

UNIVERSIDAD PERUANA UNIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Escuela Profesional de Nutrición Humana



Una Institución Adventista

Determinación de la digestibilidad proteica *in vitro* de harina de grillo “*Gryllus assimilis*”

Tesis para obtener el Título Profesional de Licenciado en Nutrición Humana

Por:

Williams Manuel Santamaria Arce

Brahams Emanuel José Inga Uruchi

Asesor:

Dr. Rodrigo Alfredo Matos Chamorro

Lima, diciembre del 2019

DECLARACIÓN JURADA
DE AUTORÍA DEL INFORME DE TESIS

Dr. Rodrigo Alfredo Matos Chamorro, de la Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela Profesional de Nutrición Humana, de la Universidad Peruana Unión.

DECLARO:

Que el presente informe de investigación titulado: "**Determinación de la digestibilidad proteica *in vitro* de harina de grillo "*Gryllus assimilis*"**" constituye la memoria que presenta el **Bachiller Williams Manuel Santamaria Arce y el Bachiller Brahams Emanuel José Inga Uruchi** para aspirar al título de Profesional de Licenciado en Nutrición Humana, cuya tesis ha sido realizada en la Universidad Peruana Unión bajo mi dirección.

Las opiniones y declaraciones en este informe son de entera responsabilidad del autor, sin comprometer a la institución.

Y estando de acuerdo, firmo la presente declaración en Lima, a los 05 días del mes de febrero año 2020.



Rodrigo Alfredo Matos Chamorro

“Determinación de la digestibilidad proteica *in vitro* de harina de grillo
Gryllus assimilis”

TESIS

Presentada para optar el título profesional de Licenciado en Nutrición
Humana

JURADO CALIFICADOR


Mg. Mery Rodríguez Vásquez
Presidenta


Ing. Félix Nicolás Palacios Morales
Secretario


Mg. Onaro Natali Huzco Rutti
Vocal


Dr. Rodrigo Alfredo Matos Chamorro
Asesor

Ñaña, 26 de diciembre de 2019

Dedicatoria

A mis padres Manuel Santamaria y Luzmila Arce por su apoyo y amor incondicional, a mi esposa Kelina y a mi hija Daniela por todo su amor y apoyo en este proceso y a todas la personas especiales que me dieron su apoyo.

Williams Manuel Santamaria Arce

A Dios por permitirme haber llegado a este momento importante de mi formación profesional, por guiar el proceso de este proyecto, a mis padres Merlin Inga, Yolanda Uruchi y a mi hermano José Daniel por todo su amor, comprensión y apoyo incondicional durante toda mi vida.

Brahams Emanuel José Inga Uruchi

Agradecimientos

Al Dr. Alfredo Matos Chamorro, por la confianza y apoyo continuo en todo el proceso de la elaboración de nuestra tesis.

A la Mg. Charo Natali Huzco Rutti y al Mg. Félix Nicolás Palacios Morales por la orientación y acertadas contribuciones durante el desarrollo de la investigación.

A la Mg Mery Rodríguez, Directora de la Escuela Profesional de Nutrición Humana por facilitarnos las instalaciones para el desarrollo de nuestra investigación.

Tabla de contenido

Tabla de contenido	vi
Resumen	xii
Abstract	xiii
Capítulo I	14
1.1 Introducción	14
1.2 Justificación de la investigación	16
1.3 Presuposición filosófica.....	16
1.4 Objetivos de la investigación.....	17
1.4.1 Objetivo general:.....	17
Determinar la digestibilidad proteica <i>in vitro</i> de la harina de <i>Gryllus assimilis</i>	17
1.4.2 Objetivos específicos:.....	17
Capítulo II	18
Revisión de la literatura	18
2.1 Proteínas	18
2.1.1 Estructura de proteínas.....	18
2.1.2 Metabolismo de proteínas	21
2.1.3 Digestión y absorción de proteínas.....	22
2.2 Calidad proteica	23
2.1.2 Patrón de puntuación de aminoácidos mg/g de requerimiento de proteína.....	23
2.1.3 Digestibilidad proteica y metodologías.....	24
2.3 Proteínas emergentes	26
2.3.2 Algas y microalgas	26
2.3.2 Hongos y levaduras	27
2.3.3 Insectos	28
2.3.4 Quitina y digestibilidad.....	29
2.3.5 Descripción del <i>Gryllus assimilis</i>	29
2.3.6 Valor nutricional de la harina <i>Gryllus assimilis</i>	31
2.4 Antecedentes de Investigación	32

Capítulo III	35
Materiales y métodos.....	35
3.1 Lugar de ejecución	35
3.2 Materia prima, insumos y equipos.....	35
3.3 Flujo de la elaboración de la harina de <i>Gryllus assimilis</i>	35
3.4 Análisis de la harina de <i>Gryllus assimilis</i>	36
3.4.1 Análisis proximal	36
3.4.2 Determinación de la digestibilidad proteica in vitro	36
3.5 Diseño y tipo de estudio.....	36
Resultados y discusión	37
4.1 Rendimiento.....	37
4.2 Análisis proximal	37
4.3 Digestibilidad.....	39
4.4 Factores relacionados a digestibilidad proteica y aporte proteico.....	42
Conclusiones y recomendaciones.....	44
5.1 Conclusiones.....	44
5.2 Recomendaciones	44
Referencias	45
3.1 Determinación de humedad por el método de estufa universal o estufa al vacío.....	58
3.2 Determinación de nitrógeno método Kjeldhal	58
3.3 Determinación de grasas método Soxhlet	59
3.4 Determinación de cenizas en alimentos	59
3.5 Extracto libre de nitrógeno	60

Índice de tablas

Tabla 1. Hidrolisis de aminoácidos por enzimas	22
Tabla 2. Patrones de Puntuación de Aminoácidos para Efectos de Regulación	24
Tabla 3. Valor nutricional de algas verdes pardas y rojas.	26
Tabla 4. Aporte aminoacídico de la Espirulina	27
Tabla 5. Lista de insectos comestibles autorizada por la Unión Europea.....	29
Tabla 6. Contenido de quitina y coeficientes de digestibilidad de insectos comestibles...	29
Tabla 7. Análisis proximal y digestibilidad in vitro del <i>Gryllus assimilis</i>	31
Tabla 8. Digestibilidad y aporte proteico de las especies de grillos.....	31
Tabla 9. Rendimiento de la harina de grillo.....	37
Tabla 10. Análisis proximal de la harina de <i>Gryllus assimilis</i>	38
Tabla 11. Aporte proteico de la harina de grillo en países de América	38
Tabla 12. Aporte proteico de la harina de grillo en otros continentes.....	38
Tabla 13. Aporte proteico de otras harinas	39
Tabla 14. Digestibilidad proteica in vitro de la harina de <i>Gryllus assimilis</i>	39
Tabla 15. Digestibilidad proteica in vitro de la harina de grillo en países de América	40
Tabla 16. Digestibilidad proteica in vitro de la harina de grillo en otros continentes.....	40
Tabla 17. Porcentajes de harina de grillo en dietas mixtas y su digestibilidad proteica	41
Tabla 18. Digestibilidad proteica de otras harinas	42
Tabla 19. Digestibilidad proteica y fibra en algunos insectos	42
Tabla 20. Aporte proteico corregido de la harina de insectos diversos	43

Índice de figuras

Figura 1. Estructura molecular de la insulina humana.....	19
Figura 2. Estructura molecular del colágeno.	19
<i>Figura 3.</i> Estructura química de la albumina.	20
<i>Figura 4.</i> Estructura molecular de la gliadina.	20
Figura 5. Estructura molecular de la hemoglobina.	21
Figura 6. Metabolismo de las proteínas en humanos.	22
Figura 7. Digestión y absorción gastrointestinal.	23
Figura 8. Algoritmo de digestibilidad proteica según FAO.....	24
Figura 9. Taxonomía del <i>Gryllus assimilis</i>	30
Figura 10. <i>Gryllus assimilis</i> macho y hembra.....	31
Figura 11. Flujo de elaboración de la harina de <i>Gryllus</i>	36

Índice de anexos

Anexo 1. Materia prima	56
Anexo 2. Especificaciones del procesamiento de harina de grillo	57
Anexo 3. Metodología AOAC	58
Anexo 4. Digestibilidad in vitro Max Becker 1961	61
Anexo 5. Peso promedio del <i>Gryllus assimilis</i>	62
Anexo 6. Informe de ensayo (harina de grillo)	63

Símbolos usados

ONU	Organización de las Unidas
FAO	Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura.
INEI	Instituto Nacional de Estadística e Informática
UE	Unión Europea
PDCAAS	Puntuación de los Aminoácidos Corregida por la Digestibilidad de la Proteína
OMS	Organización Mundial de la Salud
CITAL	Centro de investigación de tecnología de los alimentos
ITS	Inspection & Testing Service del Perú
AOAC	Association of Official Analytical Chemistic
EFSA	Autoridad europea de seguridad alimentaria
AAI	Aminoácidos indispensables
His	Histidina
Ile	Isoleucina
Leu	Leucina
Lys	Lisina
SAA	Aminoácidos azufrados
AAA	Aminoácidos aromáticos
Thr	Treonina
Trp	Triptófano
Val	Valina

Resumen

El aumento de la población mundial y las proyecciones al 2100, han generado la investigación de nuevas fuentes proteicas no convencionales para cubrir esta futura demanda. Entre estas fuentes emergentes destacan: hongos, microalgas, levaduras y carne *in vitro*, a pesar de ello la valoración de su aporte proteico se ve afectada por factores como la digestibilidad y la correcta cuantificación de la proteína. Adicionalmente, deben cumplir las características inherentes de la seguridad alimentaria y ser ecoamigables. En este contexto, el consumo de algunos insectos se presenta como una opción viable. Esta investigación descriptiva, transversal tuvo como objetivo determinar la digestibilidad proteica *in vitro* de un insecto nativo peruano (*Gryllus assimilis*), para lo cual se procesaron 4000 grillos adultos y se obtuvieron 410 g de harina. La muestra fue enviada a los laboratorios de Inspection & Testing Service del Perú S.A.C, obteniendo los siguientes resultados: digestibilidad 85.7% y proteína cruda 56.7%, no obstante el aporte proteico fue corregido por el factor Kp (5.76), para insectos en etapa de maduración.

Palabras claves: *Gryllus assimilis*, digestibilidad proteica *in vitro*, entomofagia, proteínas emergentes

Abstract

The increase of the world population and the projections to 2100, have generated the investigation of new unconventional protein sources to cover this future demand. Among these emerging sources stand out: fungi, microalgae, yeasts and meat *in vitro*, despite this the assessment of their protein intake is affected by factors such as digestibility and proper protein quantification. Additionally, they must meet the inherent characteristics of food safety and be ecofriendly. In this context, the consumption of some insects is presented as a viable option. This descriptive, cross-sectional investigation aimed to determine the *in vitro* protein digestibility of a native peruvian insect (*Gryllus assimilis*), for which 4000 adult crickets were processed and 410 g of flour were obtained. The sample was sent to the laboratories of Inspection & Testing Service of Peru SAC, obtaining the following results: *in vitro* protein digestibility 85.7% and 56.7% crude protein, however the amount of protein was corrected by the Kp factor (5.76), for insects in maturation stage.

Keywords: *Gryllus assimilis*, *in vitro* protein digestibility, entomophagy, emerging proteins.

Capítulo I

1.1 Introducción

La Organización de las Naciones Unidas (ONU) informó en junio del 2019 la existencia de 7.715 millones de personas en el mundo, la proyección para el 2050 y 2100 es de 9.700 millones y 11.200 millones respectivamente, este aumento, basado en la proyección de la tasa media de fecundidad de dos hijos por mujer. Además, la esperanza de vida en el período 2010 - 2017 aumentó a nivel global: en África a 60 años, Asia a 72 años, Latinoamérica y el Caribe a 75 años, Europa y Oceanía a 77 años y América del Norte a 79 años (1,2).

Esto llevará a un aumento del 90 % de la producción agrícola e incrementará la superficie de tierra cultivada, en 70 millones de hectáreas según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). Sin embargo, no será suficiente para garantizar la seguridad alimentaria para todos, debido a que las proyecciones a nivel mundial para el 2050 estiman 766 millones de personas con riesgo de hambre, de las cuales, 118 millones estarán representados por niños malnutridos. En América Latina y el Caribe la proyección es de 45 millones de personas, el 10% serán niños (3,4).

En Perú, el número de personas que sufren hambre al 2017 según la FAO fue de 2.5 millones en promedio, al 2018 el Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI) calculó en el 12.2% la desnutrición crónica en niños y niñas menores de 5 años de edad, para el 2050 el Estado garantiza la continua reducción de la desnutrición crónica infantil y la eliminación del hambre. En este contexto, la búsqueda de una dieta sustentable de bajo impacto ambiental, sin comprometer la calidad del alimento, es encabezada por la investigación de fuentes de proteínas emergentes (5–8).

A partir de la década de 1950 se han realizado investigaciones en búsqueda de alternativas de fuente proteica que cumplan con los cuatro pilares de la Seguridad Alimentaria, (disponibilidad, acceso, utilización biológica y estabilidad); se estudió cientos de estirpes de microalgas buscando la de mayor contenido proteico con el perfil de aminoácidos adecuados para la dieta humana. Posteriormente en 1970 y 1980, se identificaron tres géneros potenciales: *Scenedesmus*, *Chlorella* y *Spirulina*; pero el contenido de aminoácidos indispensables (AAI) no cubre el patrón de referencia. Además,

la digestibilidad de la proteína monocelular es el 66%, siendo alanina el aminoácido menos digestible (49%), lo que refleja una baja utilización biológica (9,10).

