

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

“Estabilidad de harina de grillo (*Acheta domesticus*) y su incorporación en galletas libres de gluten”

**TESIS**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Maestro en  
Ciencia y Tecnología de alimentos

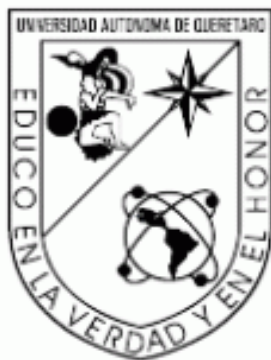
PRESENTA

**I.B.T. Yazmin Lizeth Mendoza Jimenez**

DIRIGIDO POR:

**Dra. Rosalía Reynoso Camacho**

Centro Universitario, Querétaro, Qro.  
Diciembre, 2021  
México



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

“Estabilidad de harina de grillo (*Acheta domesticus*) y su  
incorporación en galletas libres de gluten”

**TESIS**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Maestro en Ciencia y  
Tecnología de alimentos

PRESENTA

**I.B.T. Yazmin Lizeth Mendoza Jimenez**

DIRIGIDO POR:

**Dra. Rosalía Reynoso Camacho**

Dra. Rosalía Reynoso Camacho  
Presidente

Dra. Minerva Ramos Gómez  
Secretario

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano  
Vocal

Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez  
Suplente

Dra. Sofía María Arvizu Medrano  
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.  
Diciembre, 2021  
México

## **DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DEL 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 presentadas en el documento.



I.B.T. Yazmin Lizeth Mendoza Jimenez

## **DEDICATORIA**

A mi mamá Evangelina Jiménez y hermano Natanael Mendoza por siempre apoyarme incondicionalmente, por su amor y por ser pilar fundamental en mi formación personal y profesional. Por su confianza en mí, para todos mis proyectos.

Con todo mi corazón, los amo.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por brindarme una beca durante mi estancia en la realización de este proyecto.

A la Universidad Autónoma de Querétaro y al programa de Posgrado en Alimentos por la oportunidad de continuar mis estudios en esta institución, así como todos los aprendizajes adquiridos.

A la empresa Agroinsect S. A. de C. V. por financiar y apoyar esta investigación.

A la Dra. Rosalía Reynoso Camacho por su dirección y recomendaciones durante la realización de este proyecto.

A los miembros de mi comité evaluador: Dra. Minerva Ramos Gómez, Dra. Silvia Lorena Amaya Llano, Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez y Dra. Sofía María Arvizú Medrano, por su orientación, comentarios y apoyo para la realización de esta investigación.

A la Dra. Teresita Arredondo Ochoa, Dra. Dalia Elizabeth Miranda Castilleja, Dra. Estela Vázquez Barrios y Dra. Dulce María Rivera Pastrana, por sus consejos y apoyo en el uso de espacios y equipos para la realización de este proyecto.

A mis compañeros y amigos de laboratorio y maestría: Alexandro, Samantha, Eréndira, Mariana, Lucia, Ana María, Karen, Alejandra, Nayeli, Yuridia, Haiku, Dulce, Joel, Hugo y Fernando, por todo su apoyo y el tiempo compartido durante este proceso, gracias.

## Índice general

<b>1. Introducción .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Antecedentes. ....</b>	<b>3</b>
2.1 El papel de los insectos en el ecosistema .....	3
2.2 Seguridad alimentaria .....	3
2.3 Consumo de insectos .....	4
2.4 Grillo ( <i>Acheta domestica</i> ).....	4
2.4.1 Características generales.....	4
2.4.2 Características nutrimentales .....	5
2.4.3 Digestibilidad de la proteína de grillo.....	8
2.4.4 Calidad microbiológica del grillo .....	9
2.5 Estabilidad en los índices de deterioro en harina de grillo .....	11
2.6 Productos elaborados con harina de grillo.....	12
2.7 Productos elaborados con gluten y la tendencia de productos libres de gluten .....	13
<b>3. Justificación del proyecto.....</b>	<b>14</b>
<b>4. Objetivos 15</b>	
4.1 Objetivo general.....	15
4.2 Objetivos específicos.....	15
<b>5. Materiales y métodos. ....</b>	<b>16</b>
5.1 Material biológico.....	16
5.2 Análisis proximal de la harina de grillo.....	16
5.3 Determinación de la digestibilidad <i>in vitro</i> de las proteínas de harina de grillo .....	16
5.4 Estabilidad de la harina de grillo .....	17
5.4.1 Determinación microbiológica de la harina durante almacenamiento ....	17
5.4.2 Determinación de bacterias mesófilas aerobias .....	18
5.4.3 Determinación de coliformes totales.....	18
5.4.4 Determinación de color.....	18
5.4.5 Determinación de pH.....	19

5.4.6 Determinación de actividad de agua .....	19
5.4.7 Determinación de índice de oxidación de proteínas .....	19
5.4.8 Determinación de solubilidad y absorción de agua .....	20
5.4.9 Determinación del índice de oxidación de peróxidos .....	20
5.4.10 Aplicación del modelo de Arrhenius para la estimación de vida útil .....	21
5.5 Cuantificación de ácidos grasos durante almacenamiento por cromatografía de gases acoplado a masas. ....	22
5.6 Desarrollo de una galleta fortificada con harina de grillo .....	22
5.7 Adición de edulcorantes en la galleta .....	24
5.8 Adición de nuevos sabores e ingredientes a las galletas .....	24
5.9 Medición de dureza de las galletas.....	25
5.10 Evaluación sensorial de las galletas .....	25
5.11 Determinación de la capacidad antioxidante de las galletas .....	27
5.11.1 Ensayo DPPH.....	27
5.11.2 Ensayo ABTS .....	27
5.11.3 Análisis estadístico .....	28
<b>6. Resultados y discusión .....</b>	<b>29</b>
6.1 Determinación proximal de harina de grillo y evaluación de su digestibilidad proteica.....	29
6.2 Estabilidad de la harina de grillo a temperaturas críticas y humedad constante durante almacenamiento.....	31
6.3 Actividad de agua en harina de grillo durante almacenamiento .....	32
6.3 Oxidación de proteínas en harina de grillo durante almacenamiento .....	35
6.4 Solubilidad, absorción de agua y digestibilidad <i>in vitro</i> de harina de grillo durante almacenamiento .....	36
6.5 Oxidación de lípidos de harina de grillo durante almacenamiento.....	37
6.6 Peroxidación de lípidos como indicador de degradación para una estimación de vida útil en harina de grillo .....	38
6.7 Análisis de ácidos grasos durante almacenamiento .....	40
6.8 Determinación de la capacidad antioxidante de harina de grillo durante almacenamiento. ....	42
6.9 Desarrollo de una galleta fortificada con harina de grillo .....	43
6.10 Incorporación de edulcorante no calórico en la formulación de la galleta...	45

6.12 Adición de harina de grillo en las formulaciones de galleta .....	47
6.13 Evaluación sensorial de la formulación de galletas con harina de grillo .....	49
6.14 Evaluación sensorial para mejorar la formulación inicial incluyendo más ingredientes .....	51
6.15 Evaluación sensorial de la formulación final de galleta adicionada con harina de grillo .....	52
6.16 Evaluación proximal de la formulación final de galletas adicionadas con harina de grillo .....	53
6.17 Determinación de dureza en galletas elaboradas con harina de grillo de la formulación final .....	55
6.18 Determinación de la capacidad antioxidante de la formulación final en galletas elaboradas con harina de grillo .....	56
<b>7. Conclusiones.</b> .....	<b>58</b>
<b>7. Referencias.</b> .....	<b>59</b>
<b>9. Anexos.</b> .....	<b>72</b>



## Índice de figuras

Figura 1.	<i>Acheta domesticus</i> (izquierda) y <i>Grillus</i> sp. (derecha), dos de las especies más utilizadas entre los ortópteros (Adaptada de Pérez-Horcajo, 2019).	5
Figura 2.	Comparación entre la producción de 1 kg de insecto y 1 kg de bovino (Adaptado de Rumpold y Schluter, 2015).	6
Figura 3.	Boleta de evaluación sensorial para cada muestra.	26
Figura 4.	Contenido de mesófilos aerobios de la harina de grillo durante su almacenamiento.	34
Figura 5.	Contenido de coliformes totales de la harina de grillo durante su almacenamiento.	34
Figura 6.	Preferencia por los panelistas de galletas elaboradas con diferentes concentraciones de stevia y 14.7 g de alulosa. La galleta contenía harina libre de gluten y el sustituto de grasa al 10 %.	46
Figura 7.	Fotografías de las galletas elaboradas con y sin gluten en tres proporciones diferentes de mantequilla y sustituto de grasa.	49

## Índice de cuadros

Cuadro 1.	Especies y porcentajes de insectos más consumidos en el mundo..	4
Cuadro 2.	Contenido de proteína para <i>Acheta domestica</i> .	6
Cuadro 3.	Contenido de aminoácidos presentes en <i>Acheta domestica</i> en edad adulta (mg/g de proteína).	7
Cuadro 4.	Composición e ingredientes del sustituto de grasa	23
Cuadro 5.	Composición nutrimental de la alulosa	24
Cuadro 6.	Curva estandar para trolox.	27
Cuadro 7.	Composición proximal de la harina de grillo y su comparación con otras fuentes de origen vegetal y animal	30
Cuadro 8.	Digestibilidad proteica <i>in vitro</i> de harina de grillo.	30
Cuadro 9.	Nivel de pH de la harina de grillo durante su almacenamiento.	31
Cuadro 10.	Determinación de color en harina de grillo durante almacenamiento.	32
Cuadro 11.	Actividad de agua en harina de grillo durante su almacenamiento.	33
Cuadro 12.	Cuantificación de grupos carbonilo en harina de grillo durante almacenamiento.	36
Cuadro 13.	Parámetros tecnológicos en harina de grillo en tiempo 0 y 120 días durante su almacenamiento.	37
Cuadro 14.	Índice de peroxidación de lípidos de harina de grillo durante su almacenamiento.	38
Cuadro 15.	Cinéticas de degradación del índice de peroxidación de lípidos, energía de activación y ajuste del modelo.	39
Cuadro 16.	Estimación de vida útil para harina de grillo considerando un nivel bajo de peroxidación bajo como índice de deterioro.	40
Cuadro 17.	Concentración de ácidos grasos durante almacenamiento de harina de grillo, en el día 0 y 120.	42
Cuadro 18.	Capacidad antioxidante durante almacenamiento de harina de grillo en 3 temperaturas diferentes.	43
Cuadro 19.	Dureza de las galletas elaboradas con y sin gluten a través del punto de quiebre con mantequilla y sustituto de grasa.	44
Cuadro 20.	Dureza a través del punto de quiebre en galletas comerciales.	45
Cuadro 21.	Dureza a través del punto de quiebre en galletas con gluten en 3 niveles de adición de harina de grillo.	48

Cuadro 22. Dureza a través del punto de quiebre en galletas sin gluten en 3 niveles de adición de harina de grillo. ....	48
Cuadro 23. Evaluación sensorial en 9 puntos de aceptabilidad para la formulación de una galleta elaborada con harina de grillo. ....	51
Cuadro 24. Evaluación sensorial en 9 puntos de aceptabilidad para la formulación de una galleta elaborada con gluten adicionando sabores diferentes. ....	52
Cuadro 25. Evaluación sensorial en 9 puntos de aceptabilidad para la formulación final de una galleta elaborada con harina de grillo.....	53
Cuadro 26. Contenido proximal de las galletas elaboradas con harina de grillo de la formulación final. ....	54
Cuadro 27. Valores de referencia para galletas elaboradas con harina de grillo comerciales nacionales e internacionales.....	55
Cuadro 28. Dureza de las galletas elaboradas con harina de grillo de la formulación final.....	56
Cuadro 29. Capacidad antioxidante de las galletas elaboradas con harina e grillo de la formulación final. ....	57

## Resumen

*Acheta domesticus* resulta ser una importante alternativa nutricional por su composición proteica y perfil lipídico. Sin embargo, se necesitan estudios que garanticen la calidad nutrimental y seguridad para su uso como alimento. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la harina de grillo, estudiar su estabilidad y uso como ingrediente en la elaboración de galletas. Se trabajó con harina comercial de grillo, para el estudio de estabilidad se sometió a (15, 35 y 45 °C) durante 15, 30, 60, 90 y 120 días. Se determinó a lo largo del almacenamiento (pH, color y  $A_w$ ), sus indicadores microbiológicos (bacterias mesófilas y coliformes totales) y sus propiedades tecnológicas (solubilidad, absorción de agua, digestibilidad *in vitro*), funcionales (capacidad antioxidante) y reacciones oxidativas (proteínas y lípidos), en la elaboración de galletas se usaron harinas con y sin gluten, se midió su dureza frente a la sustitución de grasa y azúcar y se eligió la mejor formulación por medio de un análisis sensorial. En el estudio de estabilidad, sus parámetros fisicoquímicos más estables fueron pH, color y sus indicadores microbiológicos. En contraste, la  $A_w$  aumentó 21 % a 25 °C y disminuyó 51 % a 45 °C. La capacidad antioxidante disminuyó por encima del 70 % a temperaturas superiores a 35 °C. Por otra parte, el estudio reflejó que la oxidación de proteínas aumentó en un 50 %; a pesar de ello, dicha oxidación no influyó en sus propiedades funcionales y tecnológicas. El principal cambio ocurrió en la peroxidación lipídica, ya que, a 45 °C incremento 6 veces más su valor inicial, relacionado principalmente a ácidos grasos poliinsaturados; en la formulación de las galletas la adición de un sustituto de grasa afectó la aceptabilidad sensorial, la ausencia o no de gluten no afectó la aceptabilidad general de las galletas y la harina de grillo permitió aumentar el contenido proteico en galletas con y sin gluten. La harina de grillo es un producto estable a temperaturas inferiores a 45 °C y puede ser recomendado como una fuente alternativa de proteínas para la elaboración de otros productos. (**Palabras clave:** *Acheta domesticus*, harina de grillo, valor proteico, estabilidad)

## Abstract

*Acheta domesticus* is an important nutritional alternative due to its protein composition and lipid profile. However, studies are needed to ensure nutritional quality and safety for use as food. The objective of this work was to characterize cricket flour, study its stability and use it as an ingredient in the elaboration of cookies. It was worked with commercial cricket flour, for the stability study was subjected to (15, 35 and 45 °C) for 15, 30, 60, 90, and 120 days. It was determined throughout the storage (pH, color, and Aw), its microbiological indicators (mesophilic bacteria and total coliforms) and its technological properties (solubility, water absorption, digestibility *in vitro*), functional (antioxidant capacity), and oxidative reactions (proteins and lipids), in the preparation of cookies, flour with and without gluten was used, its hardness was measured against the substitution of fat and sugar and the best formulation was chosen to employ a sensory analysis. In the stability study, its most stable physicochemical parameters were pH, color, and microbiological indicators. In contrast, Aw increased 21 % to 25 °C and decreased 51 % to 45 °C. Antioxidant capacity decreased above 70 % at temperatures above 35 °C. On the other hand, the study showed that protein oxidation increased by 50 %; However, this oxidation did not influence its functional and technological properties. The main change occurred in lipid peroxidation, since, 45 °C increased 6 times more than its initial value, related mainly to polyunsaturated fatty acids; in the formulation of cookies the addition of a fat substitute affected sensory acceptability, the use or non-use of gluten did not affect the general acceptability of biscuits and cricket flour allowed to increase the protein content in biscuits with and without gluten. The cricket flour is a stable product at temperatures below 45 °C and can be recommended as an alternative source of protein for the production of other products.

**(Keywords:** *Acheta domesticus*, cricket flour, protein value, stability)

## 1. Introducción

El crecimiento demográfico genera mayor demanda de alimentos y, por lo tanto, la búsqueda de alternativas de fuentes de alimentación. Diversas investigaciones han puesto como manifiesto que también se requiere la reducción del consumo de carne, debido a que, la ganadería genera un gran impacto ambiental, por el uso de agua y daño a distintos hábitats naturales y las generadoras de gases de efecto invernadero y metano (CH<sub>4</sub>) (Van Zanten *et al.*, 2015). Se reconoce una asociación entre la generación de estos gases y el cambio climático, el cual ha generado un impacto negativo en todo el mundo.

Los insectos tienen una contribución importante frente a la satisfacción de la creciente demanda por proteínas para el hombre y la necesidad de reducir la ganadería, por lo cual es importante incluirlos en los programas nacionales de seguridad alimentaria. En el país aún no existen una regulación para los insectos, por lo que la recomendación es consumir aquellos que hayan sido criados bajo condiciones controladas de higiene y manipulación en una granja, asegurando que el insecto no se encuentre en contacto directo o indirecto con agentes patógenos (Eilenberg *et al.*, 2015). Se han evaluado diversos tratamientos de inactivación microbiana, destacando los térmicos por mayores eficiencias (Osimani *et al.*, 2017). Adicionalmente, a través de la disminución controlada de su humedad se puede obtener un producto de buena calidad, con prolongada vida de anaquel (Kulma *et al.*, 2019). Otro factor a considerar son los índices de deterioro durante su almacenamiento, ya que se han encontrado altas cuentas microbianas; sin embargo, se atribuyen a contaminaciones cruzadas durante su embalaje (Vanderweyer *et al.*, 2017).

En la Unión Europea, la cantidad de productos alimenticios elaborados a base de grillos son muy variados; la gran mayoría se han desarrollado a través de la incorporación de harina en otros productos como: barras de proteína, panes, galletas, botanas, pastas, entre otros (Kouřimská *et al.*, 2016; Pino-Cebrián, 2018).

Por otro lado, dentro de los productos mayormente consumidos en México se encuentran las galletas como aquellos productos elaborados a base de harina de trigo, azúcares, grasa y/o aceites vegetales comestibles, agentes leudantes, sal yodada, adicionada o no de otros ingredientes opcionales a los que se someten a un proceso de amasado, moldeado y horneado.

La mayoría de las galletas que se encuentran en el mercado cuenta con un alto contenido de carbohidratos y grasas, además de contar con un 4-7 % de adición de proteína, siendo ésta una alternativa poco saludable para la dieta humana ya que el exceso de azúcares y grasas puede derivar distintos padecimientos desde obesidad, enfermedades cardiovasculares e incluso diabetes de acuerdo a la OMS. La mayoría de las galletas y panificaciones son elaboradas con harinas ricas en gluten, ya que este tipo de proteína favorece la textura y su retención de dióxido de carbono de este tipo de productos (Pasqualone *et al.*, 2017). Sin embargo, una parte de la población padece de una reacción alérgica e incluso complicaciones mayores como trastornos autoinmunes como la enfermedad celiaca, la cual induce una atrofia en el intestino. Hasta el momento no hay un tratamiento médico para dicho padecimiento, más que modificar la dieta; sin embargo, esta suele ser carente de nutrientes (Mancebo *et al.*, 2015; Leonard *et al.*, 2017).

El desarrollo de productos más saludables, de buena calidad y además aceptables para la población, ha sido un gran reto para la comunidad científica. El proporcionar una alternativa con una reformulación más saludable, libre de gluten, reducida en grasa y azúcares en una galleta enriquecida con harina de grillo podría favorecer al consumo de alimentos más nutritivos dentro de la dieta humana.

