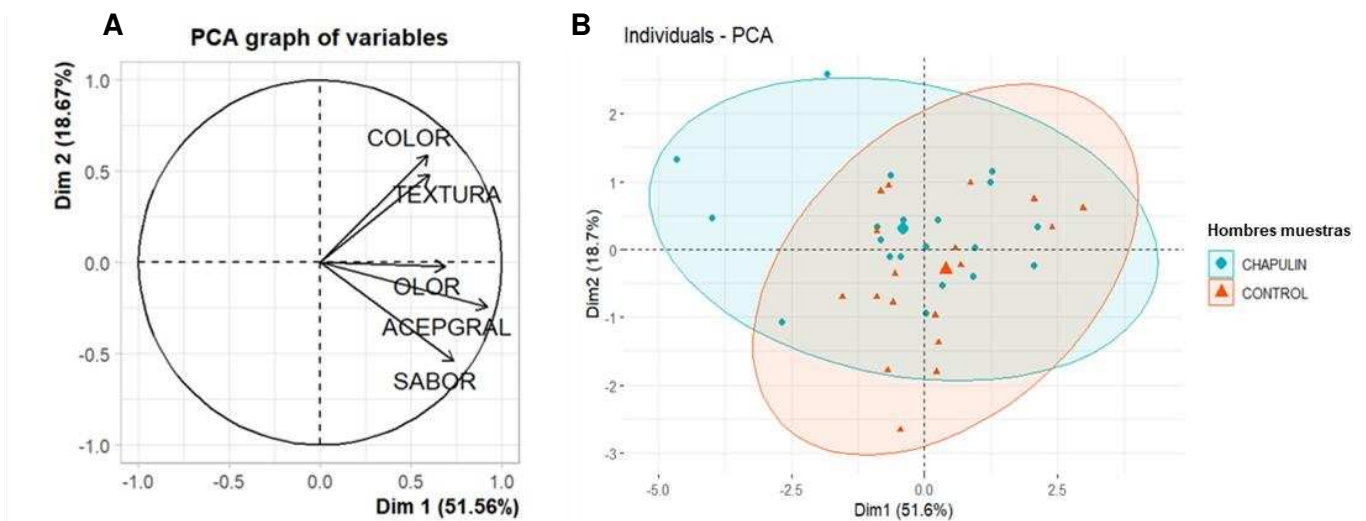


Figura 10 Proyecciones de los componentes principales para el grupo “HOMBRES” de las determinaciones sensoriales. A) Proyección de las variables (ATRIBUTO) B), Proyección de evaluación de cada individuo por cada formulación (CONTROL y CHAPULÍN).

Por otro lado, observando la Figura 10 A, la dimensión uno se ve influenciado mayoritariamente por sabor, olor, y su aceptabilidad en general. Por lo tanto, estas tres características pueden representar a la calidad sensorial del producto. En cuanto a la dimensión dos, se ve representado por los atributos de color y textura, estos pueden relacionarse más con los aspectos visuales o físicos del producto. Si bien, éstas características son importantes para la evaluación del producto, pero a menor medida que las características sensoriales de la primera dimensión.

En este sentido, se puede observar la distribución de datos en las dos dimensiones. El conjunto de datos representados por “chapulín”, se ven un poco más alejados a las direcciones positivas de los ejes, es decir más cercanas a lado izquierdo y al centro, las cuales se pueden interpretar por tener en menor medida sus características de color y textura, y al mismo tiempo poseer valores bajos en su aceptabilidad en general, sabor y olor.

Por otro lado, la distribución para “control” se encuentra con menor dispersión y distribuidos más cercanos al centro y lado positivo de los ejes. Los cuales se ven influenciados por las características de aceptabilidad en general, olor y sabor.

Sin embargo, se ve una tendencia casi homogénea entre ambos grupos por un agrupamiento mayoritariamente hacia el centro de los ejes, es decir los hombres otorgaron calificaciones más neutrales a ambos productos.

Ahora, evaluando los datos para el grupo de panelistas mujeres. Se obtuvo los siguientes dos gráficos observados en la Figura 11, donde se evaluaron las variables de cada muestra (atributos evaluados) así como su distribución por individuos, dando como resultados un análisis de componentes principales bipolar, en el cual se obtuvo el 79.09% de la variabilidad total siendo este un valor confiable.

Para la Figura 11 B, se siguió el mismo orden de agrupamiento, individuos que evaluaron la formulación “control” de color rojo y evaluación de formulación “chapulín” de color azul.

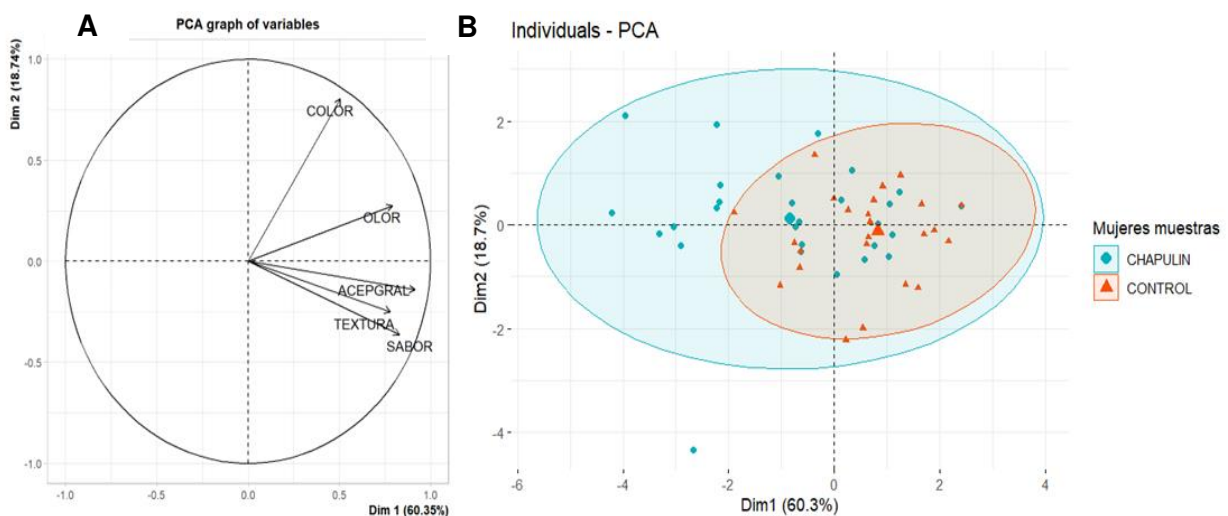


Figura 11 Proyecciones de los componentes principales para el grupo “MUJERES” de las determinaciones sensoriales, A) Proyección de las variables (ATRIBUTO) B) Proyección de evaluación de cada individuo por cada formulación (CONTROL y CHAPULÍN).