Otra alternativa, son los hongos y levaduras que adicionalmente a su contenido proteico son ecoamigables, porque utilizan 20 veces menos agua que la producción de proteína animal por kg. En Europa, la especie *Fusarium venenatum* es la de mayor comercialización en productos terminados como filetes, nuggets, y otros derivados, no obstante, su cultivo no ha sido reproducido fuera del laboratorio y por esta razón aun no constituye una alternativa viable. Por otro lado, las levaduras aportan entre el 45% y 55 % de proteínas en 100 g (base seca) y posee coeficientes de digestibilidad superiores al 80%, pero su uso se encuentra limitado por la alta concentración de ácidos nucleicos (3.9 % a 4.3%) en comparación al pescado (0.32%) (11,12).

Cabe mencionar, el aporte de la biotecnología en el cultivo de células (*in vitro*) para la producción de “**Carne 2.0**” cuyo origen está motivado no solamente por activistas de bienestar animal sino también por el cuidado del medio ambiente, debido a la producción de gases de efecto invernadero (14,5% de metano) provenientes de la ganadería, además del uso del 70% de todas las tierras agrícolas. El debate por la proliferación de carne *in vitro* aún se centra en terreno ontológico. El primer proyecto de carne *in vitro* fue en Estados Unidos en 1995 como una iniciativa de la National Aeronautics and Space Administration (NASA) para viajes de larga estancia (Proyecto Marte), la primera patente se registró en Holanda en 1999, pero no generó ningún producto terminado (13).

Luego en el 2003, por primera vez se sirvió filete de rana *in vitro* en L'Art Biotech en Nantes - Francia; con un precio de 650 dólares el gramo. El 2013 en Holanda se sirvió la primera hamburguesa *in vitro*, a pesar de la alta evaluación sensorial no generó suficiente interés por parte del sector privado debido a su costo: 250 mil euros por una hamburguesa de 28.3 g (1 onza). A pesar de ello, no se pueden desconocer sus beneficios en cuanto a inocuidad, sostenibilidad ambiental y digestibilidad; debido a que los aminoácidos del músculo esquelético de los animales presentan una mayor digestibilidad. A diferencia de las alternativas anteriores, esta no se encuentra disponible en el mercado (14).

En el 2013, la FAO reconoce el potencial alimenticio de los insectos como una opción de fuente proteica, sostenible y ecoamigable que puede contribuir con la seguridad alimentaria, sin embargo, no hacía referencia a ningún insecto en particular, en consecuencia la Unión Europea (UE) el 2015 propuso una lista de insectos comestibles que entró en vigencia en enero del 2018 en países como: Bélgica, Austria Finlandia,

Dinamarca y Reino Unido (15–19). En el transcurso de esos años, se realizaron investigaciones que se centraron en dos insectos: gusanos y grillos, ambos con porcentajes de proteína superiores al 50% en 100 g de base seca y digestibilidades superiores al 80%, a pesar de ello, las investigaciones son de especies propias de Europa, Asia y África (20–22).

En contraste, en América la cultura entomofágica se concentra en México y pueblos nativos de Sudamérica; en Perú solo existen tres estudios relacionados con insectos (grillos, gusanos y cucarachas), de los cuales el primero fue realizado en el 1999 tomando como muestra una especie de grillo no clasificado taxonómicamente, siendo los datos encontrados no aplicables. El segundo, en el 2010 estudio una larva de gusano pero con aplicaciones hacia la industria de aceite; y el tercero en el 2012 evaluó cucarachas, un insecto que no se encuentra dentro de la lista propuesta por la UE (23–25).

En el 2015, Apolo et al. (26) recopilaron investigaciones sobre la crianza y aprovechamiento de una especie de grillo (*Acheta domesticus*) no obstante, los datos presentados no incluyen grillos nativos peruanos, por lo tanto, resulta pertinente evaluar una especie de grillo de hábitat peruano y determinar su aporte proteico y digestibilidad en ausencia de evidencia de estudios de este insecto peruano.

1.2 Justificación de la investigación

Por su relevancia teórica la investigación recopilará información nutricional relevante y evidencia científica sobre el aporte nutricional de un insecto nativo peruano que a su vez forma parte de la lista de insectos comestibles de la UE (15).

Por su relevancia social y práctica, contribuirá con la seguridad alimentaria mediante el aprovechamiento de recursos naturales por el constante crecimiento de la población mundial, lo que hará necesario sentar un precedente en la investigación de insectos nativos como fuente proteica.

Por su relevancia metodológica, aportará un precedente en la adecuada elaboración y procesamiento de la harina de grillo respaldada por su coeficiente de digestibilidad *in vitro*.

1.3 Presuposición filosófica

Como profesionales de la salud se busca contribuir con la seguridad alimentaria a través de la investigación de nuevas fuentes de proteína, debido a la necesidad de una dieta que cubrirá los requerimientos de la población, sin comprometer la calidad del alimento, además se investigan alimentos que puedan mantenerse por un largo periodo

de tiempo sin agotar recursos y sin comprometer el bienestar de otros, al cumplir estas características se permite un mayor acceso a los alimentos. Por otro lado, las fuentes tradicionales de producción de proteína animal no son amigables con el medio ambiente, debido a la producción de metano.

1.4 Objetivos de la investigación

1.4.1 Objetivo general:

Determinar la digestibilidad proteica *in vitro* de la harina de *Gryllus assimilis*.

1.4.2 Objetivos específicos:

Determinar el rendimiento de la harina de *Gryllus assimilis*

Determinar el análisis proximal de la harina de *Gryllus assimilis*.

Capítulo II

Revisión de la literatura

2.1 Proteínas

Las proteínas se han definido como compuestos químicos nitrogenados de gran peso molecular que dan soluciones coloidales y que en el análisis se obtienen aminoácidos como productos de escisión. Además, desempeñan el mayor número de funciones en las células de los seres vivos formando parte de la estructura básica de tejidos (músculos, tendones, piel, uñas, etc.) durante todos los procesos de crecimiento y desarrollo. También desempeñan funciones metabólicas (enzimas, hormonas y anticuerpos) y reguladoras como: la asimilación de nutrientes, transporte de oxígeno y grasas en la sangre, eliminación de materiales tóxicos, regulación de vitaminas liposolubles y minerales, etc. (27,28).

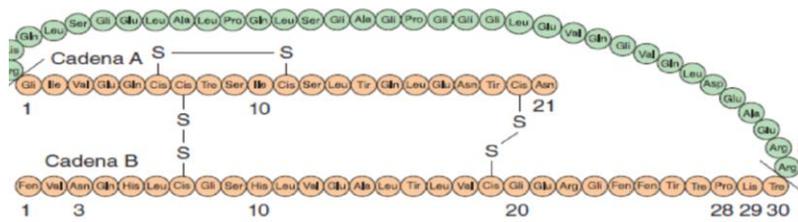
2.1.1 Estructura de proteínas

Las proteínas se clasifican según la complejidad de su estructura, desde polímeros lineales hasta proteínas oligoméricas.

2.1.1.1 Estructura primaria

Está conformada por polímeros de aminoácidos largos o polipéptidos estabilizados por medio de enlaces peptídicos covalentes. La insulina humana (figura 1) es un ejemplo de esta conformación compuesta por tres cadenas y estabilizada por enlaces disulfuros. También en la leche humana, la lactoferrina posee estructura primaria porque está formada solo por una cadena polipeptídica (28–30). Además de estas, en la saliva humana también se han identificado proteínas de estructura primaria: Aglutinina, proteínas ricas en prolina, inmunoglobulinas, lisozima, peroxidasa humana salival, alfa amilasa salival, estaterina, cistatinas e histatinas (31).

Figura 1. Estructura molecular de la insulina humana.

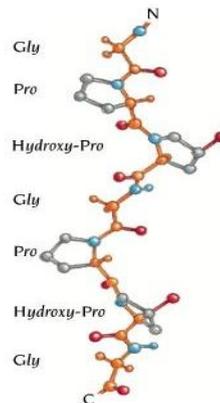


Fuente: Katsung G, Trevor A, Farmacología Básica y Clínica 13e, 2016 (29).

2.1.1.2 Estructura secundaria

Conformada por enlaces de hidrógeno entre proteínas de estructura primaria, estos pueden ser hélice α (enlaces de hidrógeno entre grupo carbonilo "n" y el grupo amino n+4) y hoja β (enlaces de hidrógeno entre los enlaces peptídicos). La hélice de colágeno (figura 2) muestra este tipo de estructura, sus aminoácidos glicina, prolina e hidroxiprolina, se agrupan en estructuras helicoidales y levóginas (28,29). También existen proteínas con estructura mixta (secundaria y terciaria): quimi tripsina 59%, carboxipeptidasa 55%, citocromo C 39%, lisozima 52%, mioglobina 78%.

Figura 2. Estructura molecular del colágeno.



Fuente: Katsung G, Trevor A, Farmacología Básica y Clínica 13e, 2016 (29).

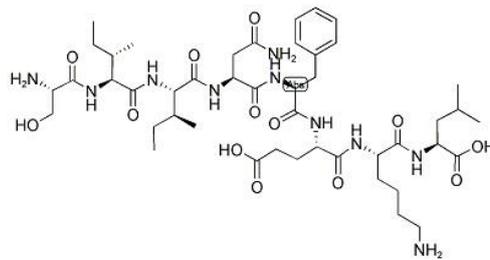
2.1.2.3 Estructura terciaria

Forman un espacio tridimensional de modo que las características estructurales secundarias (hélice α y hoja β) se ensamblan para formar dominios. Un dominio es una sección de estructura proteínica suficiente para desempeñar una tarea química o física particular. Las fuerzas que estabilizan la estructura terciaria de una proteína se establecen

entre las distintas cadenas laterales de los aminoácidos que la componen. Los enlaces propios de la estructura terciaria pueden ser de dos tipos: covalentes y no covalentes (28,32).

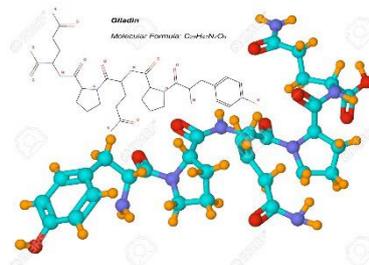
Los enlaces no covalentes pueden ser de cuatro tipos: fuerzas electrostáticas entre cadenas laterales ionizadas, con cargas de signo opuesto, puentes de hidrógeno, entre las cadenas laterales de AA polares, interacciones hidrofóbicas entre cadenas laterales apolares y fuerzas de polaridad debidas a interacciones dipolo-dipolo. La albúmina (figura 3) presente en el 60% de las proteínas plasmáticas, tiene esta estructura. Otras proteínas con este tipo de estructura son: la caseína (leche), gluteninas (trigo, avena, cebada, centeno) (figura 4). En esta categoría se puede considerar proteínas mixtas (estructura secundaria y terciaria) miosina y queratina (pollo y pescado) (28,32–34)

Figura 3. Estructura química de la albúmina.



Fuente: Katsung G, Trevor A, Farmacología Básica y Clínica 13e, 2016 (29).

Figura 4. Estructura molecular de la gliadina.



Fuente: Fuente. Murray et al. Harper Bioquímica médica, 2007(28).

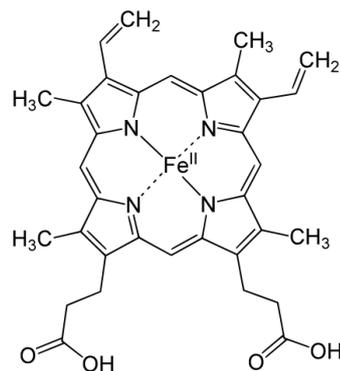
2.1.2.4 Estructura cuaternaria

Cuando una proteína consta de más de una cadena polipeptídica (proteína oligomérica), se dice que tiene estructura cuaternaria. La estructura cuaternaria debe considerarse; el número y la naturaleza de las distintas subunidades o monómeros que

integran el oligómero y la forma en que se asocian en el espacio para dar lugar al oligómero (32).

Dichas subunidades se asocian entre sí mediante interacciones no covalentes, como pueden ser puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas o puentes salinos. En cuanto a uniones covalentes, también pueden existir uniones tipo puente disulfuro entre residuos de cisteína situados en cadenas distintas. La hemoglobina (figura 5) es un ejemplo de esta estructura (28,32).

Figura 5. Estructura molecular de la hemoglobina.



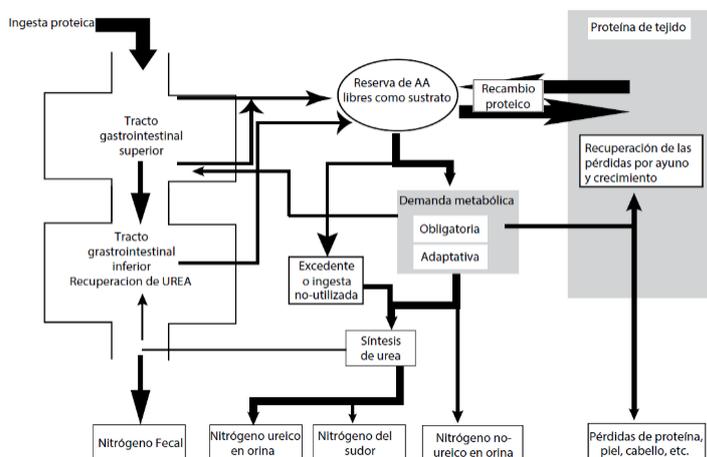
Fuente. Murray et al. Harper Bioquímica médica, 2007 (28).

2.1.2 Metabolismo de proteínas

El metabolismo de las proteínas es un ciclo que consta de tres escenarios, el primero es la zona de absorción, a su vez se subdivide en tracto gastrointestinal superior (abarca hasta el duodeno) y tracto gastrointestinal inferior (abarca hasta el colon), en el segundo escenario los aminoácidos absorbidos fluyen a través del plasma, también conocido como pool de aminoácidos libres, parte del pool está constituido por la demanda metabólica. En el tercer escenario los aminoácidos del pool serán utilizados para la síntesis de nuevas proteínas. A su vez en el tercer escenario (zona de reserva) las proteínas marcadas por la ubiquitina serán degradadas por el proteosoma y sus aminoácidos liberados al pool para ser reutilizados (35).