## **2. Antecedentes.**

### **2.1 El papel de los insectos en el ecosistema**

Se ha considerado que los insectos tienen una gran resistencia al medio ambiente y a su vez favorecen el equilibrio ambiental, debido a su eficiencia en la conversión de alimentos (Jongema, 2017). A lo largo del tiempo, la crianza a nivel industrial ha tenido gran auge generando un especial interés en garantizar una producción de calidad constante e inocua y, sobre todo, de mayor rentabilidad que permita cumplir estándares para el consumo humano; así mismo, la cantidad de agua que se utiliza para la producción en masa de insectos es menor (Barton, 2020).

### **2.2 Seguridad alimentaria**

La seguridad alimentaria se define como derecho de la población para adquirir una alimentación segura, nutritiva y saludable; así como, al acceso físico, económico y social del propio alimento (Hidalgo-Viquez *et al.*, 2020). Bajo este rubro, los alimentos se consideran adecuados cuando su proceso de producción es sostenible a la sociedad y de bajo impacto para el medio ambiente, además se requiere que sean aceptados culturalmente (Santurino *et al.*, 2016).

Los insectos son considerados un coadyuvante en la seguridad alimentaria y como medio primordial dentro de su alimentación en países en desarrollo, mayoritariamente en regiones de África, Asia y América Latina; no obstante, en el continente europeo existe gran demanda del consumo de insectos; importando anualmente alrededor de 3 a 5 toneladas (Vantomme, 2015; Balzan, 2016; Haber *et al.*, 2019).



## 2.3 Consumo de insectos

Se ha estimado que 2,111 especies de insectos son parte de la dieta humana y entre los insectos más consumidos se encuentran los saltamontes, escamoles, gusanos de maguey, larvas de escarabajo, grillos, gusanos de seda, orugas, cigarras, hormigas, langostas, termitas, entre otras. En el Cuadro 1 se muestran las proporciones del consumo de diferentes insectos a nivel mundial (Jongema, 2017).

Cuadro 1. Especies y porcentajes de insectos más consumidos en el mundo.

Especie	%
Coleópteros (escarabajos)	31
Lepidópteros (orugas)	18
Himenópteros (abejas, avispas y hormigas)	14
Ortópteros (saltamontes, langostas y grillo)	13
Hemípteros (Cigarras, fulgoromorfos, cochinillas y chinches)	10
Isópteros (termitas)	3
Dípteros	2
Otros órdenes	5

(Adaptada de Jongema, 2017)

## 2.4 Grillo (*Acheta domesticus*)

### 2.4.1 Características generales

El grillo es un insecto perteneciente al orden orthoptera, de la familia *Gryllidae*, es omnívoro y tiene la capacidad de alimentarse de corrientes secundarias orgánicas, así como de restos de animales (Halloran *et al.*, 2014). Las especies más estudiadas son *Acheta domesticus* y *Gryllu sp.* (Figura 1). *A. domesticus* es conocido como grillo doméstico, procedente del suroeste de Asia. También se ha

encontrado en regiones de Europa, África, India, Canadá, Estados Unidos de América, México y Australia (Raheem *et al.*, 2018).

El ciclo total de vida de esta especie es aproximadamente 40-80 días, durante el día 35 al día 40 se encuentra en etapa subadulto, a partir del día 40 hasta el día 80, este alcanza su etapa adulta. Se desarrolla en un ambiente entre 28-32 °C, con una humedad relativa del 55 % (Blanco-Miranda y Giraldo-Carrillo, 2016; Pérez-Horcajo, 2019).



Figura 1. *Acheta domesticus* (izquierda) y *Grillus* sp. (derecha), dos de las especies más utilizadas entre los ortópteros (Adaptada de Pérez-Horcajo, 2019).

#### 2.4.2 Características nutrimentales

La FAO y la OMS consideran al grillo como una alternativa proteica importante, principalmente atribuido a su eficiente conversión alimenticia, de la cual se ha reportado que se requiere una menor cantidad de alimento para producir 1 kg de grillo, en comparación con otro tipo de fuentes convencionales de proteína como aves de corral, cerdo y ganado vacuno (Lundy y Parella, 2015; Rumpold y Schluter, 2015; Wegier *et al.*, 2018). En la Figura 2 se presenta la comparación de los recursos utilizados y la eficiencia de la producción de grillo y de ganado vacuno.

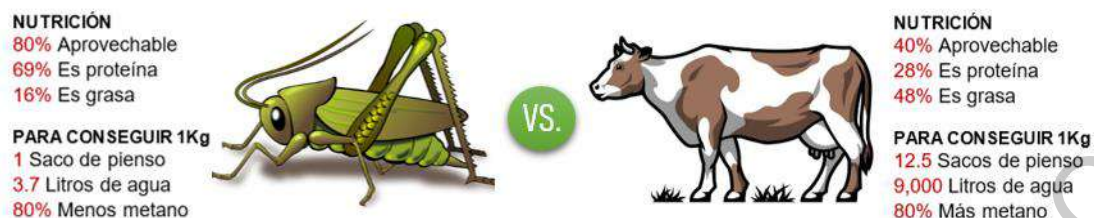


Figura 2. Comparación entre la producción de 1 kg de insecto y 1 kg de bovino (Adaptado de Rumpold y Schluter, 2015).

La especie *A. domesticus* se ha estudiado como una fuente de proteína, en donde diversos autores han reportado valores alrededor de 20-82.4 g/100 g (Cuadro 2). Aunado a lo anterior, Xiaoming *et al.* (2010) comentan que el valor del contenido de proteína generalmente varía de 20-70 %, si éste se expresa en base seca. Por otro lado, factores biológicos e intrínsecos pueden afectar el contenido de proteína, tales como las condiciones de su entorno, la alimentación del grillo, la etapa del ciclo de vida, hasta las condiciones de preparación de la muestra antes de su análisis como congelación, liofilización, aire caliente y ebullición (Nowak *et al.*, 2016; Haber *et al.*, 2019; Kulma *et al.*, 2019; Ibarra-Herrera *et al.*, 2020).

Cuadro 2. Contenido de proteína para *Acheta domesticus*.

Contenido de proteínas (g/100 g)	Referencia
66.6	Sanchez-Muros <i>et al.</i> , 2014
65	Payne <i>et al.</i> , 2016
35-73	Irungu <i>et al.</i> , 2018
20-25	Kulma <i>et al.</i> , 2019
42-45.8	Montowska <i>et al.</i> , 2019
57.9-82.4	Oloo <i>et al.</i> , 2020

Diversos estudios han encontrado que este insecto proporciona niveles satisfactorios de aminoácidos esenciales, de acuerdo a su contenido dependerá la calidad de su proteína; principalmente, destaca lisina, leucina y fenilalanina + tirosina. Mientras que, Nowak *et al.* (2016) señalan al triptófano como un aminoácido limitante. En el Cuadro 3 se muestra el contenido de aminoácidos reportados en esta especie. Así mismo, Montowska *et al.* (2019) realizaron una investigación acerca del tipo de proteína presente en este insecto, donde reportaron proteínas miofibrilares identificadas como cadenas densas de miosina, actina,  $\alpha$ -actina, tropomiosina, tubulina T y paramiosina. Se reportaron cuatro péptidos específicos obtenidos con la digestión de tripsina, por lo que se propusieron como marcadores para identificación de la especie.

Cuadro 3. Contenido de aminoácidos presentes en *Acheta domesticus* en edad adulta (mg/g de proteína).

Aminoácido	OMS/FAO <sup>1</sup>	<i>Acheta domesticus</i>
Isoleucina	30	36.4-45.9
Leucina	59	66.7-100
Lysina	45	51.1-53.7
Metionina + cisteína	6-16	22.9-29.3
Valina	39	48.4-52.2
Fenilalanina + tirosina	30	74.2-80.5
Histidina	15	22.7-23.4
Triptófano	-	6.3-7.6

<sup>1</sup>Referencia reportada por la organización mundial de la salud (OMS) y la organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO) (Adaptada de Rumpold, 2013; Zielinska *et al.*, 2015).

Otro componente importante, pero minoritario, son los carbohidratos con valores de 4.6-13 % (Finke, 2002; Barrios, 2017), de los cuales cerca de 2.9 hasta 7 g/100 g son fibra (Lundy y Parella, 2015; Payne *et al.*, 2016; Montowska *et al.*, 2019). Finke *et al.* (2017) señalaron que gran parte es insoluble y mayoritariamente la conforma la quitina, ya que ésta forma parte del exoesqueleto de los insectos, conformada por

2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa en un rango de 11.6 a 137.2 mg/kg de materia seca. Stull *et al.* (2018) han sugerido que la quitina podría tener propiedades prebióticas en la salud humana. Uno de los elementos dentro de la composición de quitina es el nitrógeno; por lo tanto, el contenido de quitina debe considerarse en la determinación de proteína mediante el factor de conversión de 5.6 (presencia de nitrógeno en la quitina) (Ibarra-Herrera *et al.*, 2020).

Otro componente nutrimental importante son los ácidos grasos presentes en *A. domesticus*, en donde diversos autores han reportado valores de 2.15–29 g/100 g (Sánchez-Muros *et al.*, 2014; Lundy y Parella, 2015; Payne *et al.*, 2016). Se considera al grillo como una fuente de ácidos grasos polinsaturados. Santurino *et al.* (2016) reportaron un 38 % de ácido linoleico (omega-6) y un 22.5 % de linolénico (omega-3) dentro de su composición lipídica, estos lípidos son importantes en la reducción de colesterol total (Rutaro *et al.*, 2018).

En cuanto a vitaminas y minerales, el calcio, sodio y potasio son de los minerales más destacados en su composición con un valor alrededor de 99.6-314.7 mg/100 g, 255.3-850.2 mg/100 g, 644-1224 mg/100 g, respectivamente. Manditsera *et al.* (2019) han reportado que el contenido de minerales depende de condiciones estacionales y de alimentación. Asimismo, la vitamina B12 se encuentra presente en valores de 0.01-6.69 mg/100 g, esta vitamina tiene gran importancia debido a que el contenido en el grillo es superior a la ingesta diaria recomendada (0.0024 mg/día). Su consumo es importante en los tratamientos de anemias, desnutrición, obesidad, metabolismo de proteínas, entre otros (Lundy y Parella, 2015; Ayieko *et al.*, 2016; Payne *et al.*, 2016; Montowska *et al.*, 2019; Bawa *et al.*, 2020).

### **2.4.3 Digestibilidad de la proteína de grillo**

En los alimentos, la digestibilidad proteica se ha constituido como un indicador de calidad de la proteína presente en los alimentos, ya que no solo es relevante un

alto contenido proteico, sino que éste debe ser digerido para ser aprovechado por el organismo, mediante la hidrólisis de moléculas complejas en fracciones más pequeñas (aminoácidos), los cuales son absorbidos en el intestino. Durante este proceso participan dos tipos de enzimas de carácter proteolítico: exopeptidasas (tripeptidasas, dipeptidasas, carboxipeptidasas y aminopeptidasas) y endopeptidasas (elastasa, tripsina, termolisina, pepsina y quimiotripsina) (Giraldo *et al.*, 2008).

La digestibilidad proteica es calculada mediante valores cuantitativos porcentuales. Para grillos se ha reportado un rango de digestibilidad de 76-96 %, ligeramente por debajo de otro tipo de proteínas convencionales de alto valor como la proteína de carne (89.65 %) y la caseína (95.69 %), pero superiores a las proteínas de soya (59.4 %) y garbanzos (62.3 %) (Querioz-Mendes *et al.*, 2016; Avilés-Gaxiola *et al.*, 2018).

#### **2.4.4 Calidad microbiológica del grillo**

Con respecto a la calidad microbiológica del grillo no existe una regulación para su producción, como es el caso de los sistemas agrícolas convencionales; hasta el momento no hay normativas que especifiquen los criterios para determinar la calidad microbiológica de este insecto, ya sea durante su crianza, consumo o bien, para la elaboración de productos a partir de ellos. Diversas investigaciones han demostrado que las cargas microbianas en grillos son altas, derivado de esto, la comisión europea y diversos investigadores han propuesto distintos indicadores de calidad para evitar riesgos por su consumo. Uno de los principales indicadores es el recuento de bacterias aeróbicas totales y enterobacterias, coliformes totales y fecales.

Se han registrado valores de  $8.9 \times 10^7$  UFC/g de mesófilos aerobios presentes en el grillo, esto se atribuyó a que rara vez se desprende el intestino del insecto

(Caparros-Megido *et al.*, 2017). Por otro lado, también se ha detectado la presencia de agentes indicadores como *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* durante distintos métodos de crianza del grillo (Ghafir *et al.*, 2008; Klunder *et al.*, 2012; Caparros-Megido *et al.*, 2017). Por otra parte, Klunder *et al.* (2012) aislaron a partir de *Acheta domesticus* fresco las bacterias ya mencionadas, además de bacterias formadoras de esporas.

La presencia de algunas especies fúngicas también se ha reportado en grillos crudos, entre las que destacan *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. y *Fusarium* spp., mismos que representan una amenaza a la salud humana debido a su capacidad para producir micotoxinas (Caparros-Megido, 2017; Vanderweyer *et al.*, 2018). Una alternativa utilizada por algunos investigadores es el ayuno de 24 a 48 h previo al sacrificio del grillo, con la finalidad de disminuir la carga microbiana intestinal. Sin embargo, este proceso no mostró beneficios importantes y se observó que al no contar con alimento los grillos optan por el canibalismo (Skluter *et al.*, 2017).

Un estudio demostró que la presencia de *Staphylococcus aureus* se considera como un indicador de mala higiene durante su proceso (Fernández-Cassi *et al.*, 2019). Es por ello que, el riesgo no es solo parte de la crianza sino también durante el transcurso y su posterior procesamiento. Por lo que se han propuesto tratamientos capaces de contrarrestar esta problemática, tales como: congelamiento, secado, acidificación, ahumado, freído y ebullición; el uso de estos procesos ha beneficiado en la reducción de poblaciones microbianas, se destaca que la presencia de temperaturas superiores a 100 °C redujo las cargas microbianas, principalmente en la familia de las enterobacterias (Ghafir *et al.*, 2008; Klunder *et al.*, 2012; Aquilino *et al.*, 2015; Osimani *et al.*, 2017; Vandeweyer *et al.*, 2017).

Se ha detectado la presencia de esporas resistentes aún después de procesos de ebullición, llegando a encontrar una concentración de 2.4 log UFC/g en la especie *Gryllus sigillaus* (Klunder *et al.*, 2017; Vanderweyer *et al.*, 2018); mientras que, Wynants *et al.* (2018) observaron la presencia de *Bacillus* sp. durante el ahumado. Se sabe que, factores como la actividad de agua pueden ser capaces de propiciar

el crecimiento bacteriano mientras que un pH ácido es capaz de frenar el deterioro del grillo (Vandeweyer *et al.*, 2017).

Por otro lado, en pulverizados de grillo se presentó una disminución de enterobacterias con valores de  $10^1$ - $10^8$  UFC/g, esto se atribuyó a que el grillo se sometió a congelación y a procesos térmicos de secado en horno (Garofalo *et al.*, 2017; Fasolato *et al.*, 2018; Vandeweyer *et al.*, 2018). Grabosky y Klein (2017) reportaron disminuciones significativas en Enterobacterias, *Staphylococcus* spp., mohos y levaduras después de aplicar una combinación de procesos de freído y extrusión precedidos de un proceso de secado a partir de 12 h a 80 °C para posteriormente incrementar la temperatura a 100 °C durante 12 h para la especie *Gryllus bismaculatus*.

## **2.5 Estabilidad en los índices de deterioro en harina de grillo**

De acuerdo a la normatividad vigente para harinas (NOM-247-SSA1-2008), se recomienda su almacenamiento a temperatura ambiente, libre de exposición al aire libre, así como de agentes contaminantes, para asegurar su inocuidad. Sin embargo, pueden existir agentes deterioradores en la harina de grillo y así poner en riesgo al consumidor. Uno de ellos es la humedad relativa del medio y del producto mismo, en donde humedades superiores al 18 % propician el desarrollo y proliferación de microorganismos indeseables, apelmazamientos, producción de hongos y micotoxinas y cambios en su textura (De la Honra *et al.*, 2012).

Por otro lado, debido a que la harina de grillo cuenta con un alto valor proteico y con ácidos grasos poliinsaturados, se favorece su oxidación ante su exposición a temperaturas elevadas superiores a los 35 °C, provocando un enranciamiento del producto (Pereira-Alcedo, 2017). Birman *et al.* (2018) reportaron que las exposiciones de los componentes de grillo a temperaturas elevadas favorecen la



proliferación de agentes oxidantes, desnaturalización de proteínas, disminución de funcionalidad de las proteínas y reacciones de Maillard.

Debido a que no existe una normatividad vigente mexicana para la elaboración de harina a base de insectos, diversos estudios y la Comisión Europea recomiendan caracterizar el material desde el punto de vista físico, químico y microbiológico.

## **2.6 Productos elaborados con harina de grillo**

En la Unión Europea, la cantidad de productos alimenticios elaborados con harina de grillo o mezclados con otro tipo de ingredientes son muy variadas entre estos se encuentran las hamburguesas, pastas, botanas, pizzas, salsas, barras y batidos de proteína, entre otros (Pino-Cebrián, 2018).

La harina de grillo es un producto alimenticio que se encuentra a la vanguardia en comparación con otro tipo de harinas en el mercado, como lo son las harinas a base de cereales, harina de pescado y soya. En este caso, la proteína del grillo es el componente principal de este producto y ha llegado a constituir alrededor del 65 % de la harina, considerándolo como un alimento con un contenido de proteína de alta calidad (Querioz-Mendes *et al.*, 2016; Ndritu *et al.*, 2017).

La harina de grillo es un aditivo capaz de enriquecer a otro alimento y su aceptación puede suele ser mayor en comparación con grillos enteros (Pauter *et al.*, 2018; Duda *et al.*, 2019). Ardoin y Prinyawiwatkul (2020) reportan que muchos consumidores en los Estados Unidos tienen renuencia a probar productos a base de insectos. Sin embargo, Capelli *et al.* (2020) reportaron que la harina de grillo favorece el enriquecimiento de proteínas al realizar una comparación frente a harina de trigo en elaboración de panes; donde observaron que existió un aumento de carbohidratos, proteínas y cenizas.

## 2.7 Productos elaborados con gluten y la tendencia de productos libres de gluten

Existen diversas condiciones patológicas que parecen estar asociadas con la ingesta de gluten, desde alergias y sensibilidad que llegan a afectar alrededor del 1 hasta el 25 % de la población hasta enfermedad celiaca que afecta cerca del 1 % asociada principalmente a una atrofia en el intestino delgado (Mancebo *et al.*, 2015; Leonard *et al.*, 2017). Hasta el momento no hay un tratamiento médico para las personas de dicho padecimiento, más que una estricta dieta libre de gluten; en ocasiones, este tipo de alimentación puede estar desequilibrada carente de nutrientes. En los últimos años, un desafío tecnológico es el desarrollo de productos de mejor calidad sensorial para personas celiacas, además se ha buscado incrementar el contenido de lípidos, proteínas y fibra en este tipo de productos. Da Rosa-Machado *et al.* (2021) reportaron que la eliminación del gluten en panes presentó poca capacidad de retención de gas, generando poca expansión; por lo que, sugieren realizar una combinación de proteínas con hidrocoloides o enzimas.