Se puede observar, para el primer grupo “control” una clara tendencia a distribuirse muy cercano al centro y ligeramente hacia el lado derecho. Caso contrario para el segundo grupo, donde se observan mayoritariamente distribuidos hacia el lado negativo y con una mayor dispersión. Por lo cual ambos grupos “chapulín” y “control” se ven diferenciadas en su distribución a pesar del ligero solapamiento. Para el PCA de variables (Figura 11 A), la dimensión 1, se ve correlacionada por los atributos de olor aceptabilidad en general, textura y sabor, lo cual se podría decir que estos 4 atributos para las mujeres representan las características importantes para la calidad sensorial del producto. En cuanto al color, se observa mayoritariamente correlacionado con la dimensión dos, dejando a este atributo como el único para su evaluación visual o física, caso contrario a los hombres.

Es decir, la mayoría de las mujeres agruparon a las muestras de “chapulín” más alejadas a los atributos sensoriales, ya que su distribución se encuentra con mayor dispersión y más alejada de los ejes positivos, caso contrario a la muestra control. Siendo así que las mujeres otorgaron mayores calificaciones a la formulación control, rechazando en mayor medida a la formulación con chapulín.

6.14 Análisis nutrimental del producto

A partir de los resultados anteriores, se prosiguió a evaluar el contenido nutrimental del producto con la inclusión de harina de chapulín al 10%, mediante análisis bromatológicos seguidos por las NOM-086-SSA1-1994 (Bienes y servicios, Alimentos y bebidas no alcohólicas en su composición. Especificaciones nutrimentales) y de la NOM-051-2010 (Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas).

Según el manual de etiquetado de las modificaciones de la NOM-051, se desea identificar de manera práctica los requisitos comerciales y sanitarios con el sistema de etiquetado frontal que deben presentar los alimentos y bebidas no alcohólicas que se comercializan en México.

Los resultados nutrimentales se muestran en la Tabla 7, en la parte de arriba, para el dulce de chapulín, se puede observar el alto contenido de kcal que aporta cada 100 g de producto. Sin embargo, comparando con el contenido nutrimental de un dulce de

tamarindo comercial, se puede observar, que ambos poseen cantidades similares de calorías. Pero a diferencia del producto comercial, el dulce de chapulín, su aporte calórico no depende únicamente de la cantidad de azúcares añadidos, dado que, el dulce de chapulín aporta 9.81 g de proteína las cuales éstas aportan por cada 100 g /39 kcal. Como se ha mencionado anteriormente, las proteínas de insectos son consideradas proteínas de buena calidad. Algunas investigaciones afirman que los insectos por su alto contenido de proteína pueden satisfacer el nivel de aminoácidos esenciales recomendados por la FAO (Zielinka et al., 2015).

Además, de ser un dulce que aporta proteína aporta fibra y lípidos (el cual aporta 12 kcal) y fibra, los cuales están representados en su mayoría por de ácidos grasos insaturados (67-75%) lo cual puede convertirlos en una fuente de aceite de alta calidad (Ibarra-Herrera et al., 2020).

Dado lo anterior, nuestro producto de confitería debe tener 3 sellos (Figura 12).



Figura 12 Dulce de tamarindo con la inclusión de 10% de proteína de chapulín, con 3 sellos según la NOM-051.

Seguendo los lineamientos de la NOM-086 y la NOM-051. Se usará la leyenda de "EXCESO DE CALORÍAS" si por cada 100 gramos de producto se aporta ≥ 275 kcal totales, en segunda se utilizará "EXCESO DE AZÚCARES" cuando el producto por cada 100 g, el $\geq 10\%$ total de energía proviene de los azúcares libres, y finalmente, se debe utilizar "EXCESO DE SODIO", cuando por cada 100 g de producto provengan ≥ 300 mg de sodio.

Tabla 7 Declaración Nutricional. Parte de arriba, formulación de dulce de tamarindo con la inclusión del 10% de proteína de chapulín. Tabla de abajo, formulación de un dulce comercial "Pulparindo".

DULCE DE CHAPULÍN		
DECLARACIÓN NUTRIMENTAL		
	por 100 g	por porcion 9.5 g
Contenido energético kJ (kcal)	393.87 (kcal) (1672.36 kJ)	37.42 (kcal) (158.87 kJ)
Proteínas	9.8	0.9
Grasas TOTALES (lípidos)	1.3	0.1
Carbohidratos (Hidratos de carbono)	85.8	8.1
Azúcares añadidos	31.9	3.0
Fibra dietética	8.3	0.8
Sodio	2160 mg	205 mg
DULCE "PULPARINDO"		
DECLARACIÓN NUTRIMENTAL		
	por 100 g	por porcion 9.5 g
Contenido energético kJ (kcal)	346 (kcal) (1469 kJ)	3.46 (kcal) (147 kJ)
Proteínas	1.0	0.1
Grasas TOTALES (lípidos)	0.0	0.0
Carbohidratos (Hidratos de carbono)	85.0	8.1
Azúcares añadidos	74.0	7.0
Fibra dietética	4.9	0.5
Sodio	858 mg	86 mg

6.15 Análisis vida de anaquel del dulce con harina de chapulín

Para el análisis de vida de anaquel, las muestras del dulce de tamarindo con harina de chapulín se almacenaron a temperatura ambiente (23°C) durante dos meses, empacados en bolsas de polipropileno y conservadas en un lugar seco y lejos de la luz solar. Los parámetros fisicoquímicos evaluados fueron: pH, Aw, humedad y ácidos grasos libres.

Es importante mencionar que el procesamiento de alimentos mejora la calidad sensorial como lo es en los cambios de textura o sabor, la reducción de microorganismos o inactivación de enzimas y pueden aumentar la vida útil de los productos. Sin embargo, también se pueden inducir procesos como la proteólisis, la oxidación de lípidos y reacciones de Maillard (Melgar-Lalanne et al., 2019).

La oxidación lipídica producida por los diferentes procesos de alimentos, afectan negativamente a la calidad de las grasas o incluso la disponibilidad de éstas (Melgar-Lalanne et al., 2019), debido a lo anterior y por el hecho de que nuestro producto presenta un porcentaje considerable de grasas, se decidió este parámetro como un factor químico deteriorativo del dulce para la determinación de la vida de anaquel. En la Figura 13 se observa la regresión cuadrática para la determinación de ácidos grasos libres a través del tiempo. Para su determinación se siguió el procedimiento de la NMX-F-101.SCFI-2012, donde la expresión de resultados se calculó como ácido oleico y expresado en término de valor ácido o índice de acidez (mg de KOH necesarios para neutralizar 1 g de aceite).

El modelo muestra una tendencia de valores crecientes en el índice de acidez del dulce a lo largo del tiempo. Se puede observar el incremento de sus valores de 10 % a un 15 % desde el tiempo cero a la semana dos, después de este período el aumento de los ácidos grasos libres (AGL) continuó, pero de forma gradual alcanzando un 20% en la semana seis finalizando por un comportamiento casi estable. Aunque el modelo presenta un buen ajuste de la (R^2), el número limitado de datos no nos permite afirmar con certeza que el tiempo esté correlacionado de manera significativa con el incremento de los AGL.

Por otro lado, se determinó como aspecto físico la pérdida o ganancia de agua, las cuales se analizaron por las mediciones de humedad y su A_w . Se realizó una cinética de humedad para el dulce, el cual se obtuvo la gráfica mostrada en la Figura 14, donde se observa de forma logarítmica la pérdida de humedad a través del tiempo. Se muestra para las primeras semanas un notable descenso en la humedad que va desde un 8 % a un 5 % de humedad, lo cual indica que no hay una linealidad conforme avanza el tiempo. Pasado la semana 4, se observa un descenso casi estable en su humedad, rondando en los valores de un 4% de humedad. Se puede decir, que el tiempo sí influye en la pérdida de humedad para este caso.