Existen pérdidas en: la absorción, el sudor y la descamación de la piel generando una demanda que debe ser cubierta para mantener en equilibrio el ciclo de absorción y recambio proteico. La cantidad recomendada es 1g/kg de peso, sin embargo, Millward (36) argumenta que los modelos factoriales que utiliza la FAO para el cálculo del requerimiento subestiman la eficiencia proteica del alimento (37).

Figura 6. Metabolismo de las proteínas en humanos.



Fuente: Consulta de expertos FAO, 2011 (10).

2.1.3 Digestión y absorción de proteínas

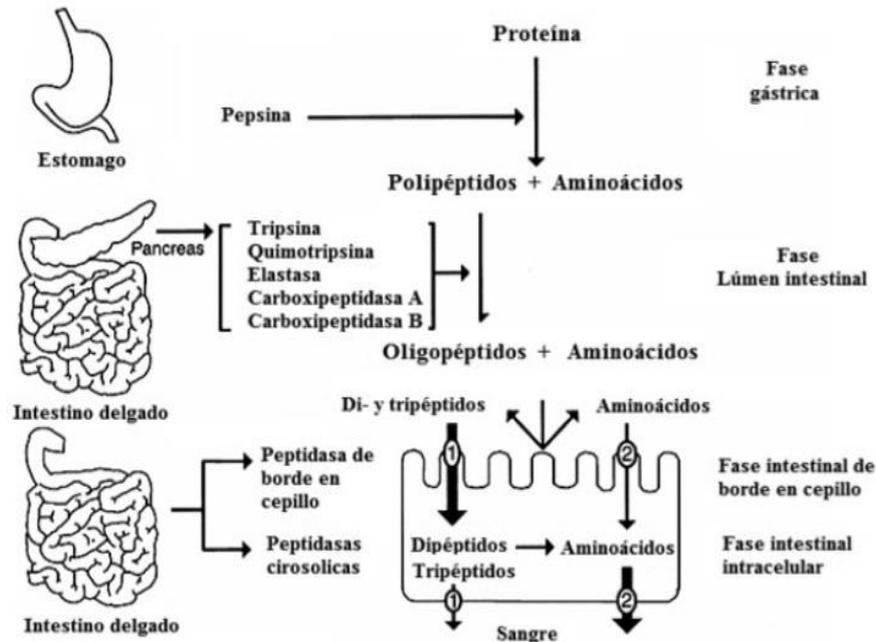
En la digestión y absorción de las proteínas intervienen dos clases de enzimas digestivas proteolíticas: endopeptidasas (pepsina, tripsina, quimiotripsina y elastasa) y exopeptidasas (carboxipeptidasas, aminopeptidasas, dipeptidasas y tripeptidasas). El proceso inicia en el estómago, el ácido clorhídrico activa el pepsinógeno en pepsina, que a su vez cataliza la hidrólisis de enlaces peptídicos de aminoácidos con cadenas laterales abultadas. El páncreas secreta tripsina, quimiotripsina y elastasa hacia el intestino delgado; la tripsina hidroliza esteres de lisina y arginina; la quimiotripsina esteres de aminoácidos aromáticos y la elastasa esteres de aminoácidos alifáticos neutros pequeños. Mientras tanto, las exopeptidasas catalizan la hidrólisis de los enlaces péptidos desde los extremos (figura 7) (38).

Tabla 1. Hidrolisis de aminoácidos por enzimas

Enzimas	Aminoácidos
Tripsina	Lisina y arginina
Quimiotripsina	Aminoácidos aromáticos
Elastasa	Aminoácidos alifáticos

Fuente: Murray et al. Harper Bioquímica médica, 2007 (9).

Figura 7. Digestión y absorción gastrointestinal.



Fuente. Segura et al. Effect of Digestion on Bioavailability of Peptides with Biological Activity, 2010 (39).

2.2 Calidad proteica

La FAO define la calidad de la proteína como un valor cuantitativo porcentual, el método aprobado desde 1991 es la Puntuación de los Aminoácidos Corregida por la Digestibilidad de la Proteína (PDCAAS), este valor proviene del primer aminoácido limitante (expresado en porcentaje) multiplicado por el valor de la digestibilidad. Además, la FAO considera que la digestibilidad de la proteína es una buena aproximación de la biodisponibilidad de los aminoácidos. Sin embargo, en la última consulta de expertos FAO (10), se propone un nuevo método para evaluar la calidad de las proteínas "Puntuación de los Aminoácidos Indispensables Digestibles (DIAAS)", se definen así: $\% \text{ DIAAS} = 100 \times \left[\frac{\text{mg del aminoácido indispensable digestible de la dieta en 1 g de la proteína de la dieta}}{\text{mg del mismo aminoácido de la dieta en 1 g de la proteína de referencia}} \right]$ (10,40).

2.1.2 Patrón de puntuación de aminoácidos mg/g de requerimiento de proteína

Los patrones de puntuación de aminoácidos son los requerimientos de aminoácidos indispensables (AAI) por edad, además son un punto de comparación entre el perfil de

aminoácidos digestibles de un alimento para calcular la calidad de las proteínas (tabla 2): la composición en aminoácidos de la leche materna (para lactantes hasta los 6 meses), niños pequeños (para 6 meses hasta los 3 años) y niños mayores (para niños mayores, adolescentes y adultos) (10,41–43).

Tabla 2. Patrones de Puntuación de Aminoácidos para Efectos de Regulación

Grupo de edad	His	Ile	Leu	Lys	SAA	AAA	Thr	Trp	Val
<i>Patrón de puntuación mg/g de requerimiento de proteína</i>									
Lactantes (recién nacido hasta 6 meses)	21	55	96	69	33	94	44	17	55
Niños (6 meses hasta 3 años)	20	32	66	57	27	52	31	8.5	43
Niños mayores, adolescentes y adultos	16	30	61	48	23	41	25	6.6	40

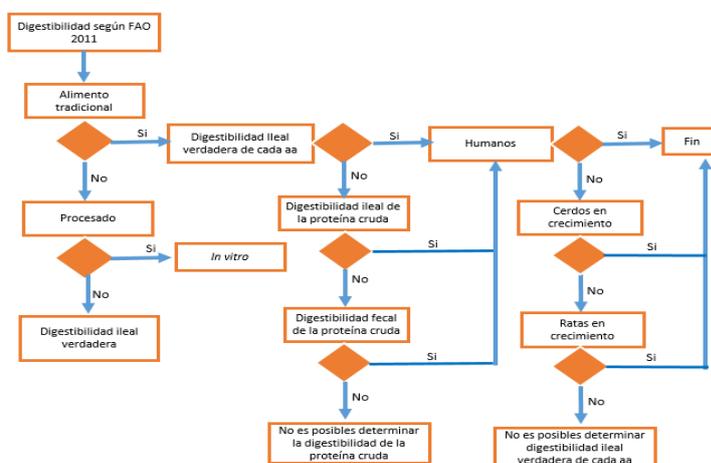
His, histidina; Ile, isoleucina; Leu, leucina; SAA, aminoácidos azufrados; AAA, aminoácidos aromáticos; Thr, treonina; Trp, triptófano; Val, valina. Fuente: FAO, Evaluación de la calidad de la proteína de la dieta en nutrición humana, 2011 (10).

2.1.3 Digestibilidad proteica y metodologías

La digestibilidad no es la propiedad fija de un alimento sino el reflejo de la interacción entre el alimento y el individuo que lo ingiere, puede estar sujeto a variaciones individuales. En ese contexto la digestibilidad proteica es la proporción del macronutriente consumido que se absorbe (que ha desaparecido del tracto digestivo).

La FAO recomienda el método de digestibilidad ileal verdadera de los AAI en humanos, sin embargo esto no siempre es posible y se puede seguir las siguientes recomendaciones expresadas en el siguiente algoritmo (figura 8) (10,44)

Figura 8. Algoritmo de digestibilidad proteica según FAO



Fuente: FAO, Evaluación de la Calidad de la Proteína de la Dieta en Nutrición Humana, 2011 (10).

2.2.2.1 Digestibilidad fecal

Esta metodología se basa en un principio fisiológico básico:

Absorción proteica = Ingestión proteica – Excreción proteica

Para dicho fin, se calcula la ingesta proteica (g/Kg de peso) de 5 animales (cerdos o ratas jóvenes) y para calcular la excreción proteica se procede a recolectar heces, orina y se calcula el nitrógeno (g). Luego se multiplica por el factor de conversión pertinente (Kp) y de esta manera se conoce la pérdida de proteínas, por ende la utilización de la fuente proteica evaluada (45).

Este método tiene la ventaja de un bajo costo de unidad experimental si se opta por ratas jóvenes, la cantidad de dieta suministrada es mínima debido al reducido volumen gástrico de los roedores y a su practicidad en cuanto a protocolos experimentales si lo comparamos con humanos. En cuanto a sus desventajas: no distingue la digestión de la fermentación, debido a la oxidación de los aminoácidos que no fueron absorbidos en el colon, y por ello sobrestima la utilización de la proteína evaluada. Además, se requiere de equipo especializado: jaulas metabólicas, para estimar correctamente el nitrógeno excretado, y en el caso de cerdos se requiere de mayor control y costo en cuanto a dieta (46–48).

2.1.3.1 Digestibilidad ileal

Esta metodología, utiliza el mismo principio de ingestión y excreción, pero señala un nuevo punto de corte para recolectar la proteína no utilizada: el íleon terminal, de esta manera se elimina el sesgo de la fermentación. El punto de recolección es la unión entre el ciego y el íleon a través de cánulas T para recolectar el contenido digestivo (49,50).

La principal ventaja de este método es el control y mayor precisión en la estimación de la digestibilidad, debido a que la proteína no utilizada es recolectada directamente hacia una bolsa por medio de cánulas. Además, nuevas investigaciones están determinando el contenido de aminoácidos en este punto y de esta manera se obtiene una digestibilidad específica por cada aminoácido. La supervisión constante en el caso de animales es una desventaja debido a que pueden desprenderse de las cánulas, también pueden ocasionar infecciones secundarias que alteraran los resultados (51).

2.1.3.2 Digestibilidad in vitro

Esta metodología es una simulación de laboratorio donde se mide la reacción de las enzimas digestivas proteolíticas sobre la proteína evaluada en su fase gástrica (pepsina) y

su fase intestinal (tripsina, quimio tripsina y entero proteasa). El principio químico es la no solubilidad de las proteínas. Esta prueba mide la cantidad de proteína (g) que se precipita luego de la reacción de las cuatro enzimas mencionadas, así pues, se estima la utilización de la fuente evaluada. Además, la FAO recomienda este método como medida indirecta del correcto procesamiento de una materia prima (52,53).

La principal ventaja de este método es su costo y puede ser realizado en horas, además evita el sesgo del nitrógeno endógeno y muestra un coeficiente de correlación ($r = 0.9$) con la digestibilidad fecal en ratas, la FAO recomienda el método de las 4 enzimas (pepsina, tripsina, quimio tripsina y entero proteasa) no obstante, la metodología más utilizada es digestibilidad por pepsina (54,55).

2.3 Proteínas emergentes

El abastecimiento de alimentos para garantizar la seguridad alimentaria por el acelerado crecimiento de la población ha llevado a la exploración de fuentes alternativas de alimento encabezadas por la producción de proteínas emergentes, que cumplan el papel de las proteínas animales tradicionales pero que sean altamente disponibles, eficientes y de bajo costo (8). Entre ellas podemos considerar:

2.3.2 Algas y microalgas

Las algas y microalgas son organismos autótrofos de elemental estructura que pueden ser utilizadas como suplemento dietético por su contenido de proteína (tabla 3) en productos como: galletas, tortillas, harinas, etc. Sin embargo, no poseen la cantidad de aminoácidos indispensables (tabla 4). Así como, la producción a escala comercial se ve limitada por la falta de cultivos sostenibles y rentables, puesto que para obtener altas concentraciones de proteína se necesitan insumos adicionales (cultivos mixotróficos) lo que se ve reflejado en el precio de mercado (56,57).

Tabla 3. Valor nutricional de algas verdes pardas y rojas.

Algas	Proteínas	Lípidos	Cenizas	Fibra dietética total
Grateloupia turuturu	22.9 ± 2.0	2.6 ± 0.1	18.5 ± 0.6	60.4 ± 2.3
Ulva clathrata	20.1 ± 0.1	2.2 ± 0.1	27.5 ± 0.2	40.6
Ulva lactuca	27.2 ± 1.1	0.3 ± 0.0	11.0 ± 0.1	60.5
Ulva lactuca	8.46 ± 0.01	7.87 ± 0.10	19.59 ± 0.51	54.90 ± 0.95
Durvillaea antarctica (tallo)	11.6 ± 0.9	4.3 ± 0.6	25.7 ± 2.5	-
Laminaria saccharina	25.7 ± 0.11	0.79 ± 0.07	34.78 ± 0.08	-
Hizika fusiforme	10.9 ± 1.0	1.4 ± 0.1	-	62.3 ± 0.7

Fuente: Quitral et al. Propiedades nutritivas y saludables de Algas Marinas y su potencialidad como ingrediente funcional (58).

Tabla 4. Aporte aminoacídico de la Espirulina

Puntuación de aminoácidos	His	Ile	Leu	Lys	SAA	AAA	Thr	Trp	Val
Espirulina (mg/g proteína)	2.03	4.7	6.3	3.64	3.54	3.93	4.22	0.9	5.49
Patrón FAO (mg/g proteína)	20	32	66	57	27	52	31	8.5	43

Fuente: Gutiérrez y Tello, Evaluación de la incorporación de espirulina sobre las propiedades nutricionales y sensoriales de una galleta a base de harina de trigo y kiwicha, 2018 (56).