Las galletas pueden resultar un vehículo de fácil distribución en el mercado que pueda retribuir los nutrientes importantes, principalmente proteínas para las personas celiacas y el resto de la población (Di Cairano *et al.*, 2018). Sin embargo, gran parte de este tipo de productos tienen un alto índice glucémico debido a su composición, esto podría representar un problema para personas que tienen algún trastorno metabólico. Por lo tanto, galletas con bajo contenido calórico y libres de gluten podrían ser una alternativa saludable, las cuales podrían ser recomendadas no solo para una población celiaca sino también un paciente con enfermedades metabólicas y cuyo impacto benéfico a la salud podría ser potenciado con la adición de grillo.

### 3. Justificación del proyecto

El grillo es una fuente importante de proteínas para el consumo humano y éste puede ser utilizado como un ingrediente de alto valor nutricional; sin embargo, la estabilidad fisicoquímica y microbiológica de sus harinas es una limitante para su uso y aplicación en alguna matriz alimentaria. Debido a su elevado contenido de lípidos, la rancidez es uno de los puntos críticos a considerar durante el almacenamiento. Respecto a su inocuidad, las condiciones de crianza de grillo y su procesamiento puede generar altas cargas microbianas; por lo tanto, esto traerá como consecuencia un impacto negativo a la salud.

Otro de los problemas de los productos elaborados con grillos, y que actualmente se encuentran en el mercado, es que la mayoría de estos se promueven como fortificados en proteínas, pero solamente contienen del 4-10% de proteína cubriendo un porcentaje bajo de la ingesta diaria recomendada (IDR). Por lo tanto, se deben formular productos que aporten mayor contenido de proteínas.

Uno de los retos importantes en el consumo de insectos es incorporarlos en productos que sean aceptados por el consumidor y en los cuales se pueda enmascarar el sabor, siendo la galleta una alternativa para su comercialización. Sin embargo, la base de su formulación se encuentra conformada por cereales, azúcares simples y grasas saturadas confiriéndole un alto aporte calórico, derivados de estos ingredientes.

Es por ello que en propuestas de nuevos productos a base de grillo se debe considerar primero analizar la estabilidad fisicoquímica y microbiológica de la harina de grillo. Posteriormente, diseñar formulaciones de productos con ingredientes de bajo contenido calórico y con menor riesgo para poblaciones sensibles al gluten.

## **4. Objetivos**

### **4.1 Objetivo general**

Evaluar la estabilidad de harina de grillo (*Acheta domesticus*) y su aplicación como un ingrediente con alto contenido proteico para la elaboración de galletas libres de gluten.

### **4.2 Objetivos específicos**

**4.2.1** Evaluar durante almacenamiento la estabilidad microbiológica, física y química, así como el efecto sobre el perfil de ácidos grasos de la harina de grillo a diferentes temperaturas y humedad constante.

**4.2.2** Desarrollar una galleta libre de gluten fortificada con harina de grillo para incrementar su valor proteico adicionando sustitutos de grasa y edulcorantes no calóricos.

**4.2.3** Determinar la aceptabilidad general de la galleta elaborada con harina de grillo y evaluar la formulación de mayor aceptación.

## 5. Materiales y métodos.

### 5.1 Material biológico

La harina de grillo fue proporcionada por la empresa Agroinsect S. A de C.V ubicada en el municipio de Apaseo el grande, en el estado de Guanajuato, México.

### 5.2 Análisis proximal de la harina de grillo

El análisis proximal se llevó a cabo de acuerdo a los métodos oficiales de la AOAC; humedad (934.06), fibra total (método enzimático), proteína (960.52), grasa (920.85) y cenizas (940.26). El contenido de carbohidratos se obtuvo por diferencia.

### 5.3 Determinación de la digestibilidad *in vitro* de las proteínas de harina de grillo

Se elaboró una suspensión de proteínas y ésta se agitó durante 30 min. Se ajustó la suspensión a pH 8 con HCl 0.1 N ó NaOH 0.1 N; posteriormente, se añadió 1 mL de solución enzimática con pepsina. Las muestras se colocaron en un baño maría a 37 °C durante 10 min, agitando cada 2 min. Se utilizó como control caseína y finalmente se midió el pH y se sustituyó en la siguiente ecuación:

$$\% \text{ digestibilidad} = 229.30 - 30.30 x$$

Donde;

x= pH a los 10 min

(Hsu *et al.*, 1977, modificado por Forrellat *et al.*, 1998)

## **5.4 Estabilidad de la harina de grillo**

Para la estabilidad se usó la temperatura como principal factor crítico de almacenamiento y una humedad relativa constante de 32-35 % (humedad relativa del estado de Querétaro); se evaluaron tres temperaturas (25, 35 y 45 °C), considerando un rango de temperaturas presentados en nuestro país. Las muestras se almacenaron durante 4 meses y los muestreos se realizaron a los 15, 30, 60, 90 y 120 días.

La harina de grillo se empacó en porciones de 25 g en bolsas trilaminadas de 20 x 12.5 cm, con cierre hermético, de alta barrera a temperatura, humedad y luz. Las muestras permanecieron cerradas durante el tiempo en que se encontraron en incubación. Se realizaron pruebas microbiológicas para el conteo de mesófilos aerobios y coliformes totales, también se evaluaron distintos índices críticos de deterioro en harinas, tales como la humedad relativa, actividad de agua, pH, color, oxidación de peróxidos, oxidación de proteínas, solubilidad en agua, absorción en agua, digestibilidad proteica y capacidad antioxidante.

### **5.4.1 Determinación microbiológica de la harina durante almacenamiento**

Se homogenizaron 10 g de muestra con un volumen de 90 mL de diluyente de peptona (0.1%) estéril durante 2 min; se dejó en reposo la muestra durante 5 min para que la suspensión sedimentara y se separó 1 mL de la suspensión para cada determinación.

#### **5.4.2 Determinación de bacterias mesófilas aerobias**

De acuerdo a la NOM-110-SSA1-1994 se realizaron diluciones 1:10 en el diluyente de peptona. Se colocó 1 mL de la dilución primaria en una placa Petri en un volumen de 15 a 20 mL de agar cuenta estándar y se mezcló. Las cajas se incubaron a  $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 48 h, se seleccionaron aquellas placas que tuvieron entre 25 a 250 colonias y se reportó de acuerdo a la NOM-092-SSA1-1994.

#### **5.4.3 Determinación de coliformes totales**

Se llevó a cabo de acuerdo a la norma NOM-113-SSA1-2014. Se preparon diluciones 1:10 de la muestra, se colocó 1 mL de esta dilución primaria y se vertieron 15 mL del medio agar rojo violeta bilis (ARVB) sobre la muestra, se mezcló mediante 6 movimientos en sentido de las manecillas del reloj (izquierda, derecha, arriba y abajo) se dejó reposar hasta que el medio solidifico y posteriormente se añadió una ligera capa de medio ARVB aproximadamente de 4 mL sobre el medio inoculado. Se Incubaron las cajas a  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante  $24 \pm 2$  h y se seleccionaron aquellas placas que tuvieran entre 15 y 150 colonias, típicas de color rojo oscuro, rojo claro o rosa de lentes convexos con un diámetro de 0.2 a 0.5 mm.

#### **5.4.4 Determinación de color**

En una placa Petri cubierta en un 90 % de color blanco se colocó aproximadamente de 1-1.5 g. Se registraron las mediciones en forma de tres variables L (luminosidad), a (rojo/verde) y b (amarillo) mediante un colorímetro Minolta (CROMA METER CR-210, MEX). Los datos generados se compararon con la gama colorimétrica del software colorizer.

#### **5.4.5 Determinación de pH**

En un vaso de precipitado de 25 mL se mezcló 1 g de harina en 10 mL de agua destilada hervida. Se ajustó la temperatura a 20 °C y se midió su pH con un potenciómetro (NMX-F-317-S-1978).

#### **5.4.6 Determinación de actividad de agua**

La determinación de la actividad de agua se realizó en el equipo AquaLab (Series 4TE, MEX) en una proporción representativa de la muestra (aproximadamente de 1.5-2 g).

#### **5.4.7 Determinación de índice de oxidación de proteínas**

A partir de 300 µL de proteínas se mezclaron con 100 µL de una solución tampón de fosfatos a pH 7.4, con 200 µL de 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) 0.01 M, se agitó y se incubó durante 1 h a 37 °C. Transcurrido ese tiempo, se adicionó al tubo 325 µL de TCA (frío), se incubó nuevamente a 4 °C durante 10 min.

La muestra se centrifugó a 5,000 g durante 10 min para obtener un precipitado, éste se lavó 4 veces con etanol/acetato de etilo en una proporción (1:1), entre cada lavado se centrifugó a 13,000 g durante 4 min; en el último lavado se recuperó el precipitado y se dejó en reposo hasta evaporación del solvente.

El precipitado se disolvió con 1 mL de solución de guanidina a una concentración 6 M; se agitó e incubó a 37 °C durante 10 min. Finalmente se centrifugó a 12,000 g durante 10 min a 4 °C. Se leyó el sobrenadante en un espectrofotómetro Shimadzu (UV-1603, MEX) a 375 nm, usando como blanco guanidina (Díaz-Acosta y Membrillo-Hernández, 2006).



#### 5.4.8 Determinación de solubilidad y absorción de agua

A partir de una muestra de 2.5 g se adicionaron 10 mL de agua destilada a 30 °C y se centrifugó a 5,000 g durante 20 min. Abreviatura del SI El sobrenadante fue decantado para secarlo a 90 °C durante 4 h, el sedimento se pesó y los resultados se expresaron en % (Anderson *et al.*, 1969).

$$\text{Indice de solubilidad} = \frac{\text{peso seco del sobrenadante}}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

$$\text{Indice de absorcion} = \frac{\text{peso seco del gel}}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

#### 5.4.9 Determinación del índice de oxidación de peróxidos

En un matraz Erlenmeyer de 250 mL se mezclaron 5 g de la muestra de harina, 30 mL de cloroformo/ácido peracético (1:3) y 0.5 mL de solución saturada de KI. Posteriormente, se agregaron 30 mL de agua destilada para realizar una titulación del yodo liberado con Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> al 0.1 N, hasta observar una decoloración; se añadió 0.5 mL de solución de almidón al 1 % y se terminó de titular hasta observar la desaparición de un color azul.

El índice de peróxidos se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de peróxidos} = \frac{V \times N}{g \frac{1 \text{ kg}}{1000 \text{ g}}}$$

Donde;

V= Volumen de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  en mL, g= peso de la muestra en gramos, N= normalidad en miliequivalentes/mL.

(Valdez-Pantoja y Untiveros-Bermúdez, 2010)

#### 5.4.10 Aplicación del modelo de Arrhenius para la estimación de vida útil

El análisis de datos durante almacenamiento de la harina a través del tiempo, se evaluó mediante cinéticas de degradación, bajo el supuesto de cinéticas clásicas utilizando la tasa de cambio del indicador en la siguiente ecuación:

$$\frac{dI(t)}{I^m} = kdt$$

Donde;

k = constante de la tasa de degradación, t = tiempo de almacenamiento, m = orden de la reacción, I = indicador.

Se modeló la tasa de degradación a partir del modelo de Arrhenius en la constante de cinética clásica de orden m:

$$\ln K(Tp) = \ln K_{ref} - \frac{Ea}{R} \left( \frac{1}{Tp} - \frac{1}{Tpref} \right)$$

Donde;

k<sub>ref</sub>= constante de la tasa de degradación, T<sub>p</sub>= temperatura en grados Kelvin, T<sub>pref</sub>= temperatura de referencia, E<sub>a</sub>= energía de activación, K= constante de degradación (Houg, 2010). Los datos se expresaron en intervalos de tiempo por los días de almacenamiento.

## **5.5 Cuantificación de ácidos grasos durante almacenamiento por cromatografía de gases acoplado a masas.**

Se realizó una derivatización con reacciones alcalinas y ácidas, a partir de 100 mg de la harina de grillo en 1 mL agua, se añadió 0.4 mL de NaOH (1.25 mol/L metanol), la muestra se sónico a 40 kHz para posteriormente añadir 0.8 mL de hexano, se agitó en vórtex durante 30 seg y se centrifugó a 10,000 g durante 5 min. Posteriormente, se recuperó el sobrenadante y se inyectó 1  $\mu$ L de la muestra derivatizada en un cromatógrafo de gases acoplado a masas (GC-MS) de cuadrupolo simple (Agilent 5975C), equipado con energía de electrones en 70 eV en un rango de masa de m/z 50-1100. Se utilizó una columna capilar HP-88 (30 m x 0.25 mm de diámetro interior x 0.25  $\mu$ m). La temperatura inicial fue de 50 °C, se mantuvo durante 1 min y se elevó a 175 °C a 15 °C min<sup>-1</sup> durante 5 min. La velocidad de flujo del gas portador (helio) se mantuvo en 1 mL por min. El control de GC-MS y el procesamiento de datos se realizaron utilizando el software Chemstation (Agilent Technologies).

## **5.6 Desarrollo de una galleta fortificada con harina de grillo**

El desarrollo de la galleta se realizó a partir de una formulación control establecida con pequeñas pruebas previas que nos permitieron obtener una galleta base. Posteriormente, se realizaron 2 experimentos con una mezcla de harinas de gluten (trigo, avena, arroz, soya, centeno, cebada y amaranto) y sin gluten (amaranto, garbanzo, arroz, soya, tapioca, polenta y maíz) con 3 factores y 3 niveles cada uno, modificando las cantidades de un sustituto de grasa, edulcorante no calórico y harina de grillo.

Se empleó sustituto de grasa a base de grasa vegetal de coco SW50 (Cuadro 4) y los edulcorantes Stevia mejorada y alulosa, los cuales fueron proporcionados por la

empresa INGREDION (Cuadro 5). de acuerdo a lo especificado por el proveedor, La stevia Reb M no tienen ningún aporte nutricional.

Para la elaboración de las galletas se incorporó mantequilla/sustituto de grasa con azúcar/edulcorante no calórico hasta obtener un cremado de la mezcla. Posteriormente, se adicionaron el resto de los ingredientes y se amasaron hasta obtener una mezcla homogénea, para finalmente realizar un moldeado de la mezcla con un rodillo de madera hasta obtener una superficie de 0.5 cm de ancho para poder cortar las galletas con un diámetro de 7.5 cm. Finalmente, las galletas se hornearon a 180 °C durante 25 min.

Cuadro 4. Composición e ingredientes del sustituto de grasa

<b>Componente</b>	<b>%</b>
Ingredientes	Grasa vegetal de coco, jarabe de maíz, emulsificante E472e, estabilizante E340, agente antiaglomerante E551
Humedad	Max 4.0
Grasa	49.0 – 51.0
Grasas trans	< 1.0
Proteína	0.0
Cenizas	Max 8.0

Cuadro 5. Composición nutrimental de la alulosa

<b>Componente</b>	<b>g/100 g</b>
Carbohidratos	71.0
Azúcares totales	0.9
Alulosa	67.84
Oligómeros de alulosa	2.26
Proteína	<0.1
Humedad	28.8
Cenizas	<0.1

### **5.7 Adición de edulcorantes en la galleta**

A partir de la mezcla de las harinas utilizadas con la mantequilla/sustituto de grasa, se adicionó el edulcorante después del acreamado, de acuerdo a lo mencionado por el proveedor. Se probaron 4 tipos de edulcorantes: Jarabe de agave (Caromax) en la misma proporción que azúcar de mesa, Stevia 0.008 g/100 g, Alulosa 14.70 g/100g y fruto del monje 0.05 g/100 g. Posterior a la adición del edulcorante elegido, el resto de los ingredientes se adicionaron igual a lo mencionado en el apartado 5.6.

### **5.8 Adición de nuevos sabores e ingredientes a las galletas**

A partir del amasado de los ingredientes, se realizó la adición de los siguientes ingredientes, de acuerdo al sabor deseado: arándanos 15 g/100 g, cocoa 10 g/100

g, avena 10 g/100 g, linaza 5 g/100 g, ralladura de limón 5 g/100 g, canela 5 g/100 g y café 5 g/100 g en base a previas formulaciones realizadas.

Posteriormente, se realizó un segundo amasado hasta su mezcla homogénea, se moldeó con un rodillo de madera hasta obtener una superficie de 0.5 cm de ancho para poder cortar las galletas con un diámetro de 7.5 cm. Finalmente, las galletas se hornearon a 180 °C durante 25 min.

### **5.9 Medición de dureza de las galletas**

Esta medición se realizó utilizando un analizador de textura (Brookfield, MEX) a través de un punto de compresión con una distancia de 3 mm, con una carga de activación de 0.05 N a una velocidad de 1 mm/s a través de una sonda TA7 en un solo ciclo. La dureza se determinó a través del punto de quiebre en la galleta, el cual se expresó en Newtons (N).

### **5.10 Evaluación sensorial de las galletas**

Las evaluaciones sensoriales se realizaron a través de la aceptabilidad general del producto en una escala hedónica de 9 puntos como puntuación máxima. En el estudio fue aprobado por el comité de bioética de la Universidad Autónoma de Querétaro con el No. De oficio CBQ20/066 (Anexo I); se incluyeron 51 panelistas de la comunidad estudiantil de la Universidad Autónoma de Querétaro en un rango de edad de 19-34 años hombres y mujeres que no presentaran reacciones alérgicas a los ingredientes del producto y se les solicitó firmaran una carta de consentimiento informado (Anexo II). Se les mencionó a los panelistas el nombre del proyecto, el producto a probar y las indicaciones durante la evaluación. Especialmente se excluyó a aquellas personas que presentaran alguna alergia a crustáceos debido a

la presencia de quitina en el producto o bien que al momento del análisis sensorial tuvieran alguna enfermedad que modifique su percepción del sabor (Ej. Resfriado común). Los criterios de exclusión también se efectuaron al momento del análisis, si el evaluador se percata de alguna alergia o malestar como náuseas, mareos o dolores de cabeza.

El análisis sensorial consistió en dar a probar a cada participante cada una de las muestras (según corresponda) de apropiadamente 5 g cada una, las galletas se evaluaron al azar con el fin de evitar sesgos posicionales. Se les pidió a los evaluadores que calificaran una serie de atributos como los que se muestran en la Figura 3 y realizaran algunos comentarios. Se utilizó agua y galletas saladas para limpiar el paladar entre cada muestra.

Evaluación No. \_\_\_\_\_

**“Estudio de estabilidad de harina de grillo (*Acheta domesticus*) y su incorporación en galletas libres de gluten”**

**Indicaciones:** Tome su tiempo y pruebe las muestras de acuerdo a su elección y marque con una “x” la casilla de preferencia de acuerdo a su agrado. **Debe realizar su prueba en silencio y sin comentar con las personas a su alrededor.**

**NOTA IMPORTANTE:** Entre cada muestra, coma un poco de galleta salada y enjuague con un poco de agua su boca.

- Si padece de intolerancia al gluten o alergia a algún tipo de marisco se sugiere no participar.