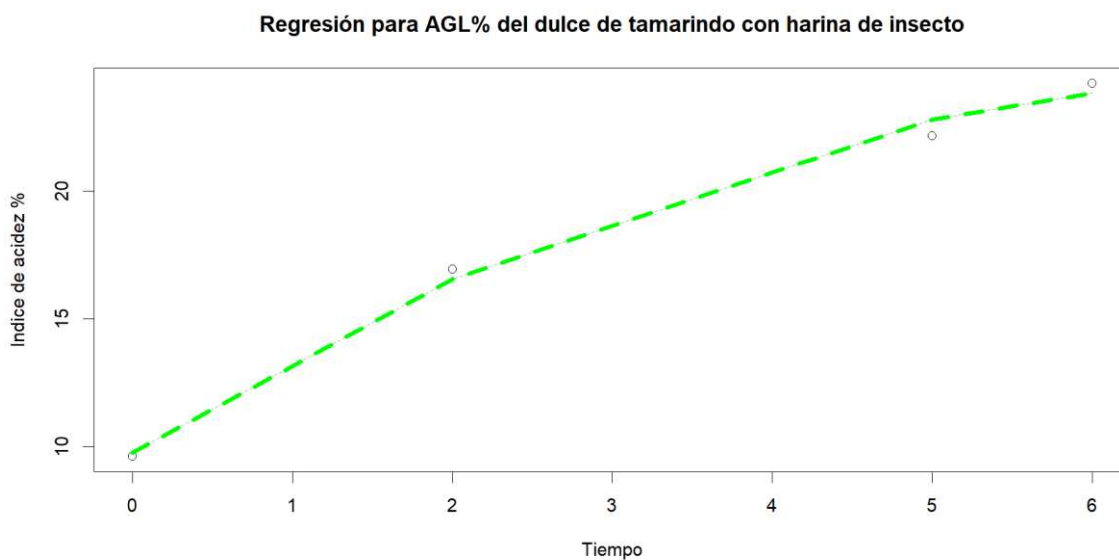


Figura 13 Regresión lineal para el porcentaje de AGL, representados por el índice de acidez, en el dulce de tamarindo con harina de insecto a lo largo del tiempo.

Considerando un alimento con humedad, almacenado a una temperatura determinada y en un recipiente cerrado herméticamente, al cabo de un tiempo, su presión de vapor provocará una transferencia de moléculas de agua y el empaque mantendrá una humedad relativa constante. Dicha humedad estará en función del grado de interacción de los solutos con el agua, por consiguiente, la humedad relativa del medio vs el

contenido de agua del producto a una temperatura determinada, el resultado será una deshidratación del sólido (Salvador Dergal, 2020).

Además, se determinó la humedad de un producto comercial “pulparindo”, éste se encontraba disponible a la venta, en condiciones similares a nuestro producto. El resultado, como se muestra en la Figura 14, es de un valor cercano a un 5.73 % de humedad del producto. Lo cual, comparando con nuestro dulce de chapulín, se podría decir a falta de un análisis sensorial que nuestro producto puede ser aceptado por el consumidor hasta la semana 4. Por lo tanto, a partir de esa semana existiría un rechazo por parte de los consumidores. Aunque los análisis instrumentales son útiles para el monitoreo de la calidad del alimento durante el almacenamiento, el análisis sensorial puede ser en ciertos casos una mejor opción, ya que muchas veces estos cambios solo pueden ser detectados por los consumidores.

La medición de la actividad de agua es un factor que puede considerarse como un indicador de deterioro que puede afectar varios aspectos como el físico. La Figura 15, muestra el valor de actividad de agua a lo largo del almacenamiento, el cual se mantuvo casi constante, oscilando entre los valores 0.50 y 0.58.

La Figura 15 señala la Zona II de un gráfico teórico de actividad de agua versus el tiempo de almacenamiento, en esta zona se señala el agua “ligada” a la superficie sólida del alimento (proteínas, carbohidratos, azúcares libres y minerales principalmente) por lo cual no se encuentra disponible para el crecimiento de los microorganismos. Solo la actividad de agua del alimento sería capaz de proporcionar cambios y con ella poder predecir la estabilidad y vida útil del producto, y no por su contenido de agua (Salvador Dergal, 2020)

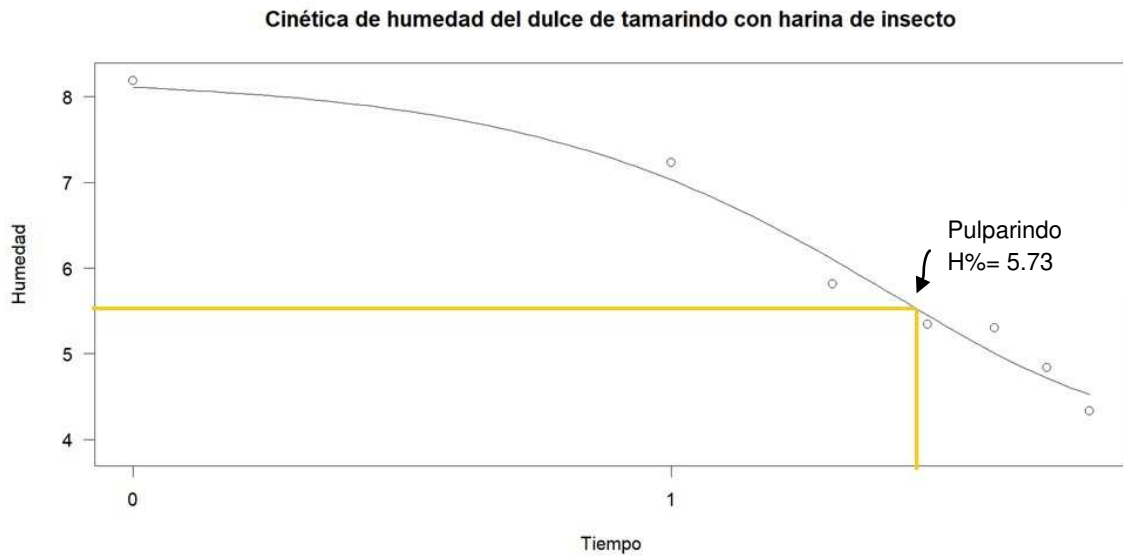


Figura 14 Cinética de humedad del dulce de tamarindo con harina de insecto a lo largo del tiempo.