Por razones técnicas y económicas, no es la intención aislar y utilizar solo la proteína, debido a que también posee carotenoides, polifenoles y su principal antioxidante ficocianina (78.51mg) (59), con un poder antioxidante 20 veces mayor a la vitamina C. Por estas razones su aprovechamiento en general de nutrientes es la tendencia de este producto (60,61).

2.3.2 Hongos y levaduras

Otra alternativa en desarrollo son alguna especies de hongos como el *Fusarium venenatum* que es un hongo originario de Inglaterra, utiliza 20 veces menos agua que la generación de la proteína animal, sin embargo, su cultivo aún no ha sido reproducido fuera del laboratorio por lo que se plantea desarrollar una estrategia tecnológica y comercial para descentralizar su producción y hacerlo un alimento sustentable (11). Además, el aporte proteico es aproximadamente 2 g por cada 100 g de alimento comestible en base húmeda (94% de agua) (62). En Perú en la región de Lambayeque se cultiva *Suillus luteus* para la exportación y a pesar que esta especie ya fue domesticada, su bajo aporte proteico (estado natural 4% y base seca 20%) lo limita como una fuente proteica (63).

Por el contrario, las levaduras si aportan entre 45% y 55% de contenido proteico (base seca). Este microorganismo es adecuado para la producción de proteínas unicelulares, así pues los suplementos de cereales enriquecidos con esta fuente, son similares a las proteínas animales (64). Dias et al. (65) evaluaron la digestibilidad proteica fecal en ratas para *Saccharomyces sp* en tres presentaciones entero, auto aislado y extracto, y se tomó como referencia la digestibilidad de la caseína (95%). Los resultados fueron de 83%, 86% y 95% respectivamente, a pesar de los valores altos de digestibilidad, el contenido elevado de ácidos nucleicos (3,9%-4,3%) comparado con la sardina fresca (0.32%) (12) es uno de los inconvenientes de esta fuente proteica. La concentración de ácido úrico en sangre se elevó de 1.74 mg/dl a 2.4 mg/dl. A pesar de ello, se encuentra dentro de los rangos de referencia para ratas de laboratorio (0.5 – 3.4mg/dl), sin embargo, no sería recomendable en personas con trastorno metabólico del catabolismo de las purinas (66).

Estas fuentes de proteína unicelular (microalgas y levaduras) fueron evaluadas en humanos el 2009 por la OMS y los resultados indicaron que la digestibilidad ileal fue 66% para ingesta por vía oral y 68% por vía parenteral (10).

2.3.3 Insectos

Una nueva fuente proteica emergente son los insectos, los cuales fueron autorizados desde el 1 de enero del 2018 en la Unión Europea (UE) para ser utilizados y comercializados como alimentos. En ese sentido, la entomofagia es una alternativa de fuente proteica sostenible. Los insectos ya se utilizaban para el consumo humano directo en muchas partes del mundo como en el continente Asiático y en América del norte (México)(67), sin embargo, en la antigüedad su consumo era más extendido. En Grecia (343 a.C.), Aristóteles escribió en su *Historia Animalium*: “La larva de la cigarra cuando consigue su tamaño completo se convierte en una ninfa en el suelo, entonces sabe mejor, antes de que se rompa la cáscara, es decir, antes de la última muda” (68).

En China, Li Shi Zhen en su compendio de “Materia Médica”, muestra un impresionante registro de todos los alimentos incluyendo una gran cantidad de insectos como escarabajos, saltamontes, mariposas, grillos, cucarachas, abejas, avispas, etc. Además, se destacan los beneficios medicinales. La Biblia también hace referencia al consumo de insectos de manera selectiva: “toda especie de langostas, grillos y saltamontes” (Lev 11:22) (69), en ese sentido J. Moskala (70) en la Universidad de Andrews, desarrolló una investigación con el propósito de descubrir y comprender el origen, naturaleza, razón y aplicabilidad de las estipulaciones dietéticas mencionadas en la Biblia.

La lista de animales permitidos mencionada en Levíticos 11 es única y ningún texto la contradice, el tipo de locomoción y las características anatómicas, es el atributo principal de todos los animales permitidos y debido a estas cualidades se disminuye la superficie de contacto de la parte comestible frente a la contaminación, en el caso de los insectos limpios al estar expuestos por su tamaño a una mayor contaminación es fundamental la cualidad del salto como mecanismo de defensa y de limpieza, por lo tanto si el insecto además de su cuatro patas posee dos adicionales que le permiten ejecutar esta faena se considerara como comestible.

En la actualidad, la lista de insectos comestibles publicada por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) incluye a grillos, langostas, saltamontes, y algunas especies de gusanos y escarabajos (tabla 5) (71–73).

Tabla 5. Lista de insectos comestibles autorizada por la Unión Europea

Nombre común	Nombre científico	Orden
Grillo común	<i>Acheta domesticus</i>	Orthoptera
Grillo de bicolor	<i>Gryllus assimilis</i>	Orthoptera
Grillo de campo	<i>Gryllus bimaculatus</i>	Orthoptera
Grillo rayado	<i>Gryllodes sigillatus</i>	Orthoptera
Langosta migratoria	<i>Locusta migratoria</i>	Orthoptera
Langosta del desierto	<i>Schistocerca gregaria</i>	Orthoptera
Saltamontes	<i>Schistocerca americana</i>	Orthoptera
Escarabajos de la cama	<i>Alphitobius diaperinus</i>	Coleoptera
Gusano de la harina	<i>Tenebrio molitor</i>	Coleoptera
Súper gusanos	<i>Zophobas atratus</i>	Coleoptera

Fuente: Arbeit Soziales, Gesundheit und Konsumentenschutz, Leitlinie, 2017 (16).

2.3.4 Quitina y digestibilidad

En los insectos la quitina es el símil de la celulosa por su estructura, sin embargo internamente la quitina posee aminoácidos libres que no están disponibles debido a la ausencia de quinasa en personas sin costumbres entomofágicas (74). Marono et al. (75) investigaron la relación entre el contenido de quitina y la digestibilidad de algunos insectos y encontraron que existe una correlación negativa ($P < 0.05$) entre el contenido de quitina y la digestibilidad proteica de los insectos (tabla 6).

Tabla 6. Contenido de quitina y coeficientes de digestibilidad de insectos comestibles.

Nombre común	Contenido de Quitina (Fibra)	Rango de Digestibilidad %
	100 g	
Grillo común	6.47	65 – 91
Grillo de bicolor	4.85	81.8 – 88
Grillo de campo	7.7	77 – 81.2
Langosta migratoria (larvas)	7.5	80
Langosta del desierto	27	43.8
Gusano de la harina	18	65.5
Súper gusanos	17	63

Fuente: Compilación de: Bosch et al. Protein Quality of Insects as Potential Ingredients for Dog and Cat Foods. 2014, (76); Pacheco, Análisis Comparativo del Contenido Proteínico entre dos Órdenes de Artrópodos del Noreste de México (Orthoptera y Arachnida) y Grupo Cárnico (Artiodactyla) como Alternativa de Complemento Alimenticio, 2010 (77); Norhidayah et al. Apparent Digestibility Coefficients and Amino Acid Availability of Cricket Meal, *Gryllus bimaculatus*, and Fishmeal in African Catfish, *Clarias gariepinus*, Diet, 2016, (20); Lenka Kouřimská y Anna Adámková, Nutritional and sensory quality of edible insects Lenka, 2016, (78).

2.3.5 Descripción del *Gryllus assimilis*

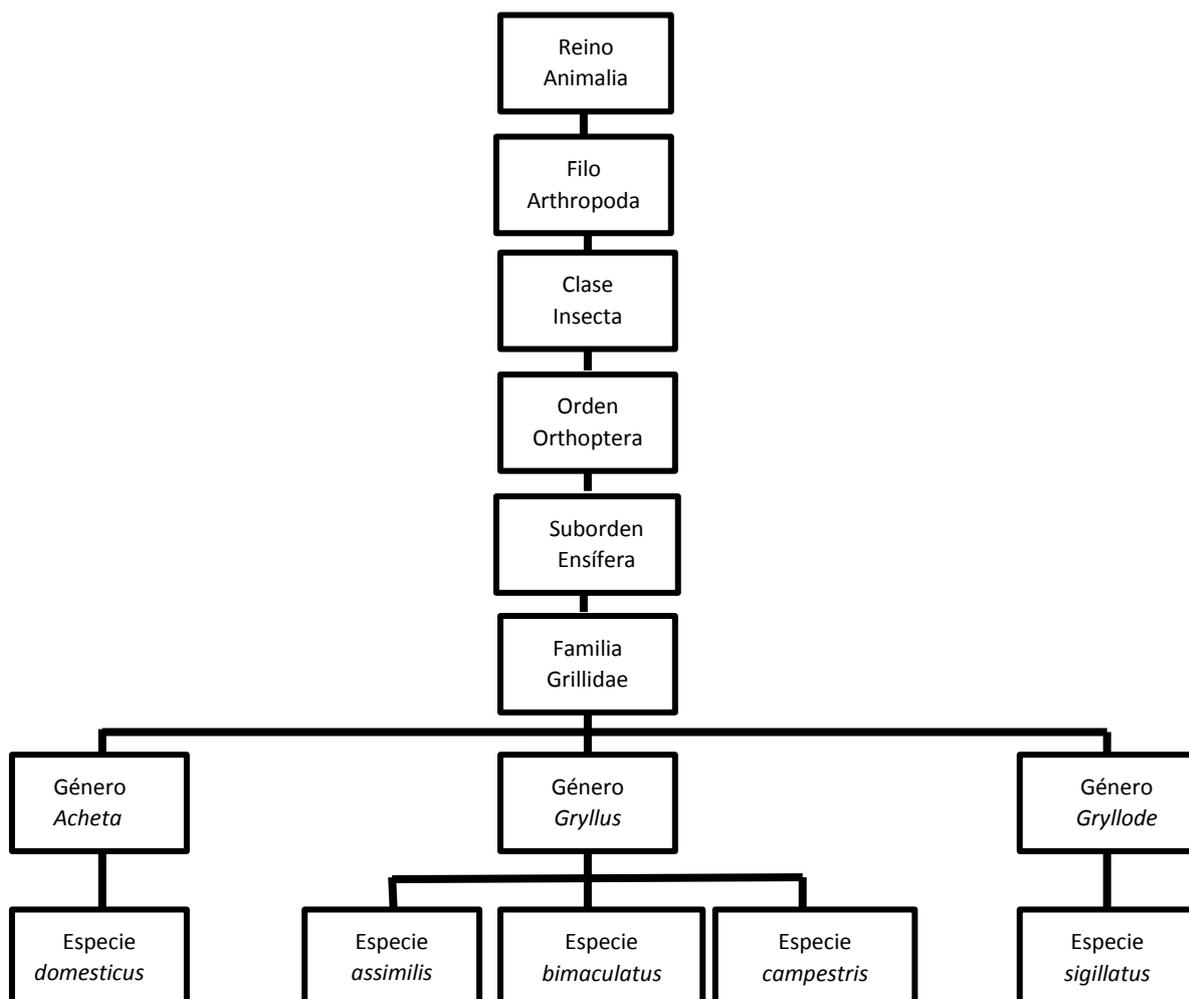
La especie *Gryllus assimilis* es un insecto de la orden Orthoptera y de la familia Gryllidae (Figura 9). Conocidos como grillos bicolors o grillos silenciosos, éste último nombre es atribuido debido a que no emiten un canto prolongado, se caracterizan por poseer exoesqueletos centrales, miden entre 25 y 30 milímetros de largo, las hembras

son mayores que los machos y el cuerpo es de color pardo oscuro. Las hembras de esta especie presentan una estructura oscura, fina y delgada situada entre los dos pelos sensores al final de su abdomen, llamada ovopositor u oviscapto lo cual facilita la diferenciación de los sexos (figura 10) (79).

Su locomoción tiene dos variantes: su desplazamiento terrestre al ras del suelo que a diferencia de otros insectos no fricciona su cuerpo al momento de desplazarse debido a sus dos patas delanteras, las mismas que le permiten adicionar a este movimiento el salto de hasta 30 veces su tamaño corporal (70).

A partir de las ocho semanas de vida, los grillos son capaces de reproducirse. Cada macho puede fecundar a 25 hembras aproximadamente y éstas pueden llegar a poner entre 150 y 200 huevos a lo largo de su vida. El *Gryllus assimilis*, al igual que todos los grillos, poseen 3 etapas de vida: larva, ninfa y grillo adulto (80).

Figura 9. Taxonomía del *Gryllus assimilis*



Fuente. Vignolo C. 2015 (79).

Figura 10. *Gryllus assimilis* macho y hembra



Fuente. Vignolo C. 2015 (79).

2.3.6 Valor nutricional de la harina *Gryllus assimilis*

La distribución de esta especie se concentra en Norte América (sur de los Estados Unidos, México) y Sudamérica (Colombia y Perú), los valores nutricionales (tabla 7) corresponden a ejemplares de territorio peruano y mexicano (81).

Tabla 7. Análisis proximal y digestibilidad in vitro del *Gryllus assimilis*

Harina de grillo <i>Gryllus assimilis</i>	% en base seca 100 g
Proteínas	54.69%
Grasas	29.78%
Cenizas	2.83%
*Fibra	4.85%
Carbohidratos	7.85%
%Digestibilidad in vitro	88.05%
*Se considera la cantidad de quitina del insecto, parte no digerible	

Fuente: Koga R. 2014 (82), Pacheco A. 2010 (77).

En cuanto a las dos especies de grillos restantes se reportan para el grillo común (*Acheta domesticus*) rangos de digestibilidad más altos y para el grillo de campo (*Gryllus bimaculatus*) el menor aporte proteico de las tres especies (tabla 8).