Edad: \_\_\_\_\_ Género: Masculino \_\_ Femenino \_\_ Otro \_\_

¿Alguna vez ha consumido insectos? ¿Cuáles? \_\_\_\_\_

¿Ha consumido alimentos que contengan insectos en su formulación? \_\_\_\_\_

MUESTRA	Me disgusta extremo	Me disgusta Mucho	Me disgusta Moderado	Me disgusta un poco	Ni me gusta ni me disgusta	Me gusta poco	Me gusta moderado	Me gusta mucho	Me gusta extremo
910									
OLOR									
COLOR									
SABOR									
TEXTURA									
ACEPTABILIDAD GENERAL									

Figura 3. Boleta de evaluación sensorial para cada muestra

## 5.11 Determinación de la capacidad antioxidante de las galletas

### 5.11.1 Ensayo DPPH

Se preparó una solución del radical DPPH con 8 mg del radical en 100 mL de metanol, se mezcló y se ajustó a una absorbancia 0.75 a 0.78 en 517 nm; la solución se preparó al instante y se protegió de la luz. Posteriormente, se preparó una solución estándar de trolox de 10 mL a una concentración 1 mM en metanol. Se preparó una curva de estándar para trolox. De acuerdo al cuadro 6, se agitaron las muestras durante 6 min y se leyeron a 517 nm usando como blanco 200  $\mu$ L agua y 20  $\mu$ L metanol, un control de 20  $\mu$ L metanol y 200  $\mu$ L del radical DPPH. Los datos se reportaron en mg de trolox/g.

Cuadro 6. Curva estandar para trolox

Tubo	Concentración ( $\mu$ M)	Solución trolox ( $\mu$ L)	Metanol ( $\mu$ L)
1	50	50	950
2	100	100	900
3	200	200	800
4	300	300	700
5	400	400	600
6	500	500	500
7	600	600	400
8	700	700	300
9	800	800	200

### 5.11.2 Ensayo ABTS

Se prepararon las soluciones del radical ABTS<sup>•+</sup> 7 mM en agua destilada y de persulfato de potasio 140 mM. Posteriormente, se realizó una mezcla con 5 mL de ABTS<sup>•+</sup> y 88  $\mu$ L de persulfato de potasio, la cual se guardó en obscuridad durante 12 h y al día siguiente se ajustó con etanol en una absorbancia de  $0.7 \pm 0.02$  a 734 nm. Se preparó una solución estándar de trolox a una concentración 1 mM en



metanol. Se preparó una curva de calibración de acuerdo al cuadro 6. Se agitaron las muestras durante 6 min y se leyeron a 734 nm, se utilizó un primer blanco de 230  $\mu$ L agua y 20  $\mu$ L metanol, un segundo blanco con 320  $\mu$ L de metanol y 20  $\mu$ L de agua. Para la medición de las muestras se utilizaron 20  $\mu$ L de muestra con 20  $\mu$ L de agua y 230  $\mu$ L de ABTS<sup>\*\*</sup>. Los datos se midieron en 734 nm y se reportaron en mg de trolox/g.

### **5.11.3 Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos en la composición proximal, estabilidad y dureza en las galletas se expresaron como la media  $\pm$  error estándar (EE) mediante análisis de varianza (ANOVA), la comparación de las medias se realizó por la prueba de Tukey-Kramer. Todas las muestras se realizaron por triplicado, a excepción de las pruebas de dureza las cuales se hicieron en 7 réplicas, todos los datos obtenidos mostraron similitudes y se procesaron mediante el programa JMP 11.

## 6. Resultados y discusión

### 6.1 Determinación proximal de harina de grillo y evaluación de su digestibilidad proteica.

El grillo se ha considerado por la FAO y la OMS como una alternativa proteica importante dentro de la alimentación humana, dependiente principalmente de la especie, fases de desarrollo y alimentación (Lundy y Parella, 2015). Los resultados obtenidos en la determinación del contenido proximal se presentan en el Cuadro 7, donde se muestra que el componente principal de la harina fue la proteína, tal como lo mencionan algunos autores del 50-80 %. Dicho efecto podría atribuirse a su alta eficiencia de conversión alimenticia (Wegier *et al.*, 2018). Este aporte es 3 veces mayor en comparación con otro tipo de alimentos con alto contenido proteico como el chícharo y 2 veces más que algunas fuentes de origen animal como la carne de res. Se espera que la proteína de grillo sea benéfica por su composición. De acuerdo a la OMS, el contenido promedio en aminoácidos provenientes de insectos proporcionan niveles satisfactorios de aminoácidos esenciales para la dieta humana.

El segundo componente mayoritario en harina de grillo fue el contenido de grasa, este componente es casi 3 veces más que lo reportado en otros alimentos de origen vegetal y animal. Algunos autores han reportado que mayoritariamente se trata de ácidos grasos C18 que incluyen ácido oleico, linolénico y palmítico, ácidos grasos importantes para el tratamiento de trastornos lipídicos (Kourimska y Adamkova, 2015; Rutaro *et al.*, 2018).

Por otro lado, de los carbohidratos totales cuantificados en esta harina, alrededor del 53 % de los carbohidratos presentes son fibra. Se ha reportado que esta fibra, podría tener propiedades prebióticas sobre la microbiota, ya que el 90 % de esa fibra es insoluble (Stull *et al.*, 2018). Estas características de la harina demuestran su aporte importante de nutrientes en la dieta humana.

Cuadro 7. Composición proximal de la harina de grillo y su comparación con otras fuentes de origen vegetal y animal

Componente	<i>Acheta domesticus</i>	Chícharo (Román-Cortés <i>et al.</i> , 2014)	Carne de res (Jerez-Timaure <i>et al.</i> , 2011)
Proteína	53.1 ± 0.9	18.45	27.7
Grasa	16.7 ± 2.2	6.21	6.3
Fibra dietaria total	14.0 ± 0.2	14.27	10.7
Fibra insoluble	12.7 ± 0.1	13.93	-
Fibra soluble	1.2 ± 0.01	0.91	-
Cenizas	4.0 ± 0.1	2.30	1.2
*Carbohidratos totales	26.2 ± 3.1	67.15	0.0

Los datos se expresan como la media ± desviación estándar, los valores son expresados en g/100 g en base seca para *Acheta domesticus*, chícharo y carne de res.

\* Carbohidratos totales calculados por diferencia.

Por otro lado, uno de los principales indicadores en la calidad de cualquier proteína es su capacidad de absorción en el organismo, lo cual es dependiente de su digestibilidad (Avilés-Gaxiola *et al.*, 2018). La digestibilidad proteica *in vitro* resultó muy similar a otra proteína de alto valor como lo es la caseína (Cuadro 8). Estos resultados de *A. domesticus* son similares a lo reportado para otro tipo de especies como el grillo *bismaculatus*, con una digestibilidad *in vitro* del 76-96 % (Vanderweyer, *et al.*, 2017)

Cuadro 8. Digestibilidad proteica *in vitro* de harina de grillo.

Componente	% de digestibilidad
Harina de grillo	92.15 ± 0.92
*Control	99.30 ± 0.50

Los datos se expresan como la media ± desviación estándar (n=3).

\*Se utilizó caseína como control.

## 6.2 Estabilidad de la harina de grillo a temperaturas críticas y humedad constante durante almacenamiento.

Debido al alto aporte nutrimental que representa la harina de grillo, las exposiciones a agentes externos durante su almacenamiento pueden generar un deterioro en el producto desde apelmazamientos, cambios de textura, proliferación de microorganismos además de hidrólisis, oxidaciones, entre otros, que no resulten beneficiosos para el producto y el consumo humano (Kontio, 2017; Birman *et al.*, 2018).

De acuerdo a lo observado en el Cuadro 9, el pH oscila entre valores desde 5.8 hasta 6.2; en donde se puede observar que al transcurso de 90 días tiende a disminuir ligeramente, sin embargo no resulta significativo. La NOM-247-SSA1-2008 considera un pH de 6.1 a 6.5 como un valor convencional en harina.

Por otro lado, en cuanto a la determinación de color (Cuadro 10) al transcurso de 15 días a 45 °C se observó que existió una disminución de luminosidad y un aumento del color amarillo 0.37 y 0.55 veces respectivamente; a su vez, a los 30 días el parámetro a\* también aumento 0.22 veces. Estos aumentos podrían indicar un efecto de oscurecimiento enzimático a través del tiempo (Garzon-garcia, 2018).

Cuadro 9. Nivel de pH de la harina de grillo durante su almacenamiento.

Días	pH		
	25 °C	35 °C	45 °C
0	6.2 ± 0.1 ab	6.2 ± 0.1 ab	6.2 ± 0.1 ab
15	5.8 ± 0.1 abc	6.0 ± 0.1 abc	6.1 ± 0.1 abc
30	6.2 ± 0.0 ab	6.1 ± 0.1 abc	5.9 ± 0.0 bc
60	6.0 ± 0.1 abc	6.1 ± 0.1 abc	5.8 ± 0.2 bc
90	6.1 ± 0.0 abc	6.0 ± 0.1 abc	5.7 ± 0.2 c
120	6.3 ± 0.1 a	6.1 ± 0.1 abc	5.8 ± 0.1 bc

Los valores representan la media ± la desviación estándar. Cada valor con diferente letra indica diferencia significativa con la prueba de Tukey-Kramer con un nivel de confianza de 95 %.

Cuadro 10. Determinación de color en harina de grillo durante almacenamiento.

T °C	Dias	L* (luminosidad)	a* (rojo/verde)	b* (amarillo)
25	0	64.49 ± 0.02 a	3.83 ± 0.03 bc	13.96 ± 0.28 de
	15	65.01 ± 0.22 a	3.74 ± 0.01 c	14.02 ± 0.12 de
	30	65.02 ± 0.85 a	3.75 ± 0.03 bc	14.17 ± 0.24 de
	60	65.14 ± 0.29 a	3.71 ± 0.09 c	14.14 ± 0.01 de
	90	64.65 ± 0.08 a	3.75 ± 0.01 bc	14.26 ± 0.01 de
	120	64.92 ± 0.14 a	3.74 ± 0.05 c	14.32 ± 0.01 cde
35	15	64.68 ± 0.31 a	3.83 ± 0.14 bc	14.12 ± 0.21 de
	30	64.89 ± 0.48 a	3.74 ± 0.01 c	14.21 ± 0.02 de
	60	64.83 ± 0.50 a	3.81 ± 0.08 bc	14.49 ± 0.02 bcd
	90	65.04 ± 0.19 a	3.70 ± 0.20 c	14.54 ± 0.47 bcd
	120	65.12 ± 0.04 a	3.74 ± 0.03 c	14.52 ± 0.28 bcd
45	15	64.50 ± 0.01 b	3.61 ± 0.01 ab	13.76 ± 0.01 a
	30	64.12 ± 0.01 b	3.88 ± 0.01 a	14.03 ± 0.02 ab
	60	62.48 ± 0.01 b	3.81 ± 0.01 a	14.30 ± 0.01 a
	90	64.97 ± 0.01 b	3.76 ± 0.01 a	14.33 ± 0.01 a
	120	64.88 ± 0.01 b	3.74 ± 0.01 a	14.51 ± 0.02 a

Los valores representan la media ± la desviación estándar. Cada valor con diferente letra indica diferencia significativa con la prueba de Tukey-Kramer con un nivel de confianza de 95 %.

### 6.3 Actividad de agua en harina de grillo durante almacenamiento

La actividad de agua es uno de los parámetros más importantes en un producto alimenticio, ya que puede favorecer o dificultar el crecimiento de microorganismos y la existencia o no de algunas reacciones de oxidación (Burló-Carbonell y Cano-Lamadrid, 2017).

En este estudio, la mayor parte de los datos obtenidos se encuentran en un rango de 0.11 a 0.28 de actividad de agua (Cuadro 11). Este parámetro presentó algunas tendencias diferentes, en donde se observó que a una temperatura de 25 °C aumentó hasta del 21 % respecto a su valor inicial; mientras que, ésta disminuyó cerca de un 51 % a 45 °C. Dichas diferencias pudieran deberse a un intercambio de agua entre el medio y el empaque, a pesar de que las especificaciones en el empaque tr laminado describen una resistencia térmica y protección del producto ante factores externos, para asegurar la hermeticidad del producto.

En este estudio, se observó independientemente de la temperatura de almacenamiento, los microorganismos mesófilos aerobios se mantuvieron en un rango de concentración desde los 2 hasta los 2.1 log UFC/g (Figura 4), coliformes totales  $\leq 1.1$  log UFC/g (Figura 5), ambos se encontraron sin diferencias estadísticas con respecto a la harina recién elaborada. La guía de buenas prácticas para productos de insectos (IPIFF) menciona que los límites máximos permisibles para mesófilos aerobios es de 5 log UFC/g y 1 a 2 log UFC/g para coliformes totales; cifras superiores a las detectadas en la harina recién elaborada y durante almacenamiento, se ha reportado que actividades de agua superiores a 0.7 favorecen el crecimiento de microorganismos, pero en este caso tampoco se presentó dicho efecto.

Cuadro 11. Actividad de agua en harina de grillo durante su almacenamiento.

Días	Aw		
	25 °C	35 °C	45 °C
<b>0</b>	0.233 ± 0.001 abcd	0.233 ± 0.007 abcd	0.233 ± 0.006 abcd
<b>15</b>	0.274 ± 0.001 ab	0.262 ± 0.003 abc	0.198 ± 0.060 cde
<b>30</b>	0.271 ± 0.007 abc	0.254 ± 0.002 abc	0.177 ± 0.030 def
<b>60</b>	0.272 ± 0.002 abc	0.234 ± 0.007 abcd	0.163 ± 0.014 def
<b>90</b>	0.274 ± 0.006 ab	0.224 ± 0.020 abcde	0.153 ± 0.007 ef
<b>120</b>	0.283 ± 0.002 a	0.201 ± 0.000 bcde	0.119 ± 0.002 f

Los valores representan la media  $\pm$  la desviación estándar. Cada valor con diferente letra indica diferencia significativa con la prueba de Tukey-Kramer con un nivel de confianza de 95 %.

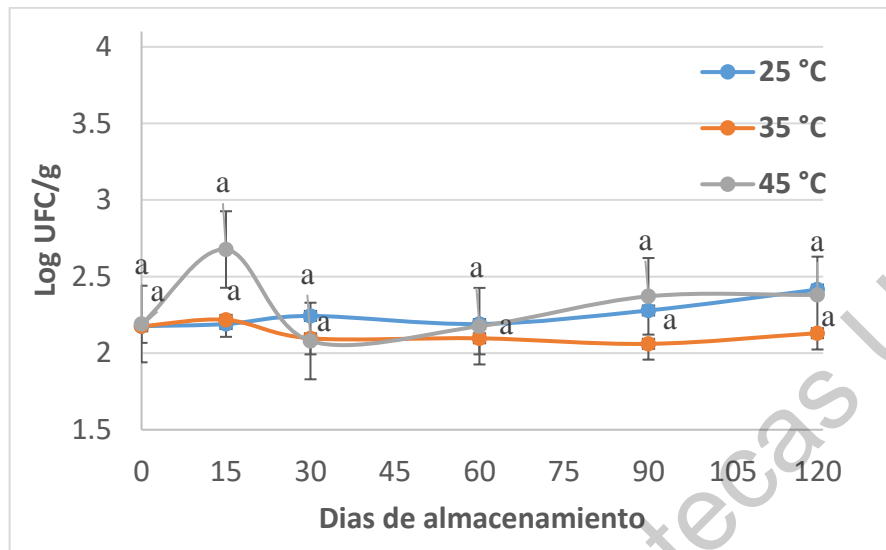


Figura 4. Contenido de mesófilos aerobios de la harina de grillo durante su almacenamiento. Cada valor con diferente letra indica diferencia significativa con la prueba de Tukey-Kramer con un nivel de confianza de 95 %.

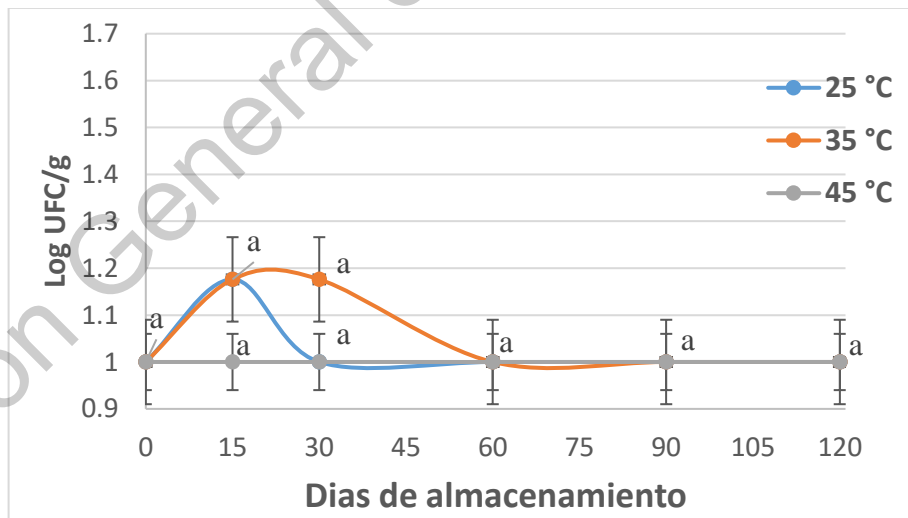


Figura 5. Contenido de coliformes totales de la harina de grillo durante su almacenamiento. Cada valor con diferente letra indica diferencia significativa con la prueba de Tukey-Kramer con un nivel de confianza de 95 %.

### 6.3 Oxidación de proteínas en harina de grillo durante almacenamiento

De acuerdo al apartado anterior, la presencia de agua en un alimento suele actuar como catalizador de algunas reacciones, principalmente oxidativas (Mattila *et al.*, 2001). En los resultados (Cuadro 12) se observa que la proteína de grillo tiende a oxidarse rápidamente a medida que la temperatura aumenta, ya que a 45 °C se presentó un incremento de 1.7 veces más a su oxidación inicial, desde 85.6 a 146.9 nmol de grupos carbonilo/μg de proteína, presentando diferencias estadísticas significativas a partir de los 15 días en todas las temperaturas de almacenamiento. A 25 y 35 °C se observó un aumento de 1.6 veces a los 120 días de exposición; sin embargo, se ha observado que existen valores con variaciones muy diferentes. Mesías M. *et al* (2010) reportaron 2000 nmol de grupos carbonilo/μg de proteína sobre productos horneados.