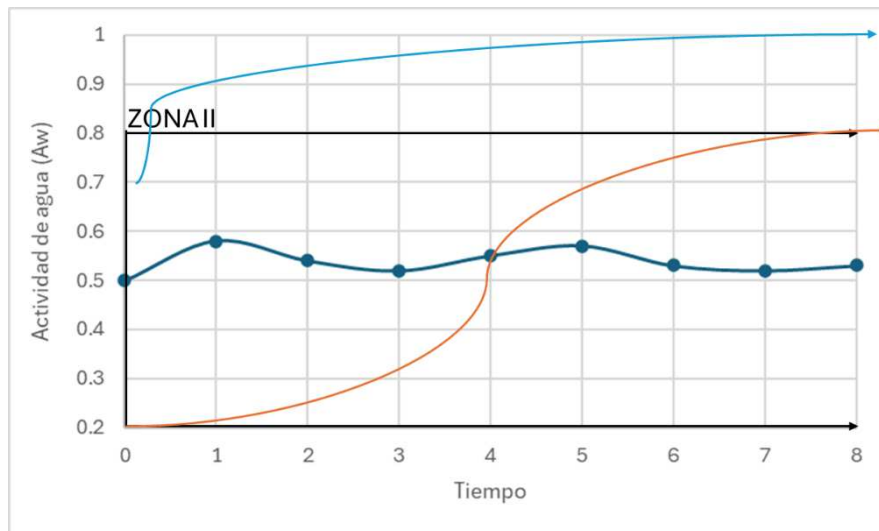


Figura 15 Evolución de la actividad de agua (A_w) en función del tiempo. Relación entre la Oxidación de grasas y Riesgo microbiológico. Línea naranja representa la Oxidación lipídica, línea azul claro representa el riesgo microbiológico a partir de los valores de 0.7 A_w (Salvador Dergal, 2006, Química de los alimentos, 4.^a ed)

7. Conclusiones

1. La harina de chapulín *S. purpurascens* posee un alto contenido de proteína (61.13 %) y se aumenta el contenido de proteína (67.43 %) gracias al proceso de extracción alcalina que purificó y concentró a las proteínas.
2. Los tratamientos del concentrado proteico con Agua Subcrítica mejoran sus propiedades tecnofuncionales, particularmente en la capacidad de formación espumante, emulsificante y en su solubilidad, aunque, tuvieron baja retención de agua y de aceite.
3. Por el contrario, los tratamientos con Ultrasonido no mostraron mejoras en las propiedades tecnofuncionales del concentrado proteico comparados con las muestras control y la harina de chapulín. Sin embargo, se caracterizó por una mejor retención de aceite, el cual se sugiere ser útiles para mejorar texturas en productos alimenticios.
4. Los tratamientos con Agua subcrítica lograron una reducción significativa en la concentración de la tropomiosina (90%) destacando a esta tecnología como efectiva para reducir el contenido de proteínas alergénicas debido a su facilidad para hidrolizar éstas.
5. Los tratamientos de Ultrasonido, a pesar de reducir el contenido de tropomiosina (cerca del 27.5 %), no mostró ser tan efectivo, tanto solo ni en combinación con el tratamiento térmico (ebullición).
6. La integración de la harina de chapulín a la formulación del dulce de tamarindo en general gustó según la evaluación sensorial, sin embargo, el dulce control recibió calificaciones más altas. Siendo las mujeres las que calificaron con mayor rechazo hacia el producto de chapulín.
7. El dulce de chapulín se destacó por su alto contenido proteico y su aporte lipídico, los cuales son beneficiosos para la salud. Sin embargo, muestra un alto contenido calórico por cada 100 g de muestra, y su empaque debe mostrar tres sellos de exceso de calorías, de azúcares añadidos y de sodio.
8. La vida de anaquel del dulce de chapulín mostró un aumento gradual en el índice de acidez (10 %) durante el almacenamiento, aunque este no fue significativo debido a la cantidad mínima de datos. Por otro lado, la humedad del dulce

disminuyó casi un 32 %, con respecto a su valor inicial, siendo significativo durante las primeras semanas,

9. REFERENCIAS

1. Adámková, A., Mlček, J., Kouřimská, L., Borkovcová, M., Bušina, T., Adámek, M., Bednářová, M., & Krajsa, J. (2017). Nutritional potential of selected insect species reared on the island of Sumatra. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(5), 1–10. <https://doi.org/10.3390/ijerph14050521>
2. Abadía-García, L., Cardador, A., del Campo, S. T. M., Arvizu, S. M., Castaño-Tostado, E., Regalado-González, C y Amaya-Llano, S. L (2013). Influence of probiotic strains added to cottage cheese on generation of potentially antioxidant peptides, anti-listerial activity, and survival of probiotic microorganism in simulated gastrointestinal conditions. *International Dairy Journal*, 33(2), 191-197.
3. Ahuja, K., & Bayas, S. (2020, December). North America Insect Protein Market for Athletes Application by Insect Type. *Global Market Insights*: <https://www.gminsights.com/industry-analysis/north-america-insect-protein-market>
4. Ampofo, J., & Ngadi, M. (2022). Ultrasound-assisted processing: Science, technology and challenges for the plant-based protein industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 84, 105955. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.105955>
5. Arp, C. G., Lenz, D., Brusa, V., Oteiza, J., Ambrosi, V., Daniel, C., & Polenta, G. (2021, diciembre). Producción de insectos para consumo humano. http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/139358/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
6. Awuchi, C., Igwe, V., & Echeta, C. (2019). The functional properties of foods and flours. *International Journal of Advanced Academic Research*, 5(11), 139-160.
7. Badui Dergal, Salvador, *Química de los alimentos*. Cuarta edición, Pearson educación, México, 2006.
8. Barre, A., Pichereaux, C., Simplicien, M., Bulet-Sachiltz, O., Benoist, H., & Rougé, P. (2021, Enero 30). A Proteomic- and Bioinformatic-Based Identification of Specific Allergens from Edible Insects: Probes for Future Detection as Food Ingredients. *Foods*, 10(2), 280. <https://doi.org/10.3390/foods10020280>
9. Benitez, R., Ibarz, A., & Pagán, J. (2008). Protein hydrolysates: Processes and applications. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 42(2), 227-236.
10. Biró, B., Sipos, A., Kovács, A., Badak, Huszár, & Gere. (2020). Cricket-Enriched Oat Biscuit: Technological Analysis and Sensory Evaluation. *Foods*, 9(11), 1561. <https://doi.org/10.3390/foods9111561>
11. Boukil, A., Marciniak, A., Mezdour, S., Pouliot, Y., & Doyen, A. (2022, Marzo). Effect of High Hydrostatic Pressure Intensity on Structural Modifications in Mealworm (*Tenebrio molitor*) Proteins. *Foods*, 11(7), 956. <https://doi.org/10.3390/foods11070956>
12. Breiteneder, H. (2018, Agosto). Mapping of conformational IgE epitopes of food allergens. *Allergy*, 73(11), 2107-2109. <https://doi.org/10.1111/all.13592>
13. Broekman, H., Knulst, A., den Hartog Jager, S., Monteleone, F., Gaspari, M., De Jong, G., & Verhoeckx, K. (2015, Junio). Effect of thermal processing on mealworm allergenicity. *Molecular nutrition & food research*, 59(9), 1855-1864. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500138>
14. Brogan, Park, Matak, & Jaczynski. (2021). Characterization of protein in cricket (*Acheta domesticus*), locust (*Locusta migratoria*), and silkworm pupae (*Bombyx mori*) insect powders. *LWT*, 152, 112314. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112314>
15. Bußler, S., Rumpold, B., Jander, E., Rawel, H., & Schlüter, O. (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(12), e00218. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2016.e00218>
16. Castellanos-Vargas, & Cano-Santana. (2009). Historia natural y ecología de *Sphenarium purpurascens* (Orthoptera: Pyrgomorphidae). Lot, A. & Cano-Santana, Z. (Comp.). Biodiversidad del Ecosistema del Pedregal de San Ángel. Universidad Nacional Autónoma de México, 337-346.
 17. Chandra, S., S, C., Samsher Singh, S, S., & Durvesh Kumari. (2015). Evaluation of functional properties of composite flours and sensorial attributes of composite flour biscuits. *Food Sci Technol*, 52, 3681–3688. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1427-2>
 18. Chang, H., Ma, C., & Chen, H.-S. (2019, Mayo). Climate Change and Consumer's Attitude toward Insect Food. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(9), 1606. <https://doi.org/10.3390/ijerph16091606>
 19. Chen, Y., Tian, G., Wang, L., Sang, Y., & Sun, J. (2023). Effects of ultrasound-assisted high temperature-pressure treatment on the structure and allergenicity of tropomyosin from clam (*Macra veneriformis*). *Food Chemistry*, 18, 100740. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100740>
 20. Cheng, Y., Donkor, P., Ren, X., & Wu, J. (2018). Effect of ultrasound pretreatment with mono-frequency and simultaneous dual frequency on the mechanical properties and microstructure of whey protein emulsion gels. *Food Hydrocolloids*, 89, 434-442. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.007>
 21. Chiang, W., Kidon, M., Liew, W., Goh, A., Tang, J., & Chay, O. (2007). The changing face of food hypersensitivity in an Asian community. *Clinical & Experimental Allergy*, 37(7), 1055-1061. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2007.02752.x>
 22. Costa, J., Bavaro, S., Benedé, S., Diaz-Perales, A., Bueno-Diaz, C., Gelencser, E., & Holzhauser, T. (2020, noviembre 9). Are Physicochemical Properties Shaping the Allergenic Potency of Animal Allergens? *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 62(1), 37-63. <https://doi.org/10.1007/s12016-020-08826-1>
 23. Cuj-Laines, Hernández-Santos, Reyes-Jaquez, Delgado-Licon, Juárez-Barrientos, & Rodríguez-Miranda. (2018). Physicochemical properties of ready-to-eat extruded nixtamalized maize-based snacks enriched with grasshopper. *International Journal of Food Science and Technology*, 53(8), 1889-1895. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13774>
 24. Escudero, B., González Sánchez, Amérigo, D., & Rodríguez, M. (2017). Protocolo de manejo terapéutico de las reacciones alérgicas graves en Urgencias. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 12(30), 1804-1808. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*: <https://residenciamflapaz.com>
 25. Esteban, M. M., Navarro, A. A., & Canales, T. E. (2007, febrero 27). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riesgos/informes_comite/ALERGIAS_ALIMENTARIAS.pdf
 26. Estrada, M., & Feregrino, P. (2023). Granjas de insectos comestibles. *Elementos.BUAP*, 129, pp. 89-93. <https://elementos.buap.mx>
 27. Fan, X., Hu, S., Yang, R., Wang, K., & Zhang, X. (2020). Coupling of ultrasound and subcritical water for peptides production from *Spirulina platensis*. *Food and Bioproducts Processing*, 121, 105-112. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.01.012>
 28. FAO, F. a. (2021). Challenges and opportunities for the sector. Looking at Edible Insects from a food safety perspective, pp. 14-108. <https://doi.org/10.4060/cb4094en>