Tabla 8. Digestibilidad y aporte proteico de las especies de grillos

Nombre común	Nombre científico	Rango de aporte proteico en 100 g	Rango de digestibilidad
Grillo común	<i>Acheta domesticus</i>	60.6 - 70	65% - 91%
Grillo de bicolor	<i>Gryllus assimilis</i>	66.9 - 75	81.8% - 88%
Grillo de campo	<i>Gryllus bimaculatus</i>	57 - 58	77% - 81.2%

Fuente: Compilación, Bosch et al. Protein Quality of Insects as Potential Ingredients for Dog and Cat Foods. 2014, (76);

Pacheco, Análisis Comparativo del Contenido Proteínico entre dos Órdenes de Artrópodos del Noreste de México (Orthoptera y Arachnida) y Grupo Cárnico (Artiodactyla) como Alternativa de Complemento Alimenticio, 2010 (77), (20).

2.4 Antecedentes de Investigación

El 2017, Miech et al. (83) en Camboya evaluaron el aporte proteico y la digestibilidad de la harina de grillo (*Gryllus campestris*) en cerdos. Para la evaluación de la digestibilidad se prepararon dos dietas: la primera incluía todo el insecto molido y la segunda grillos pelados (sin patas). El aporte proteico se determinó con el método de Kjeldhal resultando el 62.5% para harina de grillo entero y el 60% para harina de grillo pelado. La digestibilidad de la harina de grillos enteros fue del 84% y la digestibilidad de la harina de grillos pelados fue de 83%, por lo tanto, se concluyó que no existen diferencias significativas de digestibilidad para grillos pelados y se recomendó utilizar la totalidad del insecto para evitar merma (38% de total).

El mismo año, en Indonesia Jayanegara et al. (84) evaluaron el aporte proteico y la digestibilidad in vitro de la harina de grillo (*Gryllus assimilis*), para dichas pruebas elaboraron tres muestras, muestra 1 (harina de grillo entero), muestra 2 (harina de grillo sin patas, alas y cabeza) y muestra 3 (harina de grillo previa deslipidación). El aporte proteico de las muestras se determinó por el método de Kjeldahl siendo el resultado: el 54.1%, 50.3% y 62% respectivamente. Al determinar la digestibilidad, se obtuvieron los siguientes coeficientes 78.9%, 80.8% y 89.5% respectivamente. Además, se determinó el contenido de quitina en dos muestras: harina de grillo entero (7.7%) y harina de grillo sin exoesqueleto (3.5%). Se concluyó que la remoción del exoesqueleto mejora levemente la digestibilidad (1.9%), sin embargo, la eliminación de este afecta el contenido proteico en comparación al entero (8.2%).

En Malasia el 2016 Norhidayah et al. (20) evaluaron el aporte proteico y la digestibilidad de la harina de grillo (*Gryllus bimaculatus*) en bagres africanos. Los grillos fueron adquiridos de una granja local, para luego ser procesados en harina. El aporte de proteico se determinó con el método de Kjeldahl y dio como resultado el 57% de proteína. Se evaluó la digestibilidad proteica de la dieta (harina de grillo, arroz y soya, mezcla al 30% de proteína) y se obtuvo un coeficiente de digestibilidad de 81.21%. Además, se evaluó la digestibilidad de los aminoácidos esenciales de la dieta. El coeficiente de digestibilidad más alto (96.1%) fue de lisina mientras que la metionina obtuvo el coeficiente más bajo (90.6%). Se concluyó que la proteína de grillo en una dieta mixta tiene una digestibilidad alta y los aminoácidos de la misma tienen una digestibilidad muy alta, por lo que se recomienda el uso de esta fuente en dietas mixtas.

En Indonesia el 2016, Apri et al. (85) evaluaron el aporte proteico de la harina de grillo (*Gryllus bimaculatus*) y la digestibilidad proteica in vivo de una dieta mixta en corderos. La

determinación del aporte proteico se realizó con el método de Kjeldahl resultando 58%. Para la evaluación de la digestibilidad se utilizaron 12 corderos a los cuales se le administró una dieta isoproteica (17%). La mezcla contenía harina de *Gryllus bimaculatus* y *Brachiaria humidicola* como forraje. El resultado de la digestibilidad fue 77%. Se concluyó que la harina de grillo puede reemplazar el alimento tradicional del ganado (soya), lo cual ayudaría a reducir la producción de metano significativamente.

En Holanda el 2013, Bosch et al. (76) evaluaron el aporte proteico y la digestibilidad in vitro de la harina de dos insectos (*Acheta domesticus* y *Blaptica dubia*). El contenido proteico se determinó con el método de Kjeldahl obteniendo un aporte de 70% y 64.4% respectivamente. La digestibilidad in vitro fue 91.7% para la harina de *Acheta domesticus* y 83.8% para el *Blaptica dubia*. Se concluyó que la harina de grillo y la harina de cucaracha poseen un alto contenido proteico, sin embargo, el contenido en aminoácidos de la harina de *Blaptica dubia* no cubre el patrón FAO de referencia (10) debido a su digestibilidad menor.

En México, Pacheco (77) en el 2010, realizó un estudio para evaluar el aporte proteico y la digestibilidad in vitro de dos insectos: el grillo (*Gryllus assimilis*) y la tarántula (*Brachypelma vagans*). El aporte proteico se obtuvo con el método de Kjeldahl resultando 75.32 % de proteína para el *Gryllus assimilis* y el 85.04 % de proteína para la tarántula (*Brachypelma vagans*). Para la prueba de digestibilidad se utilizó el método in vitro dando como resultados: 88.05% de coeficientes de digestibilidad para el grillo y 85.15 % de coeficiente de digestibilidad para la tarántula. El contenido de quitina fue determinado de manera indirecta mediante el factor de nitrógeno en quitina (6.8%), para estimar este valor se realizaron dos procedimientos (desmineralización y desproteinización).

Roberto Koga et al. (23) en 1999 fueron los pioneros en Perú en evaluar el aporte proteico y la digestibilidad in vitro en base seca del grillo al cual denominaron: *Gryllus peruviansis*. La muestra se recolectó manualmente en el Valle de Mala, el aporte proteico fue determinado en base seca (humedad 69.3%) obteniendo el 66.9% de proteínas por el método de Kjeldahl y un coeficiente de digestibilidad por pepsina del 81.8%. El contenido de fibra (13.0%) se determinó por digestión acida y alcalina. Sin embargo, el investigador no utilizó la taxonomía oficial para denominar al grillo de este estudio puesto que sólo existen tres especies de este género: *Gryllus assimilis*, *Gryllus bimaculatus* y *Gryllus campestris*, todos ellos propios de nuestra región (86). Por lo tanto, no se tiene una referencia exacta de estos valores nutricionales para ser asociado con alguna de estas tres especies.

Posteriormente, Pérez et al. (25) en Trujillo en el 2012, realizaron un estudio para evaluar el aporte proteico y la digestibilidad fecal de la harina de grillo (*Acheta domesticus*), parte de la muestra fue seleccionada manualmente en la ciudad de Talara y el resto de la muestra fueron criados en el laboratorio, los resultados determinaron un 60.66% de proteína para los grillos de laboratorio y 61.05% de proteína para los grillos de campo ambos por el método de Kjeldhal. La digestibilidad fecal se realizó mediante la recolección de heces de cuatro roedores resultando un coeficiente de digestibilidad del 65%, el aporte de fibra fue incluido en carbohidratos totales. A diferencia de Koga (82) esta vez se utilizó correctamente la taxonomía, sin embargo, para el proceso de elaboración de harina se utilizaron morteros, por lo cual los resultados no provienen de una muestra homogénea, además, no se determinó el aporte de quitina (fibra).

Capítulo III

Materiales y métodos

3.1 Lugar de ejecución

La elaboración de la harina de *Gryllus assimilis* se realizó en el Centro de Investigación de Tecnología de Alimentos (Cital) de la Universidad Peruana Unión, el análisis proximal y la digestibilidad *in vitro* se realizaron en los laboratorios de Inspection & Testing Service del Perú S.A.C.

3.2 Materia prima, insumos y equipos

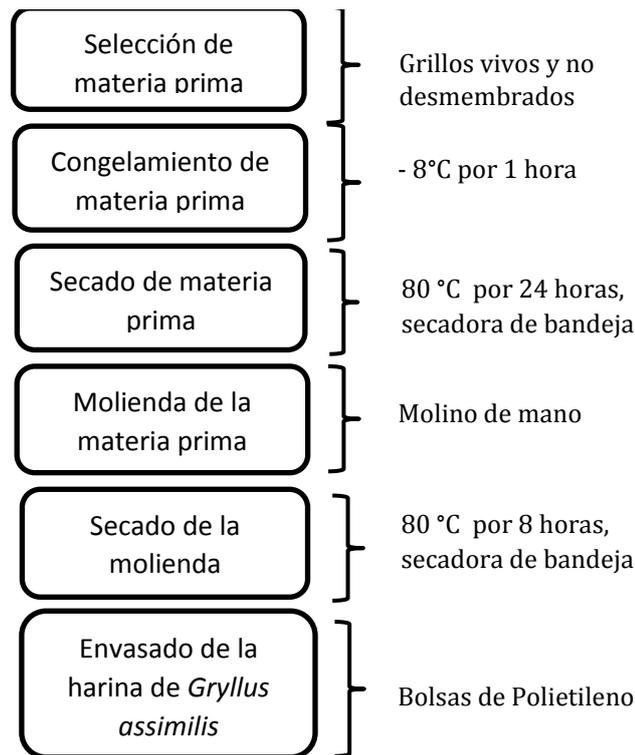
La materia prima estuvo conformada por 4 000 grillos adultos (*Gryllus assimilis*) con un peso total de 2.2 kg sin procesar (anexo 1).

- Bandejas de aluminio
- Bowl
- Secador de bandeja, Marca: Innova, Modelo: QB-60
- Molino de mano
- Bolsas de polietileno
- Congeladora vertical
- Balanza electrónica

3.3 Flujo de la elaboración de la harina de *Gryllus assimilis*

La materia prima se procesó siguiendo el flujo descrito en la *figura 11*, los detalles se presentan en el anexo 2.

Figura 11. Flujo de elaboración de la harina de Gryllus



Fuente: (87)(72)(88)

3.4 Análisis de la harina de *Gryllus assimilis*

3.4.1 Análisis proximal

Se realizó según el método Association of Official Analytical Chemistic (AOAC) (Anexo 3), 20th edición 2016, los contenidos de humedad, proteína cruda, grasa, fibra cruda y extracto libre de nitrógeno

3.4.2 Determinación de la digestibilidad proteica in vitro

Se determinó la digestibilidad proteica in vitro de la harina de *Gryllus assimilis*, mediante el análisis de piensos y forrajes Max Becker 1961 (anexo 4).

3.5 Diseño y tipo de estudio

El estudio tuvo un enfoque cuantitativo no experimental, de tipo descriptivo de corte transversal.

Capítulo IV

Resultados y discusión

4.1 Rendimiento

Con una cantidad de 2.2 kg determinados por el peso promedio individual del insecto (anexo 5) (4000 grillos aproximadamente) se obtuvo 410 g de harina de *Gryllus assimilis*, el rendimiento obtenido fue del 18.6% (tabla 9). En concordancia, Portillo et al. (88) informaron un rendimiento de 17%, también se utilizó el procedimiento de doble secado; en discordancia, en Guatemala Icó et al. (89) reportaron un 31% de rendimiento, debido al proceso de secado, porque solo se realizó una vez. Por otra parte, en España Pérez (90) obtuvo un rendimiento del 35.6% mediante el proceso de liofilización, este proceso duplica el rendimiento del método tradicional e incrementa la concentración proteica.

Tabla 9. Rendimiento de la harina de grillo.

Harina de grillo	% de rendimiento	Metodología	N° de secados
Perú 2019	18.60%	Tradicional	2
El Salvador 2017	17%	Tradicional	2
Guatemala	31%	Tradicional	1
España	35.60%	Liofilización	1

Fuente: Compilación de datos (88)(89)(90).

4.2 Análisis proximal

Los resultados del ensayo (anexo 6) de análisis proximal se muestra en la tabla 10. Y el aporte proteico de la harina de grillo es de 56.7%, este valor es similar a lo reportado en Perú por Koga et al. (96) sin embargo, existe discordancia con los valores reportados en El Salvador (88), Brasil (91), Ecuador (92) y Colombia (93) con valores de 60%, 62.1%, 63% y 67.1% respectivamente (tabla 11). Cabe mencionar, que estos países presentan un clima más cálido, lo cual es propicio para el desarrollo y el crecimiento del grillo. Por otro lado, Pacheco et al. (77) reportó el valor más alto en México con 75.32%, este valor se justifica debido a las granjas de crianza que existen en este país, donde la entomofagia tiene una larga tradición y el proceso de obtención de la harina se encuentra estandarizado. En contra parte, en Guatemala Icó et al. (89) reportaron el valor más bajo con 38%, la razón se encuentra en el proceso de obtención de la harina la cual solo fue secada una vez.

Tabla 10. *Análisis proximal de la harina de Gryllus assimilis*

Parámetro	Resultado (%)
Proteína cruda	56.7
Grasa	21.3
Fibra cruda	4.9
Ceniza	2.1
Humedad	8.2
Extracto libre de nitrógeno	6.8

Fuente: de Inspection & Testing Service del Perú S.A.C.

Tabla 11. *Aporte proteico de la harina de grillo en países de América*

País de origen	Aporte proteico (%) en 100 g base seca
Perú	54.7
Guatemala	38
El Salvador	60
Brasil	62.1
Ecuador	63
Colombia	67.1
México	75.3

Fuente: Compilación de datos (23)(89)(88)(91)(92)(93)(77).