El efecto de la temperatura sobre la inducción de oxidación de las proteínas puede deberse al proceso de obtención de la harina de grillo, ya que éste incluye altas temperaturas por períodos prolongados, lo que induce la conversión de algunos aminoácidos en derivados carbonílicos (Soladoye *et al.*, 2017). El aumento en la oxidación de proteínas podría indicar que existe cierto riesgo a disminuir la calidad proteica, ya que dicha oxidación da lugar a la formación de grupos carbonilos y se disminuye la cantidad de aminoácidos esenciales. Dichos procesos de oxidación ocurren principalmente en residuos de prolina, lisina, arginina y treonina, lo que genera semialdehído glutámico y semialdehído aminoapico (en menor proporción), productos que llegan a bloquear los extremos N-terminal del resto de la proteína. Además, la carbonilación de cisteína promueve la agregación de proteínas y, a su vez, los productos de peroxidación lipídica incrementan el mismo proceso oxidativo (Valdez-Pantoja y Untiveros-Bermúdez; 2010; Díaz-Acosta y Membrillo-Hernández, 2016).

Una proteína oxidada disminuye su valor nutricional principalmente porque suele digerirse con mayor dificultad y por ello no se asimilan correctamente los



aminoácidos disponibles, también pueden existir pérdidas biológicas y tecnológicas (Promeyrat A. *et al.*, 2010; Gatellier P. *et al.*, 2016).

Cuadro 12. Cuantificación de grupos carbonilo en harina de grillo durante almacenamiento.

Días	nmol/ $\mu$ g de proteína		
	25 °C	35 °C	45 °C
<b>0</b>	85.6 $\pm$ 7.9 gh	85.6 $\pm$ 7.9 gh	85.6 $\pm$ 3.6 gh
<b>15</b>	92.1 $\pm$ 1.3 fgh	78.0 $\pm$ 5.9 h	103.1 $\pm$ 5.3 efg
<b>30</b>	105.7 $\pm$ 2.6 defg	104.1 $\pm$ 5.3 defg	107.1 $\pm$ 8.3 defg
<b>60</b>	110.7 $\pm$ 7.1 def	118.0 $\pm$ 1.5 bcde	126.6 $\pm$ 9.4 abcd
<b>90</b>	113.9 $\pm$ 2.9 cdef	134.8 $\pm$ 1.7 abc	136.5 $\pm$ 7.1 ab
<b>120</b>	140.1 $\pm$ 7.1 bcde	143.1 $\pm$ 3.21 a	146.9 $\pm$ 9.0 a

Los valores representan la media  $\pm$  la desviación estándar. Cada valor con diferente letra indica diferencia significativa con la prueba de Tukey-Kramer con un nivel de confianza de 95 %.

#### 6.4 Solubilidad, absorción de agua y digestibilidad *in vitro* de harina de grillo durante almacenamiento

Una de las propiedades tecnológicas más valoradas que tienen las proteínas es su capacidad de interactuar con el agua, de forma que contribuyen a la textura apetecible de muchos alimentos (Castell, 2010). Debido al aumento en la oxidación de la proteína se realizaron algunas determinaciones tecnológicas, en donde se observó que a las diferentes temperaturas los valores de solubilidad de la proteína oscilaron entre 96.83-96.93 %, la absorción de agua entre 3.07-3.31 % y la digestibilidad proteica entre 90.09-92.81 % (Cuadro 13). Por lo tanto, a pesar del aumento en los niveles de oxidación de la proteína con respecto al tiempo, la harina no pierde su solubilidad y absorción en agua, además de que no se ve afectada su

digestibilidad proteica, ya que en ninguno de estos parámetros se observan diferencias estadísticas desde el día 0 hasta el transcurso de los 120 días

Cuadro 13. Parámetros tecnológicos en harina de grillo en tiempo 0 y 120 días durante su almacenamiento.

	Días	Temperatura en °C		
		25	35	45
<b>Solubilidad en agua (%)</b>	<b>0</b>	96.83 ± 0.04 ab	96.83 ± 0.04 ab	96.83 ± 0.04 ab
	<b>120</b>	96.79 ± 0.01 ab	96.69 ± 0.00 b	96.93 ± 0.03 a
<b>Absorción de agua (%)</b>	<b>0</b>	3.16 ± 0.04 ab	3.16 ± 0.04 ab	3.16 ± 0.046 ab
	<b>120</b>	3.20 ± 0.01 ab	3.31 ± 0.00 ab	3.07 ± 0.03 b
<b>Digestibilidad (%)</b>	<b>0</b>	92.15 ± 0.92 a	92.81 ± 0.90 a	92.81 ± 0.92 a
	<b>120</b>	91.91 ± 1.27 a	90.09 ± 1.27 a	91.92 ± 2.55 a

Los valores representan la media ± la desviación estándar. Cada valor con diferente letra indica diferencia significativa con la prueba de Tukey-Kramer con un nivel de confianza de 95 %.

### 6.5 Oxidación de lípidos de harina de grillo durante almacenamiento

El alto contenido de grasa en la harina de grillo podría representar un riesgo importante para su deterioro durante el almacenamiento, ya que algunos autores han reportado que en altas temperaturas los triglicéridos llegan a hidrolizarse, liberando ácidos grasos y glicerol (Dave y Ghaly, 2011). Kontio (2017) reportó que, durante la fase de propagación, los radicales libres de peróxido forman hidroperóxidos en presencia de agua y oxígeno.

En los datos expresados en el Cuadro 14 se observó que los lípidos fueron uno de los parámetros mayormente afectados por la temperatura durante almacenamiento, ya que resultó un aumento de 5, 10 y 60 veces más de su valor inicial (0.049 meq/kg) a 25, 35 y 45 °C, respectivamente. De acuerdo a la NMX-F-154-SCFI-2010, existen 3 niveles de peroxidación en un alimento (Bajo, 6 meq/kg; medio, 50 meq/kg, y alto 100 meq/kg). De acuerdo a lo mencionado anteriormente, la harina de grillo se encuentra en niveles inferiores a lo denominado como rancidez baja (6 meq/kg).

Cuadro 14. Índice de peroxidación de lípidos de harina de grillo durante su almacenamiento.

Días	IP (meq/kg)		
	25 °C	35 °C	45 °C
0	0.049 ± 0.001 e	0.049 ± 0.001 e	0.049 ± 0.001 e
15	0.07 ± 0.002 e	0.10 ± 0.006 e	1.00 ± 0.124 d
30	0.11 ± 0.018 e	0.13 ± 0.015 e	1.67 ± 0.191 c
60	0.10 ± 0.013 e	0.14 ± 0.017 e	2.15 ± 0.152 bc
90	0.11 ± 0.017 e	0.30 ± 0.027 e	2.35 ± 0.298 b
120	0.23 ± 0.025 e	0.48 ± 0.038 e	2.94 ± 0.302 a

Los valores representan la media ± la desviación estándar. Cada valor con diferente letra indica diferencia significativa con la prueba de Tukey-Kramer con un nivel de confianza de 95 %. \* IP (índice de peroxidación).

### 6.6 Peroxidación de lípidos como indicador de degradación para una estimación de vida útil en harina de grillo

La vida útil de una harina depende mayoritariamente de la composición de la matriz utilizada, además del proceso de obtención, sus condiciones de almacenamiento y su empaque, normalmente, las harinas más comerciales son a base de cereales, de las cuales su vida útil oscila desde 1 a 2 años (Zhang *et al.*, 2019).

Aunado a lo anterior, al observarse una degradación mayor en el parámetro de peroxidación lipídica, éste permitió realizar una cinética de degradación para poder predecir su estabilidad durante almacenamiento. Considerando así la peroxidación lipídica como indicador de degradación, a partir de una regresión lineal en función del tiempo se describió el comportamiento en distintos órdenes, en donde, el de

mayor correlación fue en orden 0, con una correlación lineal de 0.93 entre la peroxidación lipídica y los días de almacenamiento (Cuadro 15).

A partir de la cinética de degradación se utilizó el modelo de Arrhenius para describir la relación entre la constante de degradación y la temperatura, en donde se logró observar que ésta incrementó 17.5 veces de 25 °C a 45 °C. También se calculó el valor de energía de activación que fue de 13,530 cal/mol. Basilio-Atencio y Paduro-Contreras (2021) mencionan que a mayores temperaturas la energía de activación se alcanza más rápidamente.

Cuadro 15. Cinéticas de degradación del índice de peroxidación de lípidos, energía de activación y ajuste del modelo.

<b>ORDEN 0</b>				
<b>(1/T°K- 1/300°k)</b>	<b>T °C</b>	<b>K</b>	<b>LN(K)</b>	
0.00002068	25	0.0012	-6.72543372	
-0.00008816	35	0.0034	-5.68397985	
-0.00019016	45	0.021	-3.86323284	
Regresión lineal	<b>EA/R</b>	13530 ± 2387		
	<b>EA</b>	26789.4 ± 4726.26		
	<b>R2</b>	0.93		

En base al Cuadro 16 y a lo reportado por el sistema meteorológico nacional para el estado de Querétaro, la temperatura promedio del estado es de 30 ± 4 °C. Asumiendo estas condiciones y utilizando el modelo anterior, se calculó la vida útil para la harina de grillo en años, considerando que ésta alcance un valor de rancidez baja (6 meq/kg; NMX-F-154-SCFI-2010) como un producto no perecedero.

De acuerdo a lo recomendado por Hough (2010) para estudios de vida útil en alimentos, se sugiere utilizar un intervalo de valores medio entre los valores obtenidos para poder asegurar la calidad y principalmente la seguridad del

consumidor, de tal manera que, la recomendación para harina de grillo sería de 2.7-5.5 años.

Cuadro 16. Estimación de vida útil para harina de grillo considerando un nivel bajo de peroxidación bajo como índice de deterioro.

Temperatura (°C)	Vida útil (días)	Vida útil (años)	IP (meq/kg)
25-30	4994.16 - 2362.68	13.6 - 6.4	6
31-35	2040.22 - 1145.24	5.5 - 3.1	6
36-40	993.61 - 568.11	2.7 - 1.5	6
41-45	495.11 - 274.94	1.3 - 0.7	6

\* IP (Índice de peroxidación)

## 6.7 Análisis de ácidos grasos durante almacenamiento

El perfil de ácidos grasos se ve influenciado por la alimentación del insecto, factores ambientales, las etapas de crecimiento e incluso en últimos estudios se ha encontrado que el método de matanza también puede influir en las concentraciones de los perfiles de ácidos grasos (Singh, 2020). Debido a que en el proceso térmico se observó una oxidación lipídica el objetivo fue determinar los cambios en los ácidos grasos durante almacenamiento.

Los principales ácidos grasos encontrados en la harina de grillo fueron del tipo poliinsaturados (AGPI), seguido de poliinsaturados:saturados (AGPI/AGS), saturados (AGS) y monoinsaturados (AGM) como los muestra el Cuadro 17, esta relación es acorde con lo reportado por otros autores (Mattila *et al.* 2001; Undomsil *et al.*, 2019; Singh, 2020). Algunos autores han reportado la presencia de ácidos con beneficios a la salud como el ácido afa-linoleico y docohexaenoico-DHA; sin embargo, en este estudio no se detectó (Mattila *et al.*, 2001 y Ghosh *et al.*, 2017).

Dentro de los ácidos grasos poliinsaturados reportados en nuestro estudio, el ácido linoleico representa el 64 % y el 34 % por el gamma-linoleico, sin embargo, éstos

disminuyeron en un 41 y 85 %, respectivamente, a través de 120 días de almacenamiento a 45 °C. En segundo lugar, se encontraron los ácidos grasos saturados, de los cuales el 41 % está representado por el ácido palmítico, un 38 % por ácido esteárico y cerca del 1.5 % por ácido laurico, ácido mirístico y 9-Hexadecanoico, observándose que durante el almacenamiento no presentaron diferencias estadísticas. Mientras que el estearato sufrió una degradación mayor del 41 % a 45 °C; siendo estas la más significativa para los ácidos grasos saturados.

Por otro lado, para los ácidos grasos monoinsaturados se encontró principalmente al ácido oleico, representando el 97 %, el cual a través del almacenamiento se degradó un 39 % a 45 °C. Finalmente también se encontró una fracción de ácidos grasos poliinsaturados:saturados (AGPI:AGS en la cual, se observó un aumento del 98 % a 25 °C y a partir de ahí una disminución del 15 % a 45 °C. Jeong-Kang *et al.* (2005) y Konti (2017) reportaron que una proporción alta de AGPI:AGS aumenta durante los procesos de oxidación, ya que los poliinsaturados son altamente susceptibles a la peroxidación lipídica. Retomando lo anterior, los niveles de peroxidación fueron altos durante su almacenamiento, por lo que, se podría sugerir que dicha oxidación está asociada a esa fracción AGPI:AGS Finalmente, los ácidos grasos presentes en harina de grillo *A. domesticus* mayoritariamente son de un perfil saludable. Ghosh *et al.*, 2017 mencionan que incluso son mejores en comparación con alimentos convencionales como pollo, cerdo y carne de res.

Cuadro 17. Concentración de ácidos grasos durante almacenamiento de harina de grillo, en el día 0 y 120.

Ácidos grasos	Composición (mg / g)			
	día 0	25 °C (120 días)	35 °C (120 días)	45 °C (120 días)
ácido laurico	1.03 ± 0.05 a	1.37 ± 0.69 a	0.28 ± 0.01 a	0.84 ± 0.82 a
Ácido mirístico	1.11 ± 0.01 a	1.82 ± 1.12 a	0.91 ± 0.09 a	0.68 ± 0.10 a
ácido palmítico	40.71 ± 1.91 a	33.89 ± 9.11 a	37.66 ± 1.77 a	28.84 ± 1.13 a
Ácido palmitoleico	1.00 ± 0.04 a	1.67 ± 0.04 a	0.99 ± 0.03 a	1.00 ± 0.34 a
Estearato	27.39 ± 1.50 a	26.35 ± 4.61 ab	23.86 ± 1.18 ab	16.77 ± 1.23 b
Ácido oleico	42.71 ± 2.69 a	32.65 ± 5.32 ab	36.85 ± 1.78 ab	26.56 ± 0.55 b
Ácido linoleico	83.78 ± 4.28 a	56.03 ± 9.07 ab	66.37 ± 2.48 b	49.68 ± 5.27 b
Gamma-linolenico	45.85 ± 3.04 a	9.10 ± 1.52 b	11.50 ± 1.37 b	7.19 ± 6.08 b
<b>AGS</b>	70.26 ± 3.36 a	63.46 ± 2.71 a	62.72 ± 3.04 a	47.15 ± 1.43 b
<b>AGM</b>	43.72 ± 2.74 a	34.32 ± 5.27 ab	37.84 ± 1.74 ab	27.57 ± 0.20 b
<b>AGPI</b>	129.64 ± 7.35 a	65.14 ± 10.60 b	77.88 ± 1.10 b	56.87 ± 11.36 b
<b>AGPI/AGS</b>	54.21 ± 0.46 a	98.37 ± 11.83 ab	80.51 ± 2.76 ab	84.34 ± 14.31 b

Los valores representan la media ± la desviación estándar. Cada valor con diferente letra indica diferencia significativa con la prueba de Tukey-Kramer con un nivel de confianza de 95 %. AGS: ácidos grasos saturados, AGM: ácidos grasos monoinsaturados, AGPI: ácidos grasos poliinsaturados, AGPI:AGS: relación ácidos grasos poliinsaturados y saturados.

### 6.8 Determinación de la capacidad antioxidante de harina de grillo durante almacenamiento.

Una de las principales características funcionales de mayor interés en los alimentos es la capacidad de inhibir los procesos oxidativos de los mismos.

De acuerdo al Cuadro 18, se observó que el efecto de la temperatura sobre la capacidad antioxidante disminuyó desde un 44.36 hasta un 79.25 % para el radical DPPH y de 50.1 hasta 89.28 % para el radical ABTS. Algunos autores han reportado valores más altos en capacidad antioxidante, pero estos efectos se han atribuido a fracciones peptídicas que en la proteína misma (Del hierro *et al.*, 2018). Sin embargo, en la harina de grillo posiblemente no se encuentren péptidos y los

compuestos antioxidantes sean de naturaleza diferente. Estos resultados sugieren que los compuestos antioxidantes presentes en la harina son termosensibles y que estos se pueden perder de manera importante a partir de dos meses de almacenamiento a la temperatura más baja evaluada en este estudio.

Cuadro 18. Capacidad antioxidante durante almacenamiento de harina de grillo en 3 temperaturas diferentes.

		Días de almacenamiento					
mg trolox/ g	T °C	0	15	30	60	90	120
DPPH	25	26.40 ± 4.18 a	23.11 ± 2.76 ab	20.08 ± 0.22 abc	22.32 ± 2.73 ab	17.72 ± 1.59 bc	14.69 ± 2.56 c
	35	26.40 ± 4.18 a	26.93 ± 5.24 a	19.56 ± 1.04 a	9.69 ± 0.63 b	8.90 ± 2.76 b	5.61 ± 0.45 b
	45	26.40 ± 4.18 a	19.43 ± 2.37 ab	17.19 ± 1.04 b	15.35 ± 0.91 b	6.40 ± 2.31 c	5.48 ± 2.37 c
ABTS	25	32.16 ± 0.70 a	23.08 ± 1.77 b	19.65 ± 0.86 bc	19.32 ± 1.71 bc	16.78 ± 2.04 c	16.05 ± 1.35 c
	35	32.16 ± 0.70 a	18.91 ± 0.61 b	18.89 ± 2.40 b	13.10 ± 1.10 c	7.46 ± 1.35 d	7.22 ± 1.23 d
	45	32.16 ± 0.70 a	14.17 ± 1.69 b	12.45 ± 1.94 b	12.20 ± 0.42 b	5.99 ± 1.21 c	3.45 ± 1.81 c

Los valores representan la media ± la desviación estándar. Cada valor con diferente letra indica diferencia significativa con la prueba de Tukey-Kramer con un nivel de confianza de 95 %.  
\* T (Temperatura).

### 6.9 Desarrollo de una galleta fortificada con harina de grillo

La cantidad de productos elaborados con harina de grillo ha aumentado a nivel mundial, teniendo su principal mercado en el continente europeo con productos desde panificación hasta bebidas (Pino-Cebrián, 2018). Sin embargo, un reto en el desarrollo de estos productos son aquellos libres de gluten.

En este estudio se elaboraron galletas libres de gluten en donde, en la primera etapa se utilizó harina de cereales con gluten y sin gluten, se realizaron ensayos previos de dureza para poder determinar la elección de los ingredientes principales como harina, grasa y azúcares. Una vez que se obtuvo la formulación base se trabajó en la elección de sustituto de grasa.



La sustitución de grasa dentro de productos alimenticios es algo que constantemente se ha estudiado en diversos productos. Para procesos de panificación se ha reportado que la sustitución de grasas afecta principalmente los parámetros de textura, uno de los principales atributos de calidad evaluados por los consumidores (González-Álvarez y Valencia-García, 2013).

En el Cuadro 19 se observa que, al cambiar la mantequilla por un sustituto de grasa, la dureza de la galleta aumentó hasta 2.43 veces más su valor inicial, tal como se muestra en una sustitución al 20 %, principalmente esto se observó en aquellas galletas que contenían gluten, ya que, a mayor proporción del sustituto de grasa, la dureza aumentaba considerablemente. Las galletas elaboradas con harina de cereales con gluten presentaron una mayor dureza que una galleta con harina sin gluten.