29. Feed, I. I. (2021, July). The European insect sector's response to the growing demand for EU organic products. IPIFF: https://ipiff.org/wp-content/uploads/2019/03/IPIFF_Contribution_Paper_on_EU_organic_certification_of_insect_production_activities_29-03-2019.pdf
30. Fernandez-Cassi, Supeanu, Jansson, & Bogvist. (2018). Novel foods: a risk profile for the house cricket (*Acheta domestica*). *EFSA JOURNAL*, 16. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.e16082>.
31. Gahukar, R. (2016). Edible Insects Farming: Efficiency and Impact on Family Livelihood, Food Security, and Environment Compared with Livestock and Crops. *Processing and Food Applications*, 85-115. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802856-8.00004-1>
32. Gravel, A., & Doyen, A. (2020). The use of edible insect proteins in food: Challenges and issues related to their functional properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 59, 102272. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102272>
33. Hall, F., Johnson, P., & Liceaga, A. (2018). Effect of enzymatic hydrolysis on bioactive properties and allergenicity of cricket (*Gryllobates sigillatus*) protein. *Food Chemistry*, 262, 39-47. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.058>
34. Halloran, A., & Vantomme, P. (2014). La contribución de los insectos a la seguridad alimentaria, los medios de vida y el medio ambiente. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: <https://www.fao.org/edible-insects/en/>
35. Hirsch, Cho, Kim, & Jones. (2019). Contributions of protein and milled chitin extracted from domestic cricket powder to emulsion stabilization. *Current research in food science*, 1, 17-23. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2019.09.002>
36. Hough, G., & Garitta, L. (2012). Methodology for sensory shelf-life estimation: A review. *Sensory Studies*, 27(3), 137-147. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2012.00383.x>
37. Ibarra-Herrera, Acosta-Estrada, Chuck-Hernández, Serrano-Sandoval, Guardado-Félix, & Pérez-Carrillo. (2020). Nutritional content of edible grasshopper (*Sphenarium purpurascens*) fed on alfalfa (*Medicago sativa*) and maize (*Zea mays*). *CyTA-Journal of Food*, 18(1), 257-263. <https://doi.org/10.1080/19476337.2020.1746833>
38. Janssen, Vincken, P, van den Broek, Fogliano, & Lakemond. (2017). Nitrogen-to-protein conversion factors for three edible insects: *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, and *Hermetia illucens*. *Nitrogen-to-protein conversion factors for three edible insects: Tenebrio molitor, Alphitobius diaperinus, and Hermetia illucens.*, 65(11), 2275-2278. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00471>
39. Kemsawasd, V., Inthachat, W., Suttisansanee, U., & Temviriyankul, P. (2022). Road to The Red Carpet of Edible Crickets through Integration into the Human Food Chain with Biofunctions and Sustainability: A Review. *International journal of molecular sciences*, 23(3), 1801. <https://doi.org/10.3390/ijms23031801>
40. Kim, Young, Chun, Lee, Kim, & Choi. (2020). Changes of amino acid composition and protein technical functionality of edible insects by extracting steps. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 23(2), 298-305. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2019.12.017>
41. Kouřimská, L., & Adámková, A. (2016). Nutritional and sensory quality of edible insects. *NFS Journal*, 4, 22-26. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2016.07.001>
42. Kramer, R., Shende, V., Motl, N., Pace, C., & Scholtz, J. (2012). Toward a Molecular Understanding of Protein Solubility: Increased Negative Surface Charge Correlates with Increased Solubility. *Biophysical journal*, 102(8), 1907-1915. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2012.01.060>