Con respecto a los valores proteicos de la harina de grillo reportados en otros continentes (tabla 12), se aprecian valores similares en Indonesia (84), Malasia (20) y China (94) con 54.1%, 57% y 58.3% respectivamente, además, coeficientes más altos se informó en Camboya (83) e India (95) con 62.5% y 65%. Por último, en Holanda Bosch et al. (76) reportaron un aporte proteico 13.3% más alto que el presente estudio, esto se debe al proceso de obtención de la harina. La materia prima se liofilizó retirando así la humedad por sublimación permitiendo una concentración más alta de todos los macronutrientes.

Tabla 12. *Aporte proteico de la harina de grillo en otros continentes*

País de origen	Aporte proteico (%) en 100 g base seca
Indonesia	54.1
Malasia	57
China	58.3
Camboya	62.5
India	65
Holanda	70

Fuente: Compilación de datos (85)(20)(94)(83)(95)(76).

El aporte proteico de harina de *Gryllus assimilis* en relación a otras harinas es similar con el *Tenebrio molitor* (Tabla 13) así lo reporta De Marco et al. (96) y Yi et al. (97), ambos concuerdan con un 52%. Además, el presente estudio se debe contrastar con productos en base seca (harinas y polvos) para no sobreestimar el aporte proteico, en ese contexto la harina de pescado es superior en contenido proteico con 68% FAO (98), no obstante su aplicación como producto terminado es limitada por sus características organolépticas. En contraste, la leche entera en polvo tiene una alta difusión comercial, siendo su contenido proteico 27%, le sigue la harina de trigo con 10.5% y la harina de maíz con 8.7% (98).

Tabla 13. *Aporte proteico de otras harinas*

Tipo de harina	Aporte proteico (%) en 100 g base seca
Harina de <i>Tenebrio molitor</i>	52
Harina de pescado	68
Leche entera en polvo	27
Harina de maíz	8.7
Harina de trigo	10.5

Fuente: Compilación de datos (96) (98).

4.3 Digestibilidad

El resultado del ensayo (anexo 6) de digestibilidad proteica *in vitro* fue 85.7% (Tabla 14), dicho valor está dentro del rango de digestibilidad *in vitro* de las proteínas de los insectos documentados (77.9% al 98.9%) (99). Un valor similar (tabla 15) se informó en Perú en 1999 por Koga et al. (23) 81.8% no obstante, no se clasificó taxonómicamente al insecto el cual fue bautizado como *Gryllus peruviansis*, especie que no se encuentra reconocida por la entomología (86). Por otra parte, en México Pacheco (77) reportó un coeficiente de digestibilidad de 88.05% y un valor semejante en Guatemala 87% (89). Se puede apreciar que los valores de digestibilidad para grillos de la región son similares.

Tabla 14. *Digestibilidad proteica in vitro de la harina de Gryllus assimilis*

Parámetro	Resultado (%)
Digestibilidad por pepsina	85.7

Fuente: Inspection & Testing Service del Perú S.A.C.

Tabla 15. Digestibilidad proteica *in vitro* de la harina de grillo en países de América

País de origen	Digestibilidad proteica <i>in vitro</i> (%)
Perú	81.8
México	88.1
Guatemala	87

Fuente: Compilación de datos (23)(77)(89).

Con respecto a la digestibilidad proteica *in vitro* reportada en Asia, Europa y África. Valores similares al presente estudio (tabla 16) se documentaron en Camboya, Miech et al. (83) determinaron la digestibilidad de este insecto en 83%, del mismo modo, en Malasia Norhidayah et al. (20) calcularon la digestibilidad del grillo en 81.21%, por otra parte, se reportaron coeficientes más altos al presente estudio (superiores al 90%) en territorio británico donde Dierenfeld et al. (100) determinaron la digestibilidad más alta en cuanto a grillos se refiere 95.22%, cabe mencionar, que los insectos provienen de una isla en altamar. Del mismo modo, en Nigeria, Adebowale et al. (101) calcularon la digestibilidad proteica *in vitro* en machos y hembras 90.7% y 94.7% respectivamente. En contra parte, se reportaron valores inferiores a este estudio (menores al 80%) en Indonesia, Jayanegara et al. (84) informaron valores para *Gryllus assimilis* de 78.9% y en la India, Stone et al. (95) señalaron 76.2%.

Tabla 16. Digestibilidad proteica *in vitro* de la harina de grillo en otros continentes

País de origen	Digestibilidad proteica <i>in vitro</i> (%)
Camboya	83
Malasia	81.2
Monserrat	95.2
Nigeria machos	90.7
Nigeria hembras	94.7
Indonesia	78.9
India	76.2

Fuente: Compilación de datos (83)(20)(100)(101)(84)(95).

La digestibilidad de la harina de grillo de este estudio, en comparación a dietas mixtas (con harina de grillo como fuente proteica), fue superior para valores menores al 15% de proteína de grillo (tabla 17), así se aprecia en el estudio de Pérez et al. (25) quienes incluyeron proteína de grillo al 10% en una dieta mixta, resultando el 65% de digestibilidad proteica. Por el contrario, en Camboya Miech et al. (83) formularon una dieta mixta al 18.4% de proteína de grillo, la digestibilidad obtenida fue 73%. También, en Indonesia Jayanegara et al. (84) incrementaron la fracción proteica al 30%, obteniendo 78.9% de digestibilidad proteica, también se reportaron valores similares al presente estudio (mayor

al 80%) para dietas mixtas. En China, Wang et al. (94) obtuvieron una digestibilidad proteica del 85% en una dieta mixta al 15% de proteína; y la digestibilidad proteica para dietas mixtas más alta fue reportada en Holanda por Bosch et al. (76) con 88% con un aporte proteico al 29.4%. Estos valores reportados en China y Holanda, similares al presente estudio son producto de la deslipidación de la harina como parte del proceso de obtención de la misma.

Tabla 17. Porcentajes de harina de grillo en dietas mixtas y su digestibilidad proteica

País de origen	Harina de grillo (%) en dietas mixtas	Digestibilidad proteica (%)
Perú	10	65
Indonesia	30	78.9
Camboya	18.4	84
China	15	85
Holanda	29.4	88

Fuente: Compilación de datos (25)(84)(83)(94)(76).

Al comparar la digestibilidad proteica *in vitro* de las harinas de *Gryllus assimilis* y *Tenebrio molitor* se encontró un valor similar (tabla 18) al reportado el 2016 por Yi et al.(97) en Holanda con 80%, sin embargo, este coeficiente solo refleja la digestibilidad de la fracción sobrenadante, siendo menores los valores del sedimento y el residuo con 50% y 24% respectivamente. Adicionalmente, el 2015 De Marco et al. (96) reportaron una digestibilidad proteica del 60%, esta vez se analizó la proteína completa y se utilizó la metodología de digestibilidad fecal (pollos). Por otro lado, al compararlo con los valores de digestibilidad reportados por la FAO (2011) para algunos alimentos se encontraron valores similares con la harina de maíz con el 82% y la leche entera en polvo con 89%, ambos alimentos fueron evaluados en humanos utilizando la metodología de digestibilidad ileal.

En contraparte, valores superiores al 90% se obtuvieron para la harina de trigo en humanos con 92% y leche entera en polvo en ratas con el 92%, también mediante digestibilidad ileal. Cabe mencionar, en productos procesados la digestibilidad *in vivo* está en función del procesamiento de la materia prima, por lo tanto, un producto procesado incorrectamente puede subestimar la digestibilidad proteica *in vivo* en contingencia, a este inconveniente la FAO propone realizar la digestibilidad *in vitro* como medida indirecta del adecuado procesamiento de la materia prima para productos procesados.

Tabla 18. Digestibilidad proteica de otras harinas

Tipo de harina	Digestibilidad proteica (%)
Harina de <i>tenebrio molitor</i>	60
Harina de <i>tenebrio molitor</i> (fracción sobrenadante)	80
Harina de pescado	94
Leche entera en polvo	89
Harina de maíz	82
Harina de trigo	92

Fuente: Compilación de datos (96)(97)(10).

4.4 Factores relacionados a digestibilidad proteica y aporte proteico

Debido a la presencia de aminoácidos no disponibles en la quitina, estos sobrestiman el aporte proteico de los insectos, sin embargo, la prueba de digestibilidad mide indirectamente esta sobrestimación; por lo tanto, a mayor cantidad de fibra (quitina) menor digestibilidad proteica (74,75). Esta correspondencia se aprecia en lo reportado el 2016 por Kouřimská et al. (21) quienes determinaron el contenido de fibra (quitina) de algunos insectos, los cuales al ser contrastados con los valores de digestibilidad reportados por los investigadores anteriores muestran esta reciprocidad inversa.

Tabla 19. Digestibilidad proteica y fibra en algunos insectos

Insectos	Digestibilidad proteica (%) base seca	Fibra 100 g base seca (%)
<i>Gryllus assimilis</i>	88	4.9
<i>Schistocerca gregaria</i>	43.8	27
<i>Zophobas atratus</i>	63	17
<i>Tenebrio molitor</i>	60	18

Fuente: Compilación de datos (72)(73)(21).

Con relación a la sobrestimación proteica de los insectos, el 2017 Janssen et al. (102) propusieron dos factores de conversión de nitrógeno (Kp) 4.76 para insectos en estado larvario y 5.60 para insectos maduros. Estos factores provienen del análisis del aislado de proteína, siendo esta la única metodología recomendada por la FAO para estimar la proteína verdadera de un alimento (27). Así pues, se determinó que el contenido de nitrógeno en la proteína de insectos adultos fue de 18.8% y en estado larvario 21%, a partir de estos valores se calcularon los Kp mencionados anteriormente. Se seleccionaron estudios que calculan el aporte proteico de diversos insectos utilizando el Kp 6.25 y se corrigieron en función a su estado larvario o de madurez (tabla 20).

Tabla 20. Aporte proteico corregido de la harina de insectos diversos

Insecto	Aporte proteico (%) 100 g base seca (Kp 6.25)	Estado de maduración	Aporte proteico corregido (%) 100 g base seca (Kp 5.60; 4.76)
<i>Gryllus assimilis</i>	56.7	Adulto	51
<i>Acheta domesticus</i>	60.7	Adulto	54
<i>Tenebrio molitor</i>	52	Larva	40
<i>Brachypelma vaganas</i>	72.4	Adulto	65
<i>Periplanetas americanas</i>	52.1	Adulto	47
<i>Locusta migratoria</i>	50.8	Adulto	46

Fuente: Compilación de datos (102)(25)(96)(77)(103).

Capítulo V

Conclusiones y recomendaciones

5.1 Conclusiones

El rendimiento de la harina de *Gryllus assimilis* fue del 18.6%.

El contenido de macronutrientes en base seca del *Gryllus assimilis* fue proteínas 56.7%, Grasa 21.3%, fibra cruda 4.9%, cenizas 2.1%, humedad 8.2% y extracto libre de nitrógeno 6.8%.

La digestibilidad proteica *in vitro* del *Gryllus assimilis* fue de 85.7%.

5.2 Recomendaciones

Estandarizar el proceso de elaboración de la harina de grillo, de preferencia utilizando el método de liofilización (para mayor rendimiento).

Utilizar factores de conversión de nitrógeno para insectos a fin de evitar sobrestimar el aporte proteico, el Kp 5.60 para insectos en etapa adulta y Kp 4.76 en etapa larvaria.

Realizar el score aminoacídico de cualquier harina de insecto y contrastarlo con los patrones de referencia para efectos reguladores FAO 2007.

Evaluar la digestibilidad proteica de otros insectos con un bajo contenido de quitina.

Referencias

1. Organización de las Naciones Unidas. Creciendo a un ritmo menor [Internet]. un.org. Estados Unidos; 2019. p. 1–2. Available from: https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2019_PressRelease_ES.pdf
2. Organización de las Naciones Unidas. World Population Prospects. Key Find Adv [Internet]. 2015;ESA/P/WP.2. Available from: isbn: 9783540773405
3. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. La Agricultura Mundial en la Perspectiva del Año 2050 [Internet]. fao.org. Roma; 2009. Available from: http://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/Issues_papers/Issues_papers_SP/La_agricultura_mundial.pdf
4. Hoddinott J, Rosegrant M, Torero M. Hunger and Malnutrition: Copenhagen Consensus 2012 [Internet]. copenhagenconsensus.com. Copenhagen; 2012. Available from: <https://www.copenhagenconsensus.com/sites/default/files/Hunger+and+Malnutrition.pdf>
5. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Perú: 100 mil personas más con hambre según última medición de FAO y OPS [Internet]. fao.org. Perú; 2017. p. 6–8. Available from: [file:///C:/Users/hp/Downloads/http___www_fao_org_peru_noticias_detail-events_es_c_1042970_\(1\).pdf](file:///C:/Users/hp/Downloads/http___www_fao_org_peru_noticias_detail-events_es_c_1042970_(1).pdf)
6. Instituto Nacional de Estadísticas e Informática. Desnutrición crónica afectó al 12,2% de la población menor de cinco años de edad en el año 2018 [Internet]. inei.gob.pe. Perú; 2019. Available from: <https://www.inei.gob.pe/prensa/noticias/desnutricion-cronica-afecto-al-122-de-la-poblacion-menor-de-cinco-anos-de-edad-en-el-ano-2018-11370/>
7. Gobierno del Perú. Sesión 126 : Aprobación de la Visión del Perú al 2050 [Internet]. acuerdonacional.pe. Perú; 2019. Available from: <http://acuerdonacional.pe/2019/04/sesion-126-aprobacion-de-la-vision-del-peru-2050/>
8. Baigts D. Proteínas emergentes y su aplicación en la industria alimentaria. Vitae [Internet]. 2016;23:27–30. Available from:

- https://www.researchgate.net/publication/300926646_Emergent_proteins_and_its_application_in_the_food_industry
9. García R. Producción de biomasa de microalgas rica en carbohidratos acoplada a la eliminación fotosintética de CO₂ [Internet]. 2014. Available from: doi.org/10.15174/au.2017.1388
 10. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Fundación Iberoamericana de Nutrición. Evaluación de la calidad de la proteína de la dieta en nutrición humana [Internet]. Nueva Zelanda; 2011. Available from: isbn: 978-84-697-74731
 11. Berka R, Rey M. *Fusarium venenatum*. Sci Direct [Internet]. 2017; Available from: [doi.org/10.1016/S1874-5334\(04\)80010-8](https://doi.org/10.1016/S1874-5334(04)80010-8)
 12. Farag M. Effect of different cooking methods on nucleic acid nitrogen bases content of fresh sardine fish and its nutritive value. World Journal Dairy Food Sci [Internet]. 2013;8(2):156–64. Available from: doi: 10.5829/idosi.wjdfs.2013.8.2.75129
 13. Jönsson E. Benevolent technotopias and hitherto unimaginable meats: tracing the promises of in vitro meat. Soc Stud Sci [Internet]. 2016;46(5):725–48. Available from: doi: 10.1177/0306312716658561
 14. Cartín A, Ortiz P. Ventajas y desventajas del cultivo de carne in vitro: perspectivas desde la seguridad alimentaria. Rev Med Vet (Bogota) [Internet]. 2017;(36):135–44. Available from: doi: 10.19052/mv.5179
 15. Schillewaert S. Overzicht van bedrijven betrokken in de eetbare insecten sector regio België - Nederland [Internet]. leden.inagro.be. Bélgica; 2018. p. 11. Available from: https://leden.inagro.be/DNN_DropZone/Nieuws/4475/Overzicht_bedrijven_insecten_sector_final.pdf
 16. Arbeit Soziales Gesundheit und Konsumentenschutz. Leitlinie [Internet]. eur-lex.europa.eu. Alemania; 2017. Available from: [https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:52019XC0620\(01\)&from=EN](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:52019XC0620(01)&from=EN)
 17. Evisa Guide. Insects as Food [Internet]. ruokavirasto.fi. Finlandia; 2018. p. 2–44. Available from: https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/tietoa-meista/asiointi/oppaat-ja-lomakkeet/yritykset/elintarvikeala/alkutuotanto/eviran_ohje_10588_2_uk.pdf
 18. Ministry of Environment and Food Danish Veterinary and Food Administration.

- Insects – Rearing and use as feed and food in Denmark and the EU – What is allowed and what is not ? [Internet]. foedevarestyrelsen.dk. Dinamarca; 2017. Available from: [https://www.foedevarestyrelsen.dk/SiteCollectionDocuments/Kemi og foedevarekvalitet/GMO-Novel food-Nano-Bestraaling/Dokument on insects - English version - updated 28.11.2017.pdf](https://www.foedevarestyrelsen.dk/SiteCollectionDocuments/Kemi%20og%20foedevarekvalitet/GMO-Novel%20food-Nano-Bestraaling/Dokument%20on%20insects%20-%20English%20version%20-%20updated%2028.11.2017.pdf)
19. Agency Food Standards. The novel foods regulations (Northern Ireland) 2017 [Internet]. food.gov.uk. Irlanda; 2017. Available from: https://www.food.gov.uk/sites/default/files/media/document/consultation-pack-novel-food-regs-ni-2017_0.pdf
 20. Norhidayah T, Hasniyati M, Ameenat R, Razak S. Apparent digestibility coefficients and amino acid availability of cricket meal , *Gryllus bimaculatus* , and fishmeal in African catfish, *clarias gariepinus* , Diet. *J World Aquac Soc* [Internet]. 2016; Available from: doi: 10.1111/jwas.12302
 21. Kouřimská L, Adámková A. Nutritional and sensory quality of edible insects. *NFS J* [Internet]. 2016;4:22–6. Available from: doi: 10.1016/j.nfs.2016.07.001
 22. Manditsera F, Luning P, Fogliano V, Lakemond C. Effect of domestic cooking methods on protein digestibility and mineral bioaccessibility of wild harvested adult edible insects. *Food Res Int* [Internet]. 2019;121:404–11. Available from: doi: 10.1016/j.foodres.2019.03.052
 23. Koga R, Garcia F, Carcelén F, Arbaiza T. Valor nutricional del *Gryllus peruviansis* (Orthoptera: Gryllidae). *Rev Inv Vet Perú* [Internet]. 1999; Available from: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/veterinaria/article/view/6627>
 24. Pantoja C, Bermúdez G. Extracción y caracterización del aceite de las larvas del *Tenebrio molitor*. *Rev Soc Quim Perú* [Internet]. 2010;76(4):407–14. Available from: ISSN 1810-634X
 25. Pérez R, Rodas R. Elaboración y caracterización de harinas para consumo humano a partir de *Achetas domesticus* y *Periplanetas americanas* [Internet]. 2012. Available from: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/3430>
 26. Apolo L, Iannacone J. Crianza del grillo (*Acheta domesticus*) como fuente alternativa de proteínas para el consumo humano. *Scientia* [Internet]. 2015;17(17):161–73. Available from: doi: 10.31381/scientia.v17i17.389
 27. Jones B. Factors for converting percentages of nitrogen in foods and feeds into percentages of proteins [Internet]. foodfacts.foodcomp.info. Washington; 1931.

- Available from: http://foodfacts.foodcomp.info/References/Protein/Jones_1941_nitrogen-protein_conversion_cir183.pdf
28. Botham KM, Mayes PA. Harper- Bioquímica Ilustrada. 29th ed. Lange, editor. China; 2013.
 29. Katsung G, Trevor A. Farmacología Básica y Clínica. 13th ed. Lange, editor. China; 2016.
 30. Sanchez L, Calvo M, Brock JH. Biological role of lactoferrin. Arch Dis Child [Internet]. 1992;67(5):657–61. Available from: doi:10.1136/adc.67.5.657
 31. Triana BEG, Soto OD, Espina AML, Bernabeu AS. Principales proteínas salivales: Estructura, función y mecanismos de acción. Rev Habanera Ciencias Medicas. 2012;11(4):450–6.
 32. Luque V. Estructura Y Propiedades de las Proteínas [Internet]. Vol. 5. 2011. Available from: http://www.uv.es/tunon/pdf_doc/proteinas_09.pdf
 33. Kathleen L, Escott - Stump S, Raymind J. Krause Dietoterapia [Internet]. 13th ed. Elsevier, editor. 2018. Available from: doi:10.1017/CBO9781107415324.004
 34. Mederos Y. Indicadores de la calidad en el grano de frijol (*Phaseolus vulgaris* L). Cultiv Trop [Internet]. 2006;27(3):55–62. Available from: issn: 1819-4087
 35. Bos C, Juillet B, Fouillet H, Turlan L, Daré S, Luengo C, et al. Postprandial metabolic utilization of wheat protein in humans. Am J Clin Nutr [Internet]. 2005;81(1):87–94. Available from: doi:10.1093/ajcn/81.1.87
 36. Millward DJ. Identifying recommended dietary allowances for protein and amino acids : a critique of the 2007 WHO / FAO / UNU report. 2012; Available from: doi:10.1017/S0007114512002450
 37. Chacko A, Cummings J. Nitrogen losses from the human small bowel: obligatory losses and the effect of physical form of food. Gut [Internet]. 1988;29:809–15. Available from: doi:10.1136/gut.29.6.809
 38. Arhewoh I, Ahonkhai E, Okhamafe A. Optimising oral systems for the delivery of therapeutic proteins and peptides. African J Biotechnol [Internet]. 2005;4:1591–7. Available from: isbn: 16845315
 39. Segura M, Chel L, Betancur D. Effect of digestion on bioavailability of peptides with biological activity. Rev Chil Nutr [Internet]. 2010;37:386–91. Available from: isbn: 07177518

40. Darragh A, Hodgkinson S. Quantifying the digestibility of dietary protein. *J Nutr* [Internet]. 2000;130:1874S-6S. Available from: doi: 10.1093/jn/130.7.1874S
41. Darragh AJ, Moughan PJ. The amino acid composition of human milk corrected for amino acid digestibility. *Br J of Nutrition* [Internet]. 1998;25–34. Available from: <https://doi.org/10.1017/s0007114598001731>
42. Deglaire A, Bos C, Tomé D, Moughan P. Ileal digestibility of dietary protein in the growing pig and adult human. *Br J Nutr* [Internet]. 2009;102:1752–9. Available from: doi: 10.1017/S0007114509991267
43. Reeds PJ, Burrin DG, Davis TA, Fiorotto ML, Stoll B, Goudoever JB Van, et al. Protein nutrition of the neonate how to cite this article : protein nutrition of the neonate. 2012; Available from: doi: 10.1017/S0029665100000112
44. Donkoh A, Moughan P. The effect of dietary crude protein content on apparent and true ileal nitrogen and amino acid digestibilities. *Br J Nutr* [Internet]. 1994;72:59–68. Available from: doi: 10.1079/bjn19940009
45. Jagger S, Wiseman J, Cole D, Craigmiles J. Evaluation of inert markers for the determination of ileal and faecal apparent digestibility values in the pig. *British J Nutr* [Internet]. 1992;68:729–39. Available from: doi: 10.1079/bjn19920129
46. McDonough F, Steinke F, Eggum B, Bressani R, Huth P, Barbeau W, et al. In vivo rat assay for true protein digestibility: collaborative study. *J AOAC Int* [Internet]. 1990;73:801–5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2273008>
47. Melo A, Lopes J, Antônio J, Ulobão M, Luiz A, Silva L, et al. Determinação do valor nutritivo de alimentos energéticos e protéicos utilizados em rações para cães adultos. *Rev Bras Zootec* [Internet]. 2006;35:1985–91. Available from: doi: 10.1590/S1516-35982006000700015
48. Nery J, Biourge V, Tournier C, Leray V, Martin L, Dumon H, et al. Influence of dietary protein content and source on fecal quality, electrolyte concentrations, and osmolarity, and digestibility in dogs differing in body size. *J Anim Sci* [Internet]. 2010; Available from: doi: 10.2527/jas.2008-1666
49. Mosenthin R, Jansman A, Eklund M. Standardization of methods for the determination of ileal amino acid digestibilities in growing pigs. *Livest Sci* [Internet]. 2007;109:276–81. Available from: doi: 10.1016/j.livsci.2007.01.020
50. Fuller M, Milne A, Harris CI, Reid T, Keenan R. Amino acid losses in ileostomy fluid

- on a protein-free diet. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 1994;59:70–3. Available from: doi: 10.1093/ajcn/59.1.70
51. Harmon D. Experimental approaches to study the nutritional value of food ingredients for dogs and cats. *Rev Bras Zootec* [Internet]. 2007;36:251–62. Available from: doi: 10.1590/s1516-35982007001000023
 52. McDonough F, Sarwar G, Steinke F, Slump P, Garcia S, Boisen S. In vitro assay for protein digestibility: interlaboratory study. *J AOAC Int* [Internet]. 1990;62:622–5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2211487>
 53. Pedersen B, Eggum B. Prediction of protein digestibility by an in vitro enzymatic pH-stat procedure. *Rev Fisiol Anim Banner Nutr Anim y Cienc la Aliment* [Internet]. 1983;49:265–77. Available from: doi.org/10.1111/j.1439-0396.1983.tb00808.x
 54. Hsu H, Vavak D, Satterlee L, Miller G. A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *J Food Sci* [Internet]. 1977;42:1269–73. Available from: doi: 10.1111/j.1365-2621.1977.tb14476.x
 55. Hervera M, Baucells M, Blanch F, Castrillo C. Prediction of digestible energy content of extruded dog food by in vitro analyses. *Anim Physiol Anim Nutr* [Internet]. 2007;91:205–9. Available from: doi: 10.1111/j.1439-0396.2007.00693.x
 56. Gutiérrez K, Tello L. Evaluación de la incorporación de espirulina sobre las propiedades nutricionales y sensoriales de una galleta a base de harina de trigo y kiwicha. *Univ Peru Ciencias Apl* [Internet]. 2018; Available from: doi: 10.19083/tesis/624916
 57. Gonzalez Á, Barajas A, Álvarez A. Produção de biomassa e proteínas de *Chlorella vulgaris* Beyerinck (Chlorellales: Chlorellaceae) por meio de desenhos de meios de cultura seletivos. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecu Mosquera* [Internet]. 2017; Available from: issn: 0122-8706
 58. Quitral V, Morales C, Sepúlveda M, Schwartz M. Propiedades nutritivas y saludables de algas marinas y su potencialidad como ingrediente funcional. *Rev Chil Neuropsiquiatr* [Internet]. 2015;53(1):35–43. Available from: doi: 10.4067/s0717-92272015000100005
 59. Romero L, Guevara M, Gómez B, Arredondo B, Cortez R, Licet B. Producción de pigmentos procedentes de *Arthrospira maxima* cultivada en fotobiorreactores. *Rev Colomb Biotecnol* [Internet]. 2017;19(1):108–14. Available from: doi: 10.15446/rev.colomb.biote.v19n1.59671

60. Becker E. Micro-algae as a source of protein. *Biotechnol Adv* [Internet]. 2007;25(2):207–10. Available from: doi: 10.1016/j.biotechadv.2006.11.002
61. Parra J, Torres A, Rojas D, Arredondo B, Sena L, Perdomo T, et al. Comparación nutricional entre dos cepas de *Arthrospira maxima* de origen geográfico incierto. *Rev Latinoam Biotechnol Ambient y Algal* [Internet]. 10(2):45–60. Available from: https://www.researchgate.net/publication/334749597_Comparacion_nutricional_entr_e_dos_cepas_de_Arthrospira_maxima_de_origen_geografico_incierto
62. Sánchez L. Identificación y caracterización de hongos de interés para su uso de métodos moleculares. Univ Pública Navarra [Internet]. 2016; Available from: https://academica-e.unavarra.es/bitstream/handle/2454/22336/TFG_Sanchez_Leyre.pdf?sequence=1&isAllowed=y
63. Fabian V. Potencialidad del *Suillus luteus* (L. Fries) gray con fines comerciales en plantaciones de *Pinus radiata* D.Don en Jauja [Internet]. 2012. Available from: <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/2617>
64. Nasser A, Rasoul S, Morowvat M, Ghasemi Y. Single cell protein: production and process. *Am J Food Technol* [Internet]. 2011;6(2):103–16. Available from: doi: 10.3923/ajft.2011.103.116
65. Dias E, Carlos V, Dutra I. Determinação do valor protéico de células íntegras, autolisado total e extrato de levedura (*Saccharomyces* sp.). *Rev Nutr* [Internet]. 2000;13(3):185–92. Available from: isbn: 14155273
66. Centro de Investigación. Hospital General Universitario de Valencia. Hematología y bioquímica clínica de la rata. Parte 2. *Res Surg* [Internet]. 2011;3:127–280. Available from: doi: 10.1016/B978-84-458-2066-7.00003-3
67. Van A, Itterbeeck J, Klunder H, Mertens E, Halloran A, Muir G, et al. Edible insects future prospects for food and feed security [Internet]. 2013. Available from: isbn: 978-92-5-107596-8
68. Bartolomé R. Aristóteles -Obra biológica [Internet]. 2010. Available from: isbn: 9788492684731
69. Reina Valera. Santa Biblia [Internet]. Jesucristo LI de, Días de los S de los Ú, editors. Estados Unidos; 2009. Available from: isbn: 9781592976454
70. Moskala J. The Validity of the Levitical Food Laws of Clean and Unclean Animals: A

- Case Study of Biblical Hermeneutics. J Advent Theol Soc [Internet]. 2011; Available from:
<https://pdfs.semanticscholar.org/3566/62038d6964ec2c437b17f37bfe5c2e23952a.pdf>
71. AECOSAN. Situación de los insectos en alimentación humana [Internet]. [aecosan.msssi.gob.es](http://www.aecosan.msssi.gob.es). España; 2018. Available from:
http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/gestion_riesgos/INSECTOS_ALIMENTACION_.pdf
 72. Parlamento Europeo. Reglamento Unión Europea (UE) N° 1169/ 2011 [Internet]. [boe.es](http://www.boe.es). España; 2015. Available from: <https://www.boe.es/doue/2015/327/L00001-00022.pdf>
 73. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. La Contribución de los Insectos en la Seguridad Alimentaria , los Medios de Vida y el Medio Ambiente [Internet]. Vol. 1, [fao.org](http://www.fao.org). Roma; 2013. p. 4. Available from: isbn: 0303-4259
 74. Zohra F, Zouai F. Natural polymers: cellulose, chitin, chitosan, gelatin, starch, carrageenan, xylan and dextran. Alger J Nat Prod [Internet]. 2016;4(3):348–57. Available from: doi: 10.5281/ZENODO.199036
 75. Marono S, Piccolo G, Loponte R, Meo C, Attia Y, Nizza A, et al. In Vitro Crude Protein Digestibility of Tenebrio Molitor and Hermetia Illucens Insect Meals and its Correlation with Chemical Composition Traits. 2015; Available from: doi:10.4081/ijas.2015.3889
 76. Bosch G, Zhang S, Oonincx D, Hendriks W. Protein quality of insects as potential ingredients for dog and cat foods. J Nutr Sci [Internet]. 2014;3:1–4. Available from: doi:10.1017/jns.2014.23
 77. Pacheco A. Análisis comparativo del contenido proteínico entre dos ordenes de artrópodos del noreste de México (Orthoptera y Arachnida) y grupo cárnico (Artiodactyla) como alternativa de complemento alimenticio [Internet]. 2010. Available from: <http://eprints.uanl.mx/2218/>
 78. Adámková A, Kourimská L, Borkovcová M, Kulma M, Miček J. Nutritional values of edible Coleoptera (Tenebrio molitor, Zophobas morio and Alphitobius diaperinus) reared in the Czech Republic. 2016; Available from: doi: 10.5219/609
 79. Vignolo C. Bichos de tu entorno guía de insectos y otros artrópodos [Internet]. 1st

- ed. Pelopantón, editor. Madrid; 2015. Available from:
<https://www.miteco.gob.es/es/ceneam/recursos/materiales/bichos-entorno.aspx>
80. Padilla F, Cuesta A. Zoología Aplicada [Internet]. 1st ed. Santos D de, editor. Madrid; 2003. 488 p. Available from: isbn: 8479785888
 81. Walker T. Jamaican field cricket (*Gryllus assimilis*) [Internet]. Vol. 69, entnemdept.ufl.edu. Florida; 2014. Available from:
<http://entnemdept.ufl.edu/creatures/misc/crickets/gassim.html>
 82. Koga R, García F, Carcelén F, F T. Valor nutricional del *Gryllus peruviansis* (Orthoptera: Gryllidae). 2014; Available from: doi: 10.15381/rivep.v10i1.6627
 83. Miech P, Lindberg J, Berggren Å, Chhay T, Jansson A. Apparent faecal digestibility and nitrogen retention in piglets fed whole and peeled Cambodian field cricket meal. *Insects as Food Feed* [Internet]. 2017;3:279–87. Available from: doi: 10.3920/jiff2017.0019
 84. Jayanegara A, Sholikin M, Sabila D, Suharti S, Apri D. Lowering chitin content of cricket (*Gryllus assimilis*) through exoskeleton removal and chemical extraction and its utilization as a ruminant feed in vitro. *Biol Sci* [Internet]. 2017;20:523–9. Available from: doi: 10.3923/pjbs.2017.523.529
 85. Apri D, Khotijah L, Rismarianty A. Utilization and evaluation of cricket meal as protein source in lamb ratiom. *Indian Jor urnal Vet Sci Biotechnol*. 2016;11.
 86. Gonzalo M, Correa A. Guía preliminar de insectos de Santafé de Bogotá y sus alrededores contenido [Internet]. 1st ed. Sabana G de la, editor. Bogotá; 2000. Available from: ISBN 958-9387-24-1
 87. Alfredo Palop Gómez (Coordinador), Montaña Cámara Hurtado, María Pilar Conchello Moreno, Álvaro Daschner, Elena González Fandos, David Rodríguez Lázaro, et al. Informe del comité c de la agencia Española de consumo, Seguridad Alimentaria y nutrición (AECOSAN) en relación a los riesgos microbiológicos y alergénicos asociados al consumo de insectos [Internet]. Vol. 27, [aecosan.msssi.gob.es](http://www.aecosan.msssi.gob.es). España; 2018. Available from:
http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riesgos/informes_comite/CONSUMO_INSECTOS.pdf
 88. Portillo E. Estimación piloto de los costos en la producción y proceso de harina de grillo (*Acheta domesticus*), como fuente de proteína para dieta humana, en la finca Santa Marta, Morazán, El Salvador [Internet]. 2017. Available from:

<https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/6159>

89. Icó Cutzal H. Utilización de grillo (*Acheta domestica*) como fuente de proteína para codornices [Internet]. 2017. Available from: [http://www.repositorio.usac.edu.gt/7706/1/Tesis Lic Zoot Hersson Giovanni Icó Cutzal.pdf](http://www.repositorio.usac.edu.gt/7706/1/Tesis%20Lic%20Zoot%20Hersson%20Giovanny%20Ic%C3%BA%20Cutzal.pdf)
90. Pérez I. Caracterización de la harina de grillo común (*Acheta domesticus*) y el estudio de las propiedades nutricionales, fisicoquímicas y sensoriales al introducirla en una crema de cacao saludable [Internet]. 2018. Available from: [http://dspace.umh.es/bitstream/11000/5339/1/TFG Pérez Horcajo%2C Iván.pdf](http://dspace.umh.es/bitstream/11000/5339/1/TFG%20P%C3%A9rez%20Horcajo%20Iv%C3%A1n.pdf)
91. Fingerlings T, Vieira P. Digestibility of insect meals for Nile. MDPI [Internet]. 2019;1–8. Available from: isbn: 5535991376
92. Ayala E. Desarrollo de un plan de exportación de harina de *Acheta domesticus* hacia el mercado español [Internet]. 2019. Available from: isbn: 1018201718500
93. Blanco D, Giraldo D. Desarrollo de una barra tipo granola a base de harina de grillo *Acheta domesticus* como principal fuente proteica. Repos Univ Lasalle [Internet]. 2016;2016. Available from: <http://repository.lasalle.edu.co/handle/10185/21192>
94. Wang D, Wei S, Xi C, Yui Y, Heng S, Nan Y. Evaluation on nutritional value of field crickets as a poultry feedstuff. Asian Australas J Anim Sci [Internet]. 2005; Available from: doi: 10.5713 / ajas.2005.667
95. Stone A, Tanaka T, Nickerson M. Protein quality and physicochemical properties of commercial cricket and mealworm powders. J Food Sci Technol [Internet]. 2019;56(7). Available from: doi:10.1007/s13197-019-03818-2
96. De Marco M, Martínez S, Hernandez F, Madrid J, Gai F, Rotolo L, et al. Nutritional value of two insect larval meals (*Tenebrio molitor* and *Hermetia illucens*) for broiler chickens: apparent nutrient digestibility, apparent ileal amino acid digestibility and apparent metabolizable energy. Anim Feed Sci Technol [Internet]. 2015; Available from: doi: 10.1016/j.anifeedsci.2015.08.006
97. Yi L, Van Boekel M, Boeren S, Lakemond C. Protein identification and in vitro digestion of fractions from *Tenebrio molitor*. Eur Food Res Technol [Internet]. 2016;242. Available from: doi: 10.1007/s00217-015-2632-6
98. Ministerio de Salud. Tablas Peruanas de Composición de Alimentos [Internet]. 10th ed. SAC S, editor. Perú; 2017. Available from: isbn: 9786123101176

99. Viejo J. Los insectos como alimento humano: ¿Por qué no comer insectos? Rev Investig Científica para Alumnos Enseñanza Secund [Internet]. 2011;9–16. Available from: isbn: 1137-8794
100. Dierenfeld E, King J. Digestibility and mineral availability of phoenix worms , *Hermetia illucens* , ingested by mountain chicken frogs , *Leptodactylus fallax*. J Herpetol Med Surg [Internet]. 2008;18(3). Available from: doi: 10.5818/1529-9651.18.3-4.100
101. Adebawale Y, Adebawale K, Oguntokun M. Evaluation of nutritive properties of the large african cricket (*Gryllidae* Sp). Pakistan J Sci [Internet]. 2005;274–8. Available from: ISSN 0030-9885
102. Janssen R, Vincken J, Van L, Broek D, Fogliano V, Lakemond C. Nitrogen-to-protein conversion factors for three edible insects : *Tenebrio molitor* , *Alphitobius diaperinus* and *Hermetia illucens*. Agric Food Chem [Internet]. 2017; Available from: doi: 10.1021/acs.jafc.7b00471
103. Hojrup P, Andersen S, Roepstorff P. Primary structure of a structural protein from the cuticle of the migratory locust, *Locusta migratoria*. Biochem [Internet]. 1986;236:713–20. Available from: doi: 10.1016/0965-1748(94)00056-N
104. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Analisis proximales [Internet]. fao.org. Roma; 1984. Available from: <http://www.fao.org/3/AB489S/AB489S03.htm>
105. Becker J. Official methods of analysis [Internet]. 15th ed. Helrich K, editor. Estados Unidos; 1990. Available from: doi: 10.1007/978-3-642-31241-0

Anexo 1. Materia prima



Anexo 2. Especificaciones del procesamiento de harina de grillo

Se seleccionaron 4000 grillos aproximadamente (2.2 kg) según los criterios mencionados, se procedió al congelamiento de la materia prima por una hora a -15°C , posteriormente se colocó la muestra en el secador de bandejas por 48 horas a 60°C . Finalizado este tiempo se pesó en la balanza electrónica y se obtuvo una reducción del 52% del peso inicial (1.14 kg). Inmediatamente se molió haciendo uso del molino de mano para evitar merma debido a la cantidad reducida del producto. Luego, se volvió a llevar la molienda al secador de bandejas por 24 horas a 60°C , el peso resultante luego de este proceso fue 410 g, la harina fue almacenada en bolsas de polietileno.



Anexo 3. Metodología AOAC

3.1 Determinación de humedad por el método de estufa universal o estufa al vacío

Desarrollo:

- Tarar placa Petri y pesar 5gr de muestra.
- Someter la muestra a 105°C durante 2h y 20 min.
- Enfriar la muestra dentro del desecador durante 20 minutos.
- Pesar la muestra y desarrollar cálculos.

Calculo experimental de humedad en base seca:

$$\% \text{Humedad: } \frac{(m_i - m_f) * 100}{m_i}$$

Muestra inicial (m_i): 5g

Muestra final (m_f): 39.49 – 34.78 = 4.71

%Humedad: $(5g - 4.71g) * 100 = (5 - 4.71 = 0.29 / 5) = 0.058 * 100 = 5.8\%$ de humedad (104).

3.2 Determinación de nitrógeno método Kjeldhal

La determinación de proteínas se realizará mediante el método Kjeldahl. Él cual consiste en la mineralización y disgregación de la materia orgánica por acción del ácido sulfúrico concentrado, seguido de la alcalinización y destilación debido al arrastre de vapor, posteriormente recogiendo el destilado en ácido bórico. Cada uno de los análisis se ejecutara por triplicado (104).

Se pesará 1 g de muestra, 10 g de catalizador (95,5% sulfato de potasio y 0,5% sulfato de cobre) y se medirán 20 ml de ácido sulfúrico concentrado, los cuales se colocarán en un tubo del equipo Buchi.

Una vez ocurrida la digestión, visualizada de color verde cristalino, se continuará con el paso de destilación donde se alcalinizará la muestra en el destilador. Se procederá a titular con ácido sulfúrico 0,1 N utilizando como indicador rojo de metilo, el cual vira de color verde a rosado claro. El volumen de titulación utilizado se registrará y se aplicará