Cuadro 19. Dureza de las galletas elaboradas con y sin gluten a través del punto de quiebre con mantequilla y sustituto de grasa.

	Contenido de mantequilla o sustituto de grasa (g)	Dureza de galleta con mantequilla (Newtons)	Dureza de galleta con sustituto de grasa (Newtons)
Galletas con gluten	10	24.33 ± 0.33 b	69.89 ± 0.85 b
	15	40.25 ± 2.91 a	65.75 ± 4.19 b
	20	42.26 ± 1.51 a	102.71 ± 1.10 a
Galletas sin gluten	10	54.28 ± 3.95 a	38.92 ± 1.17 b
	15	24.63 ± 1.53 b	60.31 ± 2.52 ab
	20	13.16 ± 0.41 c	62.45 ± 2.52 a

Los valores representan la media ± la desviación estándar. Cada valor con diferente letra indica diferencia significativa con la prueba de Tukey-Kramer con un nivel de confianza de 95 %.

Hadnadev *et al.* (2013) reportaron que en niveles bajos de agua y de grasa, se puede presentar un desarrollo limitado en la red de gluten, la cual tiene un papel muy importante en productos horneados ya que permite la captación de dióxido de

carbono. Drabinska *et al.* (2016) reportan que la ausencia de gluten dificulta la obtención de una textura crujiente y aceptable, lo cual, a su vez, también suele repercutir en la expansión final de la galleta.

De acuerdo al análisis realizado, en galletas comerciales se encontró que la dureza ideal esperada podría ser desde los 32 a 60 Newtons (Cuadro 20). Estos valores corresponden a galletas comerciales como Quaker avena, polvorones Tía Rosa y una galleta convencional de panadería. Con estos resultados se determinó que alrededor del 10 % de grasa o sustituto puede ser la mejor concentración para una dureza recomendada en galleta.

Cuadro 20. Dureza a través del punto de quiebre en galletas comerciales.

Dureza (Newtons)				
Galletas de panadería	Avena y amaranto	Con azúcar	sin gluten	Con avena
	31.61 ± 4.45	25.67 ± 4.14	17.32 ± 1.41	32.52 ± 0.23
Quaker / avena			61.76 ± 1.65	
Polvorón Tía Rosa			43.67 ± 5.02	
Pastiseta			5.69 ± 0.39	
Galleta maría			14.29 ± 4.66	
Galleta vegana (Taifeld's)			16.46 ± 4.41	
Galletas integrales (Taifeld's)			28.64 ± 2.18	

Los valores representan la media ± la desviación estándar.

#### 6.10 Incorporación de edulcorante no calórico en la formulación de la galleta

Se realizaron pruebas con edulcorantes a base de agave (CAROMAX) y fruto del monje, sin embargo, estos aportaron un sabor amargo y desagradable para la galleta en combinación con el grillo.

Posteriormente, se llevó a cabo la evaluación de la mezcla de edulcorantes compuesto de Stevia-alulosa en harina sin gluten y con sustituto de grasa al 10%. Para la determinación de la concentración de edulcorantes se realizó un estudio sensorial de aceptabilidad general, en donde se observó que cerca del 50 % de los panelistas prefirió una concentración de stevia de 0.06 g con 14.70 % alulosa, siendo ésta la concentración elegida para los siguientes ensayos (Figura 6). Por otro lado, algunos de los comentarios realizados por los panelistas fueron que consideraban que ésta concentración del dulzor era el más adecuado para la galleta. El acuerdo de aditivos en el 2016 propuso a la alulosa como una pseudofructosa, que imparte sabor dulce, no tiene aporte calórico, no es metabolizado y, que, al ser un monosacárido no es considerado como aditivo alimentario sino como ingrediente alimentario (DOF, 2016).

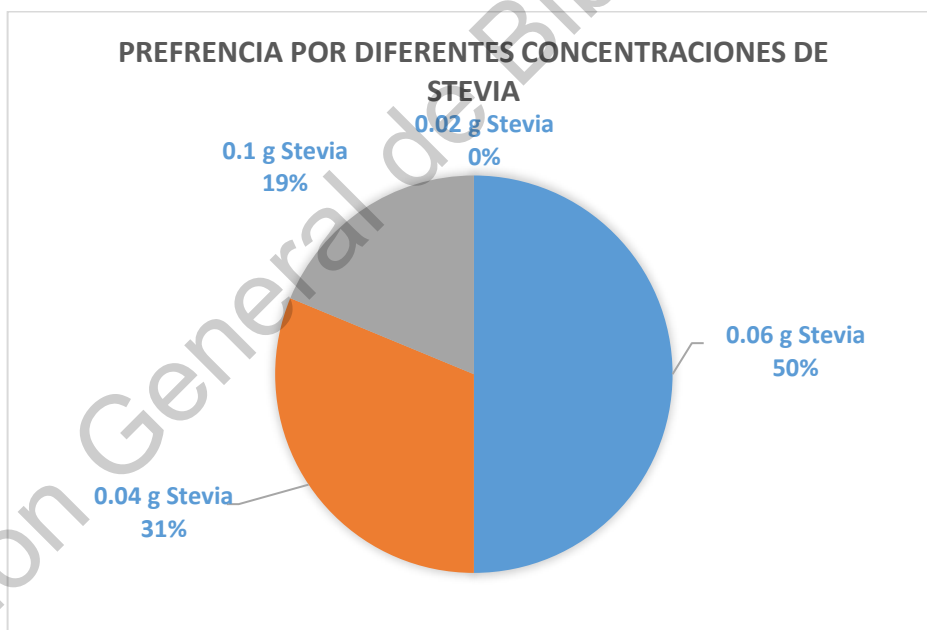


Figura 6. Preferencia por los panelistas de galletas elaboradas con diferentes concentraciones de stevia y 14.7 g de alulosa. La galleta contenía harina libre de gluten y el sustituto de grasa al 10 %.

## 6.12 Adición de harina de grillo en las formulaciones de galleta

De acuerdo al estudio reportado por Ardoin *et al.* (2021) reportaron que una serie de panelistas evaluaron la aceptabilidad de galletas saladas elaboradas con harina de trigo y harina de grillo de dos variedades y obtuvieron que a mayor adición de grillo éstas obtenían mayor dureza y, por consiguiente, menor aceptabilidad. Es por ello que en este estudio se realizaron mediciones de dureza en las galletas elaboradas con 3 concentraciones diferentes de grillo, observándose que a medida que la concentración aumenta dentro de la formulación, la dureza en la galleta aumentó 2 veces más, como en el caso de la formulación con gluten, sustituto de grasa, azúcar y 10 % harina de grillo (Cuadro 21 y 22). Este resultado podría deberse al aumento en proteína y, a su vez, a la disminución de la harina con gluten, ya que algunos autores han reportado que la sustitución de proteínas diferentes al gluten no participan en la formación redes fuertes, dando como resultado en la fase de mezcla una baja elasticidad, poca retención de agua, extensibilidad y, a su vez, mayor dificultad para su formación (Pasqualone *et al.*, 2017; Osimani *et al.*, 2018).

Al remplazar la mantequilla por el sustituto de grasa (Figura 7), la galleta elaborada tiende a aumentar su dureza; dicho efecto fue mayor en galletas elaboradas con harinas con gluten comparadas a las de sin gluten (Cuadros 21 y 22). Esto podría deberse a que gran parte de la estructura de las redes de gluten se dan por la interacción proteína-lípido. Por otra parte, Cauvain y Young (2007) mencionan que una sustitución de grasa en panificación modifica la masticabilidad y la dureza de los productos.

Por otro lado, respecto a la sustitución de azúcar por el edulcorante no calórico se observó que la dureza del producto se vio considerablemente disminuida; esto podría ser a que existió una mayor expansión del horneado. Osimani *et al.*, (2018) menciona las principales funciones del azúcar en productos horneados es el retraso de la gelatinización del almidón.

Por lo tanto, una galleta con gluten tendrá una dureza mayor que una galleta sin gluten por la difícil o nula formación de sus redes de gluten. Sin embargo, al añadir la harina de grillo dentro de su formulación, dicha dureza se incrementó. En algunos casos, incluso fue demasiado alta. Por ejemplo, en el caso de la formulación con gluten, sustituto de grasa y azúcar se alcanzó hasta 138.47 N al adicionar el 10 % de harina de grillo, saliendo del rango ideal esperado discutido en el apartado 6.9. Debido al punto anterior, se decidió eliminar el 10 % de harina grillo para la siguiente etapa; además, un aumento en la cantidad de harina en la formulación incrementaría el costo del producto.

Cuadro 21. Dureza a través del punto de quiebre en galletas con gluten en 3 niveles de adición de harina de grillo.

<b>Grillo (g)</b>	<b>Mantequilla + azúcar (N)</b>	<b>Sustituto + azúcar (N)</b>	<b>Mantequilla + edulcorante (N)</b>	<b>Sustituto + edulcorante (N)</b>
0	11.66 ± 1.11 b	69.89 ± 0.85 b	8.10 ± 0.17 d	7.37 ± 0.28 d
5	32.95 ± 3.18 a	45.37 ± 3.48 c	9.49 ± 0.51 c	7.79 ± 0.14 c
7.5	34.18 ± 2.91 a	73.38 ± 3.25 b	10.16 ± 0.09 b	9.17 ± 0.13 b
10	35.72 ± 2.85 a	138.47 ± 10.2 a	12.16 ± 0.33 a	10.36 ± 0.16 a

Los valores representan la media ± la desviación estándar. Cada valor con diferente letra indica diferencia significativa con la prueba de Tukey-Kramer con un nivel de confianza de 95 %.

Cuadro 22. Dureza a través del punto de quiebre en galletas sin gluten en 3 niveles de adición de harina de grillo.

<b>Grillo (g)</b>	<b>Mantequilla + azúcar (N)</b>	<b>Sustituto + azúcar (N)</b>	<b>Mantequilla + edulcorante (N)</b>	<b>Sustituto + edulcorante (N)</b>
0	11.91 ± 0.93 c	34.42 ± 1.17 ab	3.99 ± 0.28 c	4.33 ± 0.09 c
5	12.57 ± 1.91 c	16.10 ± 1.66 c	5.24 ± 0.19 b	5.39 ± 0.73 b
7.5	23.33 ± 2.39 b	32.92 ± 2.27 b	5.60 ± 0.22 b	8.66 ± 0.11 a
10	30.62 ± 2.86 a	38.68 ± 3.53 a	7.22 ± 0.54 a	9.47 ± 0.58 a

Los valores representan la media ± la desviación estándar. Cada valor con diferente letra indica diferencia significativa con la prueba de Tukey-Kramer con un nivel de confianza de 95 %.

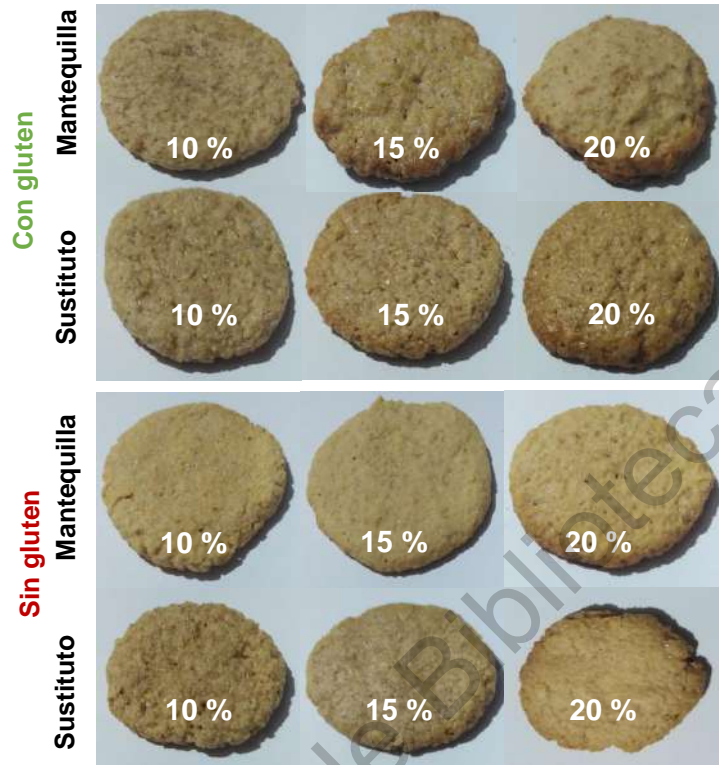


Figura 7. Fotografías de las galletas elaboradas con y sin gluten en tres proporciones diferentes de mantequilla y sustituto de grasa.

### 6.13 Evaluación sensorial de la formulación de galletas con harina de grillo

Evaluar la preferencia del consumidor en un alimento es uno de los procedimientos más utilizados para determinar la aceptabilidad de un producto.

El grupo de panelistas utilizado fue conformado por 57 % mujeres y un 43 % hombres desde 20 hasta 34 años de edad, en donde se encontró que 82 % ha consumido insectos, principalmente chapulines con un 52 %, seguido de el grillo con un 22 % y con menor porcentaje de hormigas y gusanos 14 y 12 % respectivamente.

De acuerdo al Cuadro 23, la galleta elaborada con la formulación control (gluten, mantequilla y azúcar) sin harina de grillo obtuvo una aceptabilidad general de 6.5 puntos, en donde lo más gustado por los panelistas fue el color, seguido del olor y el sabor con 6.5 puntos ambos. Sin embargo, lo que menos gusto fue la textura de las galletas; al incorporar al grillo se observó que la aceptabilidad general no se vio afectada tanto en concentración de 5 como 7.5 g con harina de grillo. No obstante, se observó que a mayor concentración de grillo el olor y el color les agradaban menos; mientras tanto, el sabor y la textura les resultó más agradable a mayor concentración.

Al elaborar una galleta sin gluten manteniendo a la mantequilla y azúcar presentes en su formulación se observó que, una formulación para galletas incluya o no gluten, no representa un factor de importancia para su aceptabilidad general contrario a lo mencionado por Drabinska *et al.* (2016). Sin embargo, al añadir harina de grillo se observó una disminución en la puntuación de cada uno de los factores medidos (olor, color, sabor y textura).

Por otro lado, al sugerir una galleta alternativa que no incluya gluten, sustituto de grasa y edulcorante no calórico; se observó una aceptabilidad general de 5.58 puntos en donde, lo menos gustado fue la textura y el sabor. El color y el olor no mostraron mayor diferencia con respecto a las formulaciones anteriores; sin embargo, a medida que se añadía harina de grillo a la formulación, el factor más afectado por su puntuación fue la textura de las galletas, así como el olor, sabor y color. Las galletas elaboradas con el sustituto de grasa fueron las menos gustadas por los panelistas.

Al término de la evaluación sensorial, se realizaron una serie de preguntas en donde, el 90 % de los panelistas consumiría alimentos que dentro de su formulación incluyan insectos. Sin embargo, los comentarios más recurrentes de los panelistas expresaron que les gustaría una galleta más crujiente, que dentro de la formulación se pudiera mejorar el aroma, un sabor menos intenso, colores más claros y que les gustaría que se pudieran incorporar más ingredientes en las galletas. Biró *et al.*

(2020) reportaron valores de aceptabilidad general en galletas saladas enriquecidas con grillo inferiores a 6.57 puntos a medida que aumentaba la adición del grillo. Es por ello que se decidió reformular la galleta elaborada sin grillo para lograr satisfacer a los consumidores y retirar el sustituto de grasa, mejorando las puntuaciones de aceptabilidad general.

Cuadro 23. Evaluación sensorial en 9 puntos de aceptabilidad para la formulación de una galleta elaborada con harina de grillo.

	<b>Galleta control</b> (con gluten, mantequilla, azúcar)			<b>Galleta sin gluten</b> (sin gluten, mantequilla, azúcar)			<b>Galleta alternativa</b> (sin gluten, sustituto de grasa, edulcorante)		
	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>7.5</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>7.5</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>7.5</b>
Grillo (%)									
Aceptabilidad general	<b>6.5</b>	<b>6.2</b>	<b>6.56</b>	<b>6.48</b>	<b>6.2</b>	<b>5.7</b>	<b>5.58</b>	<b>4.9</b>	<b>4.66</b>
Olor	6.52	6.14	5.78	6.12	5.88	5.94	6.38	5.48	5.34
Color	6.78	5.64	5.34	7.22	5.98	5.44	7.18	6.30	5.12
Sabor	6.54	6.72	6.94	6.18	6.24	5.78	5.44	4.70	4.68
Textura	5.84	5.78	6.8	6.48	5.82	5.56	5.06	4.46	4.8

#### 6.14 Evaluación sensorial para mejorar la formulación inicial incluyendo más ingredientes

De acuerdo a lo escrito en el apartado anterior se decidió realizar una reformulación de la galleta control (sin grillo y con gluten), en donde se incluyeron 6 sabores diferentes; para poder elegir el de mayor aceptabilidad. Se incluyeron arándano-canela, cocoa-canela, cocoa-avena, cocoa-café, limón y linaza-nuez.

De acuerdo al Cuadro 24 el sabor de mayor aceptabilidad general fue elaborado con arándano-canela alcanzando 1 punto más de aceptabilidad a lo obtenido con anterioridad; en donde, gustó más el sabor, la textura y el color. Por lo tanto, el efecto que puede tener un sabor o ingrediente adicional sobre una formulación base, resultó ser muy importante para el gusto del consumidor; además



el factor visual y aromático que pueden incluir ingredientes como el arándano, resulta ser más agradable y llamativo a los panelistas, según mencionaron en sus comentarios.

Cuadro 24. Evaluación sensorial en 9 puntos de aceptabilidad para la formulación de una galleta elaborada con gluten adicionando sabores diferentes.

	<b>Arándano-canela</b>	<b>Cocoa – canela</b>	<b>Cocoa – avena</b>	<b>Cocoa – café</b>	<b>Limón</b>	<b>Linaza - nuez</b>
Muestra	100	555	301	170	324	946
Aceptabilidad general	7.5	6.7	6.4	6.1	5.0	7.0
Olor	6.7	6.2	6.2	6.5	5.2	6.5
Color	7.0	6.7	6.6	6.5	6.0	6.5
Sabor	7.7	6.2	6.6	6.3	4.7	7.0
Textura	7.2	6.3	6.3	6.0	5.1	6.9

### **6.15 Evaluación sensorial de la formulación final de galleta adicionada con harina de grillo**

En esta última evaluación sensorial el 66 % fueron mujeres y el 34 % hombres desde 20 hasta 34 años de edad. Los resultados del análisis estadístico fueron muy similar al primer sensorial realizado, observándose que el 80 % de los panelistas han consumido alguna vez insectos, posicionándose con el 51 % los chapulines, 30 % grillo, 10 % hormigas y 9 % gusanos. Por otro lado, se observó que en esta ocasión el gluten no influyó sobre la percepción de aceptabilidad general sin grillo. De acuerdo al Cuadro 25, se puede observar que a medida que se adiciona el grillo la aceptabilidad disminuye, los atributos menos gustados a partir de la adición del grillo fue el sabor y el color.