43. Li, H., Yu, J., Ahmedna, M., & Goktepe, I. (2013). Reduction of major peanut allergens Ara h 1 and Ara h 2, in roasted peanuts by ultrasound assisted enzymatic treatment, *Food Chemistry*, 141(2), 762-768. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.049>
44. Liceaga M, A. (2021). Processing insects for use in the food and feed industry. *Current opinion in insect science*, 48, 32-36. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2021.08.002>
45. Liceaga M, Andrea. (2019). Approaches for Utilizing Insect Protein for Human Consumption: Effect of Enzymatic Hydrolysis on Protein. *Annals of the Entomological Society of America*, 112(6), 529-532. <https://doi.org/10.1093/aesa/saz010>
46. Lin, D., Zhang, Q., Xiao, L., Huang, Y., Yang, Z., Wu, Z., & Li, s. (2021). Effects of ultrasound on functional properties, structure and glycation properties of proteins: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 61(15), 2471-2481. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1778632>
47. Liu, M, Han, T, Huan, F, Li, M. S, & Xia, F., (2021). Effects of thermal processing on the allergenicity, structure, and critical epitope amino acids of crab tropomyosin. *Food & Function*, 12(5), 2032-2043.
48. Makino, K., Mossoba, M., & Rlesz, P. (1983). Chemical Effects of Ultrasound on Aqueous Solutions. Formation of Hydroxyl Radicals and Hydrogen Atoms. *The Journal of physical chemistry*, 87(8), 1369-1377.
49. Marchi, L., Zoccatelli, G., & Wangorsch, A. (2021). Allergens from Edible Insects: Cross-reactivity and Effects of Processing. *Current Allergy and Asthma Reports*, 21, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s11882-021-01012-z>
50. Marcet, I., Álvarez, C., Paredes, B., & Díaz, M. (2016). The use of sub-critical water hydrolysis for the recovery of peptides and free amino acids from food processing wastes. Review of sources and main parameters. *Waste Management*, 49, 364–371. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.01.009>
51. Marono, S, Piccolo, G, Loponte, R, & Di Meo, C. (2015). In vitro crude protein digestibility of *Tenebrio molitor* and *Hermetia illucens* insect meals and its correlation with chemical composition traits. *Italian journal of animal science*, 14(3), 3889. <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.3889>
52. Mazloomi-Kiyapey, S., Sadeghi-Mahoonak, A., Ranjbar-Nedamani, E., & Nourmohammad, E. (2019). Production of antioxidant peptides through hydrolysis of medicinal pumpkin seed protein using pepsin enzyme and the evaluation of their functional and nutritional properties. *Arya Atherosclerosis*, 15(5), 218. <https://doi.org/10.22122/arya.v15i5.1755>
53. Mejrhit, Azdad, Chda, A, El Kabbaoui, M., Bousfiha, & A., Bencheikh. (2017). Evaluation of the sensitivity of Moroccans to shrimp tropomyosin and effect of heating and enzymatic treatments. *Food and agricultural immunology*, 28(6), 969-980. <https://doi.org/10.1080/09540105.2017.1323187>
54. Melo-Ruiz, V., Sandoval-Trujillo, H., Quirino-Barreda, T., Sánchez-Herrera, K., Díaz-García, R., & Calvo-Carrillo, C. (2015). Chemical composition and amino acids content of five species of edible Grasshoppers from Mexico. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 27(8), 654–658. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2015.04.093>
55. Mishyna, M., Martinez, J. J. I., Chen, J., & Benjamin, O. (2019). Extraction, characterization and functional properties of soluble proteins from edible grasshopper (*Schistocerca gregaria*) and honeybee (*Apis mellifera*). *Food Research International*, 116, 697–706. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.098>

56. Mishyna, M., Martinez, J. J. I., Chen, J., Davidovich-Pinhas, M., & Benjamin, O. (2019). Heat-induced aggregation and gelation of proteins from edible honeybee brood (*Apis mellifera*) as a function of temperature and pH. *Food Hydrocolloids*, 91(September 2018), 117–126. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.017>
57. Morales, L. M., García, P. X., Salazar, R., & Maldonado-Astudillo, Y. (2022). Análisis físico y químico proximal, de tres especies de insectos comestibles en Guerrero, México. *Acta Agrícola y Pecuaria*, 8(1). <https://doi.org/10.30973/aap/2022.8.0081019>
58. Ozawa, H., Watabe, & Ochiai. (2011). Thermodynamic characterization of muscle tropomyosin from marine invertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B. Biochemistry and Molecular Biology*, 160(2-3), 64-71. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2011.06.001>
59. Prósper Ortega, L. (2020, junio). Seguridad alimentaria y Calidad nutricional del uso de insectos en la dieta. Universitat Politècnica de València: <https://riUNET.upv.es/bitstream/handle/10251/147898/Pr%c3%b3sper%20-%20Seguridad%20alimentaria%20y%20calidad%20nutricional%20del%20uso%20de%20insectos%20en%20la%20dieta.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
60. Purschke, Meinschmidt, Horn, Rieder, & Jäger. (2018). Improvement of techno-functional properties of edible insect protein from migratory locust by enzymatic hydrolysis. *European Food Research and Technology*, 244, 999–1013. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-3017-9>
61. Ramos-Elorduy, J. (1997). Insects: a sustainable source of food? *Ecology of food and nutrition*, 36(2-4), 247-276. <https://doi.org/10.1080/03670244.1997.9991519>
62. Ramos-Elorduy, J., Pino Moreno, J., & Martínez, V. (2012, febrero). Could Grasshoppers Be a Nutritive Meal? *Food and Nutrition Sciences*, 3(2), 154-175. <https://doi.org/10.4236/fns.2012.32025>
63. Rivas-Vela, C., Amaya-Llano, S., Castaño-Tostado, E., & Castillo-Herrera, G. (2021). Protein Hydrolysis by Subcritical Water: A New Perspective on Obtaining Bioactive Peptides. *Molecules*, 26(21), 6655. <https://doi.org/10.3390/molecules26216655>
64. Rodríguez-Miranda, J., Alcántar-Vázquez, Zúñiga-Marroquín, Juárez-Barrientos, & M, J. (2019). Insects as an alternative source of protein: A review of the potential use of grasshopper (*Sphenarium purpurascens* Ch.) as a food ingredient. *European Food Research and Technology*, 245(12), 2613-2620. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03383-0>
65. Rodríguez-Rodríguez, M., Barroso, F. G., & Fabrikov. (2022). In vitro crude protein digestibility of insects: A review. *Insects*, 13(8), 682. <https://doi.org/10.3390/insects13080682>
66. Rogalinski, T., Herrmann, S., & Brunner, G. (2005). Production of amino acids from bovine serum albumin by continuous sub-critical water hydrolysis. *Supercritical fluids*, 36(1), 49-58. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2005.03.001>
67. Saetang, J., Tipmanee, V., & Benjakul, S. (2022). In Silico Prediction of Cross-Reactive Epitopes of Tropomyosin from Shrimp and Other Arthropods Involved in Allergy. (R. J. Richardson, Ed.) *Molecules*, 27(9), 2667.
68. Shriver, S., & Yang, W. (2011, January). Thermal and Nonthermal Methods for Food Allergen Control. *Food Engineering Reviews*, 3, 26-43. <https://doi.org/10.1007/s12393-011-9033-9>

69. Soria Calderón, N. A. (2021). Obtención de un extracto proteico a partir del chapulín de la milpa (*Sphenarium purpurascens*), con la aplicación de ultrasonido de baja frecuencia para la inhibición de tropomiosina. Querétaro.
70. Stull, V., Finer, E., Fabvre, H., Bergmans, R., Longhurst, C., Manter, D., & Weir, T. (2018). Impact of Edible Cricket Consumption on Gut Microbiota in Healthy Adults, a Double-blind, Randomized Crossover Trial. *Scientific Reports*, 8(1), 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29032-2>
71. Tao, J., & Li, O. Y. (2018). Edible insects as a means to address global malnutrition and food insecurity issues. *Food Quality and Safety*, 17-26. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyy001>
72. Téllez-Morales, J.A, Hernández-Sandro, & Rodríguez-Miranda. (2020). Effect of ultrasound on the techno-functional properties of food components/ingredients: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 61, 104787. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104787>
73. Torruco-Uco, Hernández-Santos, Herman-Lara, Martínez.Sánchez, Juárez-Barrientos, & Rodríguez-Miranda. (2019). Chemical, functional and thermal characterization, and fatty acid profile of the edible grasshopper (*Sphenarium purpurascens* Gh.). *European Food Research and Technology*, 245(2), 285-292. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3160-y>
74. Turck, D., Bohn, T., Castenmiller, J., De Henauw, S., Hirsch-Ernst, K., Knutsen, H., . . . Novel Foods and Food Allergens (NDA). (2021, Agosto). Safety of frozen and dried formulations from whole house crickets (*Acheta domesticus*) as a Novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. *EFSA journal*, 19(8), e06779. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6779>
75. Urquía-Fernández, N. (2014). La seguridad alimentaria en México. *Salud Publica Mex*, 56, 592-598. *salud Pública de México*.
76. Van Huis, J., Itterbeeck, V., Klunder, Mertens, Halloran, Muir, & Vantomme. (2013). Edible insects: prospects for food and feed security. (Wageningen UR, Ed.) food and agriculture organization of the United Nations: <https://edepot.wur.nl/258042>
77. Wong, L., Huang, H., & Lee, W. (2016, Marzo). Selfish and House Dust Mite Allergies: Is the link Tropomyosin? *Allergy, asthma & immunology research*, 8(2), 101-106. <https://doi.org/10.4168/air.2016.8.2.101>
78. Yi, L., Lakemond, C. M. M., Sagis, L. M. C., Eisner-Schadler, V., Huis, A. Van, & Boekel, M. A. J. S. V. (2013). Extraction and characterisation of protein fractions from five insect species. *Food Chemistry*, 141(4), 3341–3348. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.115>
79. Yuan, S., Li, C., & Zhang, Y. (2021). Ultrasound as an emerging technology for the elimination of chemical contaminants in food: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 374-385. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.048>
80. Zhang, N., Tu, Z., Wang, H., & Liu, G. (2018). Liquid chromatography high-resolution mass spectrometry identifies the glycation sites of bovine serum albumin induced by D-ribose with ultrasonic treatment. *Agricultural and food chemistry*, 66(3), 563-570. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04578>
81. Zhang, Z., Zhang, X., Chen, W., & Zhou, P. (2018, January). Conformation stability, in vitro digestibility and allergenicity of tropomyosin from shrimp (*Exopalaemon modestus*) as affected by high intensity ultrasound. *Food chemistry*, 245, 997-1009. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.072>

82. Zielińska, E., Karaś, M., & Baraniak, b. (2018). Comparison of functional properties of edible insects and protein preparations thereof. *Lwt*, 91, 168-174.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.058>

ANEXOS

Anexo 1

Documento de consentimiento informado para el análisis sensorial de dulce a base de pulpa de tamarindo adicionado con proteína de Chapulín de milpa.

Título del proyecto: “Efecto del tratamiento de ultrasonido de alta intensidad, sobre un concentrado proteico del chapulín de milpa (*Sphenarium purpurascens*), en la fragmentación de la tropomiosina y en sus características tecnofuncionales”

Investigador responsable: Dr. Eduardo Castaño Tostado

Nombre del evaluador: IBP. Nayeli del Carmen Mendoza Medina

Se les hace la invitación formal de formar parte de esta investigación actuando como panelista en el análisis sensorial de un producto de confitería a base de pulpa de tamarindo adicionado con proteína de chapulín de milpa (*Sphenarium purpurascens*).

Este consentimiento informado se dirige a hombres y mujeres invitados a participar en la investigación de la evaluación de la aceptabilidad de una golosina a base de pulpa de tamarindo adicionada con proteína de chapulín. El chapulín de milpa *Sphenarium purpurascens* se secó y molido para obtener un polvo que se sometió a ultrasonido con la finalidad de disminuir el contenido de tropomiosina que es una proteína que puede causar alergia a personas con sensibilidad a crustáceos, si es su caso le pedimos no participar. Es importante recalcar que la golosina a evaluar no representa riesgo microbiológico. En cuanto al producto elaborado, se trata de un dulce de tamarindo, con chile en polvo y adicionado con polvo de *S. purpurascens*. La actividad es solamente de tipo experimental, confidencial y de carácter voluntario, por lo que, si desea retirarse de esta actividad, puede hacerlo en cualquier momento, aún durante la evaluación.

Se le invita a leer todo el documento, en dado caso de que usted no comprenda algún concepto, siéntase libre de hacer cualquier tipo de pregunta a algún miembro del equipo de investigación.

Justificación del estudio:

La inclusión de insectos en la dieta puede tener un impacto positivo en la nutrición y la seguridad alimentaria, en especial en las zonas de acceso limitado a alimentos. Es por ello, que la cría y domesticación de insectos como fuente de alimento (animal y humano) puede ser una estrategia prometedora para mejorar la seguridad alimentaria.

Se desea obtener un ingrediente alimentario seguro y de mayor aceptabilidad; a partir de un polvo a partir de *S. purpurascens* para su integración en una formulación de dulce

típico a base de pulpa de tamarindo, evaluando así, su aceptabilidad sensorial y la vida anaquel del producto final.

Objetivo de la investigación: Obtener un polvo de *S. purpurascens* que conserve sus propiedades fisicoquímicas y calidad nutrimental para su inclusión en un producto de confitería.

Objetivo del estudio: Determinar la aceptabilidad de un dulce de tamarindo con diferentes porcentajes de adición de polvo (proteína) de chapulín.

Procedimiento del estudio:

Los criterios de selección para los panelistas de este estudio engloban personas con edades de entre 18 a 80 años, que sean consumidores habituales de dulces de tamarindo y que no presenten alergias a crustáceos u otros ingredientes derivados a la formulación de la golosina con los siguientes ingredientes utilizados durante la elaboración del producto: Pulpa de tamarindo, Proteína de chapulín, Azúcar glas, Mezcla de chiles (guajillo y árbol), Grenetina, Ácido cítrico y Sal.

Si usted cumple con los requisitos para participar en este estudio y acepta participar voluntariamente se aplicará la siguiente evaluación sensorial.

Evaluación organoléptica.