En las galletas elaboradas sin gluten, con mantequilla y edulcorante, se observó una disminución en la aceptabilidad de 0.5 puntos en comparación con la galleta control, gran parte de dicha disminución fue otorgada por el sabor, el cual disminuyó 0.8 puntos. Por otra parte, a medida que la proporción de grillo aumentaba la aceptabilidad no se vio afectada como se venía observando anteriormente, esto podría ser en gran parte a que al panelista no se percató de las diferencias.

De manera general, la textura de las galletas mejoró en esta evaluación y podría decirse que el panelista no observó una diferencia tan notoria en todas las galletas; sin embargo, algunos de los comentarios realizados por los panelistas fueron acerca de la crujencia, en donde les agradaría que fuera mayor. Finalmente, el 97 % de los panelistas si consumiría alimentos que dentro de su formulación incluyan insectos.

Cuadro 25. Evaluación sensorial en 9 puntos de aceptabilidad para la formulación final de una galleta elaborada con harina de grillo

	<b>Galleta control</b> (con gluten, mantequilla, azúcar)			<b>Galleta sin gluten</b> (sin gluten, mantequilla, azúcar)			<b>Galleta alternativa</b> (sin gluten, mantequilla, edulcorante)		
	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>7.5</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>7.5</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>7.5</b>
Grillo (%)									
Aceptabilidad general	<b>7.4</b>	<b>7.0</b>	<b>6.8</b>	<b>7.5</b>	<b>7.0</b>	<b>6.9</b>	<b>6.9</b>	<b>6.7</b>	<b>7.0</b>
Olor	7.3	7.3	7.0	7.2	7.0	6.9	7.0	7.0	7.4
Color	7.3	6.8	6.5	7.4	6.9	6.7	7.2	7.0	7.1
Sabor	7.5	7.2	6.8	7.0	6.8	6.7	6.7	6.5	7.0
Textura	6.2	6.7	6.4	6.8	7.0	6.6	6.6	6.6	6.1

### 6.16 Evaluación proximal de la formulación final de galletas adicionadas con harina de grillo

De acuerdo al contenido proximal, se encontró que la adición de grillo aumentó cerca de un 2 % su aporte de proteína en todas las galletas frente a la galleta control e incluso a la adicionada con mantequilla y azúcar. La cantidad de grasa se mantuvo

en un rango entre un 9.1 a un 11.5 %, siendo ligeramente mayor en la galleta alternativa (Cuadro 26). La adición de harina de grillo como ingrediente en la formulación de galletas favoreció al enriquecimiento del producto, frente a otro tipo de harinas utilizadas en panificaciones, generalmente elaboradas a base de trigo (NOM-086-SSA1-1994; Capelli *et al.*, 2020).

Cuadro 26. Contenido proximal de las galletas elaboradas con harina de grillo de la formulación final.

Muestras	Grillo (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Cenizas (%)	Carbohidratos (%)
<b>Galleta control</b> (con gluten, mantequilla, azúcar)	0	12.2 ± 0.7	9.1 ± 0.1	1.6 ± 0.0	76.2 ± 0.5
	5	14.0 ± 0.1	10.3 ± 0.0	1.3 ± 0.4	74.2 ± 0.5
	7.5	14.1 ± 0.7	9.9 ± 0.1	1.6 ± 0.2	75.0 ± 1.0
<b>Galleta sin gluten</b> (sin gluten, mantequilla, azúcar)	0	12.5 ± 0.9	10.1 ± 0.1	1.0 ± 0.1	76.2 ± 1.1
	5	14.7 ± 0.3	10.9 ± 0.0	1.7 ± 0.1	72.4 ± 0.3
	7.5	15.1 ± 0.5	11.6 ± 0.4	1.9 ± 0.0	71.2 ± 0.9
<b>Galleta alternativa</b> (sin gluten, mantequilla, edulcorante)	0	13.4 ± 0.4	10.8 ± 0.7	2.0 ± 0.0	73.6 ± 0.3
	5	13.4 ± 0.3	11.3 ± 0.7	2.3 ± 0.4	72.9 ± 0.1
	7.5	14.3 ± 0.7	11.5 ± 0.1	1.8 ± 0.0	72.1 ± 0.6

Los valores representan la media ± la desviación estándar.

Por otro lado, al realizar una comparación con otro tipo de productos existentes en el mercado que ya incluyen insectos dentro de su formulación, se observó que el aporte de proteína en las galletas elaboradas fue incluso hasta 3.7 veces más comparado con otros productos como Bitty food y de 1.2 comparado con Gricha; mientras tanto, el contenido de grasa fue menor hasta de 2.6 veces comparado con Little foods (Cuadro 27).

Cuadro 27. Valores de referencia para galletas elaboradas con harina de grillo comerciales nacionales e internacionales.

Marca	Galletas comerciales		
	Gricha	Little foods	Bitty foods
Proteína (g/100 g)	12.5	10	4
Grasa (g/100 g)	16.4	21	15

#### 6.17 Determinación de dureza en galletas elaboradas con harina de grillo de la formulación final

De acuerdo al Cuadro 28, a medida que la proporción de grillo aumenta en la formulación, la dureza de la galleta aumenta, ya sea con gluten o sin gluten; desde 16.1 hasta 57.6 N. Sin embargo, en presencia de gluten la dureza es mayor, como ya se mencionaba anteriormente, esto debido a la sustitución de la harina base, la cual dificulta la formación de redes de gluten (Pasqualone *et al.*, 2017; Osimani *et al.*, 2018). Todas las galletas elaboradas se encontraron dentro de la dureza ideal planteada para este proyecto (32 a 60 N).

Cuadro 28. Dureza de las galletas elaboradas con harina de grillo de la formulación final.

	<b>Grillo (%)</b>	<b>Dureza (Newtons)</b>
<b>Galleta control</b> (Con gluten, mantequilla, azúcar)	0	34.2 ± 3.9
	5	36.3 ± 2.0
	7.5	57.6 ± 3.0
<b>Galleta sin gluten</b> (Sin gluten, mantequilla, azúcar)	0	21.6 ± 1.8
	5	25.5 ± 0.8
	7.5	36.3 ± 3.5
<b>Galleta alternativa</b> (Sin gluten, mantequilla, edulcorante)	0	16.1 ± 1.0
	5	22.3 ± 2.5
	7.5	31.2 ± 2.7

Los valores representan la media ± la desviación estándar.

#### 6.18 Determinación de la capacidad antioxidante de la formulación final en galletas elaboradas con harina de grillo

La capacidad antioxidante incrementó con la adición de harina de grillo, lo cual resulta de la presencia de compuestos activos en ella, en este caso se observa un aumento en más de 1 unidad su capacidad antioxidante para ambos radicales (Cuadro 29). En comparación con otros estudios en grillo se pueden observar diversas variaciones, las cuales pueden deberse al método de obtención tanto de la harina como del producto (Zielinska *et al.*, 2018). Aunado a ello, dichos autores también mencionaron que su actividad antioxidante al menos en el insecto es debido a fracciones de péptidos bioactivos específicos, además de ello se asocia con compuestos fenólicos (del Hierro *et al.*, 2018).

Cuadro 29. Capacidad antioxidante de las galletas elaboradas con harina e grillo de la formulación final.

Muestras	Grillo (%)	mg trolox/g	
		DDPH	ABTS
<b>Galleta control</b> (con gluten, mantequilla, azúcar)	0	10.21 ± 2.56 b	5.83 ± 0.88 a
	5	14.56 ± 1.59 ab	8.12 ± 0.78 a
	7.5	15.61 ± 1.36 a	9.59 ± 2.46 a
<b>Galleta sin gluten</b> (sin gluten, mantequilla, azúcar)	0	12.98 ± 1.82 a	4.35 ± 0.84 b
	5	14.69 ± 4.55 a	5.42 ± 1.13 b
	7.5	16.53 ± 1.49 a	15.88 ± 2.54 a
<b>Galleta alternativa</b> (sin gluten, mantequilla, edulcorante)	0	8.24 ± 0.45 c	5.58 ± 0.42 b
	5	13.50 ± 2.02 b	10.24 ± 1.06 a
	7.5	17.06 ± 1.13 a	12.45 ± 1.94 a

Los valores representan la media ± la desviación estándar. Cada valor con diferente letra indica diferencia significativa con la prueba de Tukey-Kramer con un nivel de confianza de 95 %.

## 7. Conclusiones.

En el estudio de estabilidad en harina de grillo los indicadores de parámetros microbiológicos medidos se mantuvieron muy estables. Sin embargo, su  $A_w$  mostró diferencias estadísticas a 25 y 45 °C, a pesar de ello, no se vio afectado su pH ni su color.

Por otro lado, se observó un aumento en la oxidación de proteínas a 45 °C; a pesar de que una proteína oxidada llega a perder su funcionalidad, en este estudio no se vio afectada su digestibilidad, solubilidad y absorción. Así mismo, uno de los parámetros más afectados por la temperatura fue la oxidación de lípidos ya que a 45 °C se observó la mayor peroxidación, de acuerdo al estudio en la identificación de los ácidos grasos durante almacenamiento los de mayor presencia fueron ácidos grasos poliinsaturados los cuales son muy susceptibles oxidarse y degradarse, en donde el de mayor degradación fue el gamma linoleico; esto nos indicó que el perfil lipídico es uno de los principales índices de deterioro en harina de grillo.

Al incorporar harina de grillo en galletas, el mayor reto fue la elaboración de aquellas libres de gluten; sin embargo, debido a la adición de harina de grillo fue posible lograr una dureza similar a galletas que ya son comerciales. Al tratar de adicionar un sustituto de grasa se vio afectada su aceptabilidad sensorial, por lo cual no se consideró como alternativa dentro de la formulación. La harina de grillo permitió aumentar el contenido proteico en galletas con y sin gluten, además de ofrecer un contenido menor de grasa comparado con otro tipo de galletas comerciales a base de insectos. Evidentemente el aporte nutricional de las galletas elaboradas en el presente proyecto fue superior a lo comercial; aunado a esto, el ofrecer este tipo de productos al consumidor podría enriquecer de proteínas la dieta de las personas sensibles al gluten, además de ofrecer una alternativa en la inclusión de insectos en nuestra alimentación.

## 7. Referencias

AOAC. Official Method of Analysis. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA (1990).

Ardoin, R. y Prinyawiwatkul, W. (2020). Product appropriateness, willingness to try, and perceived risks of foods containing insect protein powder: a survey of US consumers. *International Journal of Food Science & Technology*, 55, 3215-3226.

Ardoin, R., Marx, B. D., Boeneke, C., y Prinyawiwatkul, W. (2021). Effects of cricket powder on selected physical properties and US consumer perceptions of whole-wheat snack crackers. *International Journal of Food Science & Technology*, 56, 23-28.

Aquilino, A., Masiá, M., López, P., Galiana, A. J., Tovar, J., y Andrés, M. Gutiérrez, F. (2015). First human systemic infection caused by spiroplasma. *Journal of Clinical Microbiology*, 53, 719-721.

Avilés-Gaxiola, S., Chuck-Hernández, C., Rocha-Pizaña, M., del R., García-Lara, S., López-Castillo, L. M. y Serna-Saldívar, S. O. (2018). Effect of thermal processing and reducing agents on trypsin inhibitor activity and functional properties of soybean and chickpea protein concentrates. *Food Science and Technology*, 98, 629-634.

Ayieko, M. A., Ogola, H. J. y Ayieko, I. A. (2016). Introducing rearing crickets (*Gryllids*) at household levels: adoption, processing and nutritional values. *Journal of Insects as Food and Feed*, 2(3), 203-211.

Balzan, S., Fasolato, L., Maniero, S. y Novelli, E. (2016). Edible insects and young adults in a north-east Italian city an exploratory study. *British Food Journal*, 118 (2), 318-326.



Barton, A., Richardson, C. D. y McSweeney, M. B. (2020). Consumer attitudes toward entomophagy before and after evaluating cricket (*Acheta domesticus*) based protein powders. *Journal of Food Science*, 1, 2-8.

Basilio-Atencio, J. E., y Paduro-Contreras, A. (2021). Evaluación de la estabilidad por pruebas aceleradas, de la cáscara de camu camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh) secada por aire caliente. *Revista de investigación Agropecuaria Science and Biotechnology*, 1(2). 6.

Bawa, M., Songsermpong, S., Kaewtapee, C. y Chanput, W. (2020). Effect of diet on the growth performance, feed conversion, and nutrient content of the house cricket. *Journal of Insect Science*, 20 (2), 10.

Birman, T., Raften, G., y Lesmes, U. (2018). Effects of thermal treatments on the colloidal properties, antioxidant capacity and in-vitro proteolytic degradation of cricket flour. *Food Hydrocolloids*, 79, 48-54.

Biró, B., Sipos, M. A., Kovács, A., Badak-Kerti, K., Pásztor-Huszár, K., y Gere, A. (2020). Cricket-Enriched Oat Biscuit: Technological Analysis and Sensory Evaluation. *Foods*, 9(11), 1561.

Cappelli, A., Oliva, N., Bonaccorsi, G., Lorini, C. y Cini, E. (2020). Assessment of the rheological properties and bread characteristics obtained by innovative protein sources (*Cicer arietinum*, *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor*): Novel food or potential improvers for wheat flour?. *Food Science and Technology*, 118, 17-29.

Caparros Megido, R., Desmedt, S., Blecker, C., Béra, F., Haubruge, É., Alabi, T. y Francis, F., (2017). Microbiological load of edible insects found in Belgium. *Insects* 8, 12.

Cauvain, S.P, Young, L.S. (2007). *Technology in Breadmaking*. (2da Ed.) Springer Science. 285-286 p.

Dave, D. y Ghaly, A. E. (2011). Meat spoilage mechanisms and preservation techniques: a critical review. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 6(4), 486-510.

Da Rosa Machado, C., y Thys, R. C. S. (2019). Cricket powder (*Gryllus assimilis*) as a new alternative protein source for gluten-free breads. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 56, 102180.

Díaz-Acosta, A. E. y Membrillo-Hernández, J. (2006). Consecuencias fisiológicas de la oxidación de proteínas por carbonilación en diversos sistemas biológicos. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 9(1), 34-44.

D. Birman, T., Raften, G. y Lesmes, U. (2018). Effects of thermal treatments on the colloidal properties, antioxidant capacity and in-vitro proteolytic degradation of cricket flour. *Food Hydrocolloids*, 79, 48-54.

De la Horra, A. E., Seghezzo, M. L., Molfese, E., Ribotta, P. D. y León, A. E. (2012). Indicadores de calidad de las harinas de trigo: índice de calidad industrial y su relación con ensayos predictivos. *Agriscientia*, 29(2), 81-89.

Del Hierro, J. N., Gutiérrez-Docio, A., Otero, P., Reglero, G., y Martín, D. (2020). Characterization, antioxidant activity, and inhibitory effect on pancreatic lipase of extracts from the edible insects *Acheta domesticus* and *Tenebrio molitor*. *Food Chemistry*, 309, 125742.

Di Cairano, M., Galgano, F., Tolve, R., Caruso, M. C., y Condelli, N. (2018). Focus on gluten free biscuits: Ingredients and issues. *Trends in Food Science & Technology*, 81, 203-212.

Drabińska, N., Zieliński, H., y Krupa-Kozak, U. (2016). Technological benefits of inulintype fructans application in gluten-free products – a review. *Trends in Food Science & Technology*, 56, 149–157.

DOF, Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y sus disposiciones

sanitarias. Publicado en el Diario Oficial de la Federación (DOF) el da 16 de mayo 2016 y sus subsecuentes a la fecha notificadas en la página de la comisión federal para la protección contra riesgos sanitarios (COFEPRIS) recuperado el 12 de octubre del 2021 de : [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5259470&fecha=16/07/2012](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5259470&fecha=16/07/2012)

Duda, A., Adamczak, J., Chelmińska, P., Juskiewicz, J. y Kowalczewski, P. (2019). Quality and nutritional/textural properties of durum wheat pasta enriched with cricket powder. *Foods*, 8, 46.

Eilenberg, J., Vlak, J. M., Nielsen-LeRoux, C., Cappelozza, S. y Jensen, A. B. (2015). Diseases in insects produced for food and feed. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1, 87-102.

European Commission (EC), (2005). Commission Regulation (EC) No. 2073/2005 microbiological criteria for foodstuffs. *Official Journal of the European Union L*, 338, 1-26.

Fasolato, L., Cardazzo, B., Carraro, L., Fontana, F., Novelli, E. y Balzan, S. (2018). Edible processed insects from e-commerce: food safety with a focus on the *Bacillus cereus* group. *Food Microbiology*, 76, 296-303.

Fernandez-Cassi, X., Supeanu, A., Vaga, M., Jansson, A., Boqvist, S. y Vagsholm, I. (2019). The house cricket (*Acheta domesticus*) as a novel food: a risk profile. *Journal of Insects as Food and Feed*, 5(2), 137-157.

Finke, M. D. y Oonincx, D. G. A. B. (2017). Insects as food and feed: From production to consumption. *Wageningen Academic Publishers*. 25, 10-15.

Food and Agriculture Organization (FAO). (2009). How to feed the world in 2050? Insights from an expert meeting at FAO, Rome, Italy, 1-35 p.

Gatellier, P., Kondjoyan, A., Portanguen, S., y Sante-Lhoutellier, V. (2010). Effect of cooking on protein oxidation in n-3 polyunsaturated fatty acids enriched beef. Implication on nutritional quality. *Meat Science*, 85(4), 645-650.

Garofalo, C., Osimani, A., Milanović, V., Taccari, M., Cardinali, F., Aquilanti, L., y Clementi, F. (2017). The microbiota of marketed processed edible insects as revealed by high-throughput sequencing. *Food Microbiology*, 62, 15-22.

Ghafir, Y., China, B., Dierick, K., De Zutter, L. y Daube, G. (2008). Hygiene indicator microorganisms for selected pathogens on beef, pork, and poultry meats in Belgium. *Journal of Food Protection*, 71(1), 35-45.

Giraldo, A., Velasco, R. J., y Villada, H. S. (2008). Digestibilidad aparente de una harina proveniente de hojas de yuca (*Manihot esculenta crantz*). *Información tecnológica*, 19(1), 11-18.

Ghosh, S., Lee, S. M., Jung, C., y Meyer-Rochow, V. B. (2017). Nutritional composition of five commercial edible insects in South Korea. *J. Asia Pac. Entomol.*, 20, 686–694.

Grabowski, N. T., y Klein, G. (2017). Microbiology of processed edible insect products—Results of a preliminary survey. *International Journal of Food Microbiology*, 243, 103-107.

González-Álvarez V. y García-Valencia E., (2013). Evaluación del comportamiento de sustitutos de grasa y edulcorantes en la formulación de galletas light. *Journal of Engineering and Technology*, 2(1), 1-5.

Haber, M., Mishyna, M., Itzhak Martinez, J. J. y Benjamin, O. (2019). Edible larvae and pupae of honey bee (*Apis mellifera*): Odor and nutritional characterization as a function of diet. *Food Chemistry*, 292(23), 197-203.

Hadnađev, T. R. D., Torbica, A. M., y Hadnađev, M. S. (2013). Influence of buckwheat flour and carboxymethyl cellulose on rheological behaviour and baking performance of gluten-free cookie dough. *Food and Bioprocess Technology*, 6(7), 1770-1781.

Halloran, A., Roos, N., Flore, R. y Hanboonsong, Y. (2016). The development of the edible cricket industry in Thailand. *Journal of Insects as Food and Feed*, 2(2), 91-100.

Hidalgo Viquez, C., Andrade Pérez, L., Rodríguez González, S., Dumani Echandi, M., Alvarado Molina, N., Cerdas Núñez, M., y Quirós Blanco, G. (2020). Análisis de la canasta básica alimentaria de Costa Rica: oportunidades desde la alimentación y nutrición. *Población y Salud en Mesoamérica*, 18(1), 277-301.

Hough, G. (2010). Sensory shelf life estimation of food products. Taylor and Francis Group (Eds.). Estados Unidos de America. CRC Press.

Hsu, H. W., Vavak, D. L., Satterlee, L. y Miller, G. A. (1977). A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *Journal of Food Science*, 42(5), 1269-1273.

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

IPIFF (Initiative by the international platform of insects for food and feed). (2019). Guide on good hygiene practice for European Union producers of insects as food and feed. Union Europea. 52-58 p.

Irungu, F. G., Mutungi, C. M., Faraj, A. K., Affognon, H., Kibet, N., Tanga, C. y Fiaboe, K. K. M. (2018). Physico-chemical properties of extruded aquafeed pellets containing black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae and adult cricket (*Acheta domesticus*) meals. *Journal of Insects as Food and Feed*, 4(1), 19-30.

Jerez-Timaure, N., Colina Rivero, J., Araque, H., Jiménez, P., Velazco, M., y Colmenares, C. (2011). Composición proximal y contenido de lípidos y colesterol de la carne de cerdos alimentados con harina de pijigüao (*Bactris gasipaes* Kunth) y lisina sintética. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 61(1), 96-101.

Jongema, Y. (2017). List of edible insects of the world. *Laboratory of Entomology*, Wageningen University, Wageningen, the Netherlands. Recuperado de: <https://tinyurl.com/y8puwl5q>.

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

Klunder, H.C., Wolkers-Rooijackers, J., Korpela, J.M. y Nout, M.J.R. (2012). Microbiological aspects of processing and storage of edible insects. *Food Control*, 26, 628-631.

Kulma, M., Kouřimská, L., Plachý, V., Božik, M., Adámková, A., y Vrabc, V. (2019). Effect of sex on the nutritional value of house cricket, *Acheta domestica* L. *Food chemistry*, 272, 267-272.

Leonard, M. M., Sapone, A., Catassi, C., y Fasano, A. (2017). Celiac disease and nonceliac gluten sensitivity. *Journal of the American Medical Association*, 318(7), 647–656.

Lundy, M. E. y Parrella, M. P. (2015). Crickets are not a free lunch: protein capture from scalable organic side-streams via high-density populations of *Acheta domesticus*, *PLoS one*, 10(4), 16-23.

Manditsera, F. A., Luning, P. A., Fogliano, V. y Lakemond, C. M. M. (2019). The contribution of wild harvested edible insects (*Eulepida mashona* and *Henicus whellani*) to nutrition security in Zimbabwe. *Journal of Food Composition and Analysis*, 75, 17–25.

Mancebo, C. M., Picón, J., y Gómez, M. (2015). Effect of flour properties on the quality characteristics of gluten free sugar-snap cookies. *Food Science and Technology*, 64(1), 264-269.

Mattila, P. y Kumpulainen, J. (2002). Determination of Free and Total Phenolic Acids in Plant-Derived Foods by HPLC with Diode-Array Detection. *J. Agric. Food Chem.* 50, 3660–3667.

Mesías, M., López-Pérez, N., Guerra-Hernández, E., y García-Villanova, B. (2010). Determinación de carboximetilisina en alimentos tostados y horneados. *Ars Pharm.* 3(1). 23-9.

Montowska, M., Kowalczewski, P. T., Rybicka, I. y Fornal, E. (2019). Nutritional value, protein and peptide composition of edible cricket powders. *Food Chemistry*, 289, 130-138.

Ndiritu, A. K., Kinyuru, J. N., Kenji, G. M. y Gichuhi, P. N. (2017). Extraction technique influences the physico-chemical characteristics and functional properties of edible crickets (*Acheta domesticus*) protein concentrate. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(4), 2013-2021.

Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y Servicios. Métodos de prueba microbiológica. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos. Recuperado el 12 de abril del 2020, de: [http://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5398468&fecha=26/06/2015](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5398468&fecha=26/06/2015)

Norma Oficial Mexicana NOM-086-SSA1-1994, Bienes y servicios, alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición, especificaciones nutrimentales. Recuperado el 01 de octubre del 2021, de: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/086ssa14.html>.

Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Recuperado el 02 de mayo del 2020, de: <http://www.fao.org/faolex/results/details/es/c/LEX-FAOC013544>

Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios, Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Recuperado el 26 de marzo del 2020, de: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/111ssa14.html>

Norma Oficial mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios, Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Recuperado el 26 de marzo del 2020, de:

<http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/092ssa14.html>

Norma Oficial Mexicana NOM-187-SSA1/SCF1-2002, Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba. Recuperado el 27 de mayo del 2020, de: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/187ssa1scfi02.html>

Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008, Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinas de cereales, sémolas o sémolinas a base de: cereales, semillas comestibles. De harinas, sémolas o sémolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba. Recuperado el 01 de mayo del 2020, de: <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/mex88981.pdf>

Normas Mexicanas NMX-F-317-S-1978. Determinación de pH en alimentos. Recuperado el 25 de mayo del 2020, de: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-317-S-1978.PDF>

Nowak, V., Persijn, D., Rittenschober, D. y Charrondiere, U. R. (2016). Of food composition data for edible insects. *Food Chemistry*, 193, 39–46.

Oloo, J. A., Ayieko, M. y Nyongesah, J. M. (2020). *Acheta domesticus* (Cricket) feed resources among smallholder farmers in Lake Victoria region of Kenya. *Food Science & Nutrition*, 8(1), 69-78.



Pasqualone, A., Laddomada, B., Centomani, I., Paradiso, V. M., Minervini, D., Caponio, F., y Summo, C. (2017). Bread making aptitude of mixtures of re-milled semolina and selected durum wheat milling by-products. *LWT-Food Science and Technology*, 78, 151-159.

Pauter, P., Róžańska, M., Wiza, P., Dworzak, S., Grobelna, N., Sarbak, P. y Kowalczewski, P. T. (2018). Effects of the replacement of wheat flour with cricket powder on the characteristics of muffins. *Acta Scientiarum Polonorum - Technologia Alimentaria*, 17(3), 227–233.

Payne, C. L., Scarborough, P., Rayner, M. y Nonaka, K. (2016). A systematic review of nutrient composition data available for twelve commercially available edible insects, and comparison with reference values. *Trends in Food Science & Technology*, 47, 69-77.

Pino-Cebrián, M. (2018). ¿Por qué todavía no comemos insectos? marco legal en la Unión Europea. *Revista de Bioética y Derecho*, 42, 311-341.

Raheem, D., Carrascosa, C., Oluwole, O. B., Nieuwland, M., Saraiva, A., Millán, R. y Raposo, A. (2019). Traditional consumption of and rearing edible insects in Africa, Asia and Europe. *Food Science and Nutrition*, 59(14), 2169-2188.

Robertson J. A. y Eastwood, M. A. (2000). Hydration properties of dietary fibre and resistant starch european. *Food Science and Technology*, 33(2), 72-79.

Román-Cortés, N., García-Mateos, M. D. R., Castillo-González, A. M., Sahagún-Castellanos, J., & Jiménez-Arellanes, A. (2014). Componentes nutricionales y antioxidantes de dos especies de Guaje (*Leucaena* spp.): Un recurso ancestral subutilizado. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 20(2), 157-170.

Rumpold, B. A. y Schluter, O. K. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(5), 802-823.

Rutaro, K., Malinga, G., Lehtovaara, V., Opoke, R., Valtonen, A., Kwetegyeka, J., Nyeko, P. y Roininen, H. (2018). The fatty acid composition of edible *Grasshopper Ruspolia differens* (Serville) (Orthoptera: *Tettigoniidae*) feeding on diversifying diets of host plants. *Entomological Research*, 48(6), 490–498.

Osimani, A., Garofalo, C., Milanović, V., Taccari, M., Cardinali, F., Aquilanti, L., Pasquini, M., Mozzon, M., Raffaelli, N., Ruschioni, S., Riolo, P., Isidoro, N. y Clementi, F. (2017). Insight into the proximate composition and microbial diversity of edible insects marketed in the European Union. *European Food Research and Technology*, 243, 1157-1171.

Osimani, A., Milanovic, V., Cardinali, F. (2018). Bread enriched with cricket powder (*Acheta domesticus*): a technological, microbiological and nutritional evaluation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 48, 150-163.

Sánchez-Muros, M. J., Barroso, F. G. y Manzano-Agugliaro, F. (2014). Insect meal as renewable source of food for animal feeding. *Journal of Cleaner Production*, 65, 16-27.

Santurino, C., García-Serrano, A., Molina-García, J., Sierra Fernández, P. y Castro-Gómez, M. P. (2016). Los insectos como complemento nutricional de la dieta: fuente de lípidos potencialmente bioactivos. *Alimentación, Nutrición y Salud*, 23(2), 50-56.

Schluter, O., Rumpold, B., Holzhauser, T., Roth, A., Vogel, R. F., Quasigroch, W., Vogel, S., Heinz, V., Jäger, H., Bandick, N., Kulling, S., Knorr, D., Steinberg, P., y Engel, K. H. (2017). Safety aspects of the production of foods and food ingredients from insects. *Molecular Nutrition and Food Research*, 61(6), 16-20.

Singh, Y., Cullere, M., Kovitvadi, A., Chundang, P., and Dalle Zotte, A. (2020). Effect of different killing methods on physicochemical traits, nutritional characteristics, in vitro human digestibility and oxidative stability during storage of the house cricket (*Acheta domesticus* L.). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 65, 102444.

Stull, V., Finer, E., Bergmans, R., Febvre, H., Longhurst, C., Manter, D., Patz, J. y Weir, T. (2018). Impact of edible cricket consumption on gut microbiota in healthy adults, a double-blind, randomized crossover trial. *Scientific Reports*, 8(1), 10-27.

Soladoye, O. P., Shand, P., Dugan, M. E. R., Gariépy, C., Aalhus, J. L., Estévez, M., y Juárez, M. (2017). Influence of cooking methods and storage time on lipid and protein oxidation and heterocyclic aromatic amines production in bacon. *Food Research International*, 99, 660-669.

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

Valdez-Pantoja, C. y Untiveros Bermúdez, G. (2010). Extracción y caracterización del aceite de las larvas de *Tenebrio molitor*. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 76(4), 407-414.

Vantomme, P. (2015). Way forward to bring insects in the human food chain. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1(2), 121-129.

Van Zanten, H. H. E., Mollenhorst, H., Oonincx, D., Bikker, P., Meerburg, B. G. y Boer, I. J. M. (2015). From environmental nuisance to environmental opportunity: housefly larvae convert waste to livestock feed. *Journal of Cleaner Production*, 102, 362-369.

Vandeweyer, D., Crauwels, S., Lievens, B. y Van Campenhout, L. (2017). Microbial counts of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) and crickets (*Acheta domesticus* and *Gryllodes sigillatus*) from different rearing companies and different production batches. *International Journal of Food Microbiology*, 242, 13-18.

Wegier, A., Álvavez, J., Pérez, L., Calzada, L. y Cerritos, R. (2018). Beef or grasshopper hamburgers: the ecological implications of choosing one over the other. *Basic and Applied Ecology*, 26(1), 89-100.

Wynants, E., Crauwels, S., Verreth, C., Gianotten, N., Lievens, B., Claes, J. y Van Campenhout, L. (2018). Microbial dynamics during production of lesser mealworms (*Alphitobius diaperinus*) for human consumption at industrial scale. *Food Microbiology*, 70, 181-191.

Xiaoming, C., Ying, F. y Hong, Z., Zhiyong, C. (2010). The nutritive value of edible insects. In: forest Insects as food: humans bite back. workshop on Asia-Pacific resources and their potential for development, Chiang Mai, Thailand. *FAO*, 21, 85-92.

Zhang, L., Li, Z., Qiao, Y., Zhang, Y., Zheng, W., Zhao, Y., y Cui, Z. (2019). Improvement of the quality and shelf life of wheat bread by a maltohexaose producing  $\alpha$ -amylase. *Journal of cereal science*, 87, 165-171.

Zielinska, E., Baraniak, B., Karaś, M., Rybczyńska, K. y Jakubczyk, A. (2015). Selected species of edible insects as a source of nutrient composition. *Food Research International*, 77, 460-466.

Zielińska, E., Baraniak, B., y Karaś, M. (2018). Identification of antioxidant and antiinflammatory peptides obtained by simulated gastrointestinal digestion of three edible insects species (*Grylodes sigillatus*, *Tenebrio molitor*, *Schistocerca gregaria*). *International Journal of Food Science & Technology*, 53(11), 2542–2551.

## 9. Anexos

### Anexo I

C.U., Querétaro, 10 de junio de 2020  
No. de oficio. CBQ20/066

**Dra. Rosalía Reynoso Camacho**  
**Facultad de Química**  
**Presente**

**At'n. Yazmin Lizeth Mendoza Jiménez**

Con base en las actividades de responsabilidad para el Comité de Bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro en la revisión de proyectos de investigación con la participación de sujetos humanos (directamente en ensayos clínicos, investigación observacional o por empleo de muestras biológicas), así como del uso de animales de experimentación, le comunicamos que el protocolo de investigación titulado **"Implementación de un proceso térmico para mejorar las características de calidad del grillo (*Acheta domesticus*) y su aplicación en el desarrollo de una botana"**, del cual Usted es responsable, fue evaluado con una resolución de **aprobado**.

Sin más por el momento, quedamos a sus órdenes para cualquier duda o aclaración.

**Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez**  
**Presidente**

**M.I.M. David Gustavo García Gutiérrez**  
**Representante investigador**

Ccp archivo

## Anexo II



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

## Posgrado de Alimentos, Facultad de Química



### Consentimiento informado

**Título del proyecto:** "Estudio de estabilidad de harina de grillo (*Acheta domesticus*) y su incorporación en galletas libres de gluten".

#### I. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Se ha considerado que los insectos tienen una contribución importante frente a la satisfacción de la creciente demanda de proteínas para el hombre, por lo cual se han considerado como un coadyuvante en la seguridad alimentaria. La harina de grillo contiene una cantidad de proteína alrededor de 60-80 %, además contiene omega-3, fibra, vitaminas, especialmente B12 y minerales. Uno de sus principales limitantes ante el consumo de insectos es su presentación, es por ello que a lo largo del tiempo se ha sugerido su consumo en forma de harina. Actualmente se ha estudiado la incorporación y el efecto de insectos sobre diversas matrices alimentarias, es por ello, que se requieren estudios de aceptabilidad para poder incorporarlo dentro de una formulación para una galleta, con alto contenido proteico y bajo contenido calórico.

#### II. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

Evaluar la concentración de harina de grillo aceptable para el consumidor y su aceptabilidad ante la elaboración de galletas libres de gluten con bajo contenido calórico.

#### III. BENEFICIOS DEL ESTUDIO

Este estudio brindará información relevante sobre la aceptabilidad sensorial de la harina de grillo, así como la preferencia de los consumidores ante galletas tradicionales y el desarrollo de nuevos productos como alternativa alimentaria.

#### **IV. CRITERIOS DE RECLUTAMIENTO**

En el estudio se incluirán 50 panelistas, hombres y mujeres de la comunidad de la Universidad Autónoma de Querétaro que consuman o hayan consumido insectos. Se excluirán a aquellas personas que presenten alguna alergia a crustáceos debido a la presencia de quitina. Así mismo, también se excluirán aquellas personas que tengan intolerancia al gluten y alguna enfermedad que modifique su percepción del sabor, presenten alergias o se encuentren bajo algún tratamiento médico.

#### **V. PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO**

Se presentarán 9 muestras en contenedores transparentes etiquetados por el número de la muestra, serán colocados frente al evaluador de forma aleatoria donde la muestra proporcionada será de aproximadamente 0.5-1 g se les indicará que prueben la muestra y entre cada una de ellas enjuaguen su boca con un poco de agua y un trozo de galleta salada con el fin de limpiar su paladar.

Las muestras serán evaluadas y clasificadas en una escala de hedónica de 9 puntos en donde 9 será me agrada extremo, 5 ni me gusta ni me disgusta y 1 me disgusta. Se pedirá que registren su nivel de aceptabilidad para cada una de las muestras. La evaluación durará aproximadamente 10 minutos.

#### **VI. RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO**

El producto cuenta con las características de calidad y microbiológicas necesarias para no generar ningún riesgo a la salud. El producto contiene quitina por lo cual podría causar algún malestar a personas que presentan alergia a los mariscos. El producto puede o no contener gluten, mantequilla, edulcorantes, azúcar y sustitutos de grasa. Sin embargo, si al momento del análisis algún participante presenta algún malestar será excluido de la evaluación.

## VII. ACLARACIONES

- Su decisión de participar es completamente voluntaria.
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted en caso de no aceptar la invitación.
- Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, pudiendo informar o no las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.
- No recibirá beneficio económico por su participación en el estudio.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo al investigador responsable: Dra Rosalía Reynoso Camacho rrcamacho@yahoo.com.mx.
- La información obtenida en este estudio será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigación.
- En caso de que usted presente un comportamiento indebido hacia los participantes del estudio y aplicadores del mismo, así como falta de acatamiento a las reglas en el procedimiento de la evaluación sensorial, se le retirará del estudio.

## VIII. INFORMACIÓN DEL CONTACTO

Si tiene alguna pregunta acerca de su participación en el estudio, puede comunicarse con el director del proyecto a cargo de la Dra. Rosalía Reynoso Camacho al correo rrcamachomx@yahoo.com.mx. Si desea la opinión de otra persona, puede consultar al médico de su confianza.

## IX. ACEPTACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

---

Nombre y firma del participante

---

Nombre y firma del participante



He explicado al Sr (a) \_\_\_\_\_ la naturaleza y los propósitos de la investigación, describiendo los riesgos y beneficios que implican su participación. He contestado todas las preguntas y he preguntado si tiene alguna duda sobre el estudio. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar la investigación con seres humanos y me apego a ella. Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas se procedió a firmar el presente documento.

\_\_\_\_\_  
Firma del investigador

\_\_\_\_\_  
Fecha de la firma

## X. CARTA DE REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

**Título del proyecto:** “Estudio de estabilidad de harina de grillo (*Acheta domesticus*) y su incorporación en galletas libres de gluten”.

**Investigador principal:** Dra. Rosalía Reynoso Camacho.

**Sede donde se realizará el estudio:** Comedor de posgrado, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro.

**Nombre del participante:**

Por este conducto deseo informar mi decisión de retirarme de esta investigación por las siguientes razones (opcional):

- 
- 
- 
- 
- 

---

Firma del participante

---

Fecha de la firma

Dirección General de Bibliotecas UAQ