Se le proporcionarán 4 muestras de golosinas de tamarindo, las cuales usted calificará de acuerdo con los atributos mencionados.

- 1) Se presentará las muestras codificadas con números aleatorios junto con una hoja de evaluación.
- 2) Se le pide que pruebe cada una de las muestras en el orden que se le presentan, enjuagando con agua potable entre cada muestra, con el fin de limpiar su paladar.
- 3) Una vez realizada su evaluación se le pedirá llenar la hoja de evaluación otorgando una calificación a las características de color, sabor, textura y aceptabilidad general. Se utilizará una escala hedónica de nueve puntos, donde 1 se considera “Me disgusta extremadamente” y 9 “Me gusta extremadamente”.

Duración del estudio: El estudio tendrá una duración de 30 minutos como máximo.

Riesgos asociados con el estudio:

Se le garantiza que los alimentos que usted va a ingerir son inocuos microbiológicamente; asegurando su calidad microbiológica mediante los análisis que marca las Normas Oficiales Mexicanas. Sin embargo, el riesgo de alergia por algunos de sus componentes del insecto puede existir, en dado caso que usted presente alergia o

sensibilidad a los mariscos o sospecha de algún efecto adverso, le recomendamos desista de participar en este estudio.

Aclaraciones:

- I. La decisión de participar en este estudio es completamente voluntaria.
- II. No recibirá ningún apoyo económico por su participación.
- III. Puede solicitar la información que desee antes, durante y al finalizar el estudio.
- IV. Puede tomar la decisión de retirarse del estudio en el momento que lo desee, está será respetada.
- V. No habrá ninguna consecuencia para usted si decide no participar en el estudio.
- VI. La información recabada en este estudio será utilizada para realizar análisis estadísticos. Y los datos de carácter personal que se lleguen a recolectar se mantendrá en estricta confidencialidad por el grupo a cargo de la investigación.
- VII. La información proporcionada en este consentimiento informado ha sido revisada y aprobada por el comité de bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.
- VIII. Se hace de su consentimiento que existe disponibilidad de tratamiento médico en la clínica de atención médica FarmaUAQ, solamente en caso de sufrir daños directamente causados por la investigación.
- IX. Se le garantiza que usted recibirá respuesta a cualquier pregunta, duda o aclaración de los procedimientos, riesgos, beneficios u otros asuntos relacionados con el presente estudio. Incluyendo la evidencia de la inocuidad del producto evaluado.

Cualquier duda o aclaración sobre sus derechos como participante o reporte de alguna irregularidad durante el estudio, contactarse favor a través de:

- IBP. Nayeli del Carmen Mendoza Medina

Investigador evaluador

Correo electrónico: nayelicmm@gmail.com

Celular: 444 20 49 805

- Dr. Eduardo Castaño Tostado

Investigador responsable

Correo electrónico: ecastano@uaq.mx

Teléfono: 442 1921200 Ext 5578

- Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez

Presidenta de la Comisión de Bioética

Facultad de Química de la UAQ.

Correo electrónico: iza.perez@uaq.mx

Anexo 2

Consentimiento informado

Yo _____ declaro que he sido invitado y deseo participar en el presente estudio sensorial de productos de confitería adicionados con proteína de chapulín como parte de la investigación titulada **“Efecto del tratamiento de ultrasonido de alta intensidad, sobre un concentrado proteico del chapulín de milpa (*Sphenarium purpurascens*), en la fragmentación de la tropomiosina y en sus características tecnofuncionales”**

He sido informado de los posibles riesgos asociados y me ha sido prevenido, así como he sido informado de la no remuneración por mi participación.

Al mismo tiempo, se me ha informado y proporcionado información de la investigación, además de contacto de los investigadores responsables.

Por lo cual, considero voluntariamente a participar en la investigación como panelista y entiendo que tengo derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento.

Nombre y Firma del participante

Nombre y Firma del Investigador

Nombre y Firma del Testigo 1

Nombre y Firma del Testigo 2

Fecha de participación: _____

Anexo 3

Carta revocación del consentimiento informado

Por este conducto, yo _____ deseo informar mi decisión de retirarme de participar en el proyecto de investigación titulado:

“Efecto del tratamiento de ultrasonido de alta intensidad, sobre un concentrado proteico del chapulín de milpa (*Sphenarium purpurascens*), en la fragmentación de la tropomiosina y en sus características tecnofuncionales”

Por las siguientes razones (Puede dejarlo en blanco si no es de su interés mencionar las razones):

Si el paciente lo desea, podrá solicitar que le sea entregada toda la información que se le haya recabado sobre el / ella con motivo de su participación en el proyecto de investigación.

Nombre y Firma del participante

Nombre y Firma del Investigador

Nombre y Firma del Testigo 1

Nombre y Firma del Testigo 2

Fecha de participación: _____

Anexo 4

EVALUACIÓN SENSORIAL DE DULCE DE TAMARINDO INCORPORADO CON PROTEÍNA DE CHAPULÍN

EDAD _____
SEXO _____

FECHA _____

POR FAVOR MARQUE CON UNA X LA RESPUESTA A LAS SIGUIENTES PREGUNTAS

¿ES CONSUMIDOR HABITUAL DE DULCES DE TAMARINDO? SI _____

NO _____

¿HA CONSUMIDO INSECTOS CON ANTERIORIDAD? SI _____

NO _____

INTRODUCCIÓN

- 1) Se presenta ante usted 2 muestras de dulces de tamarindo, cada una codificada
- 2) probar cada una de las muestras, posteriormente dando un enjuague con agua y galletas entre cada muestra diferente.
- 3) Llenar la selección de evaluación, considerando los atributos mencionados.
- 4) SABOR, OLOR, COLOR, TEXTURA Y ACEPTABILIDAD EN GENERAL.
- 5) Calificar, del 1 al 9 para cada uno de los atributos

1	No me gusta extremadamente
2	No me gusta mucho
3	No me gusta moderadamente
4	No me gusta levemente
5	Ni me gusta Ni me disgusta
6	Me gusta levemente
7	Me gusta moderadamente
8	Me gusta mucho
9	Me gusta extremadamente

Código muestra _____

Código muestra _____

Atributo	Calificación (1-9)
Sabor	
Color	
Olor	
Textura	
Aceptabilidad en general	

Atributo	Calificación (1-9)
Sabor	
Color	
Olor	
Textura	
Aceptabilidad en general	

Comentarios: _____

Anexo 5



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO FACULTAD DE QUÍMICA MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

El Posgrado de la Facultad de Química te invita a participar en el análisis sensorial de :



Evaluación sensorial de un producto de confitería adicionado con proteína de chapulín

Requisitos:

Edad de 18 a 80 años, ser consumidor habitual de dulces de tamarindo (picoso) y no presentar alergia a crustáceos u otro ingrediente de la formulación.



14 de Mayo 2024. 10:00 am a 14:00 pm
Laboratorio de análisis sensorial (piso 2),
Edificio Biotecnológico
Universidad Autónoma de Querétaro

¡Participa como panelista!

Información de contacto:
IBP. Nayeli Mendoza Medina
Cel: 444 20 49 805

Estudio aprobado por el Comité de Bioética y el Consejo de Investigación y Posgrado de la Facultad de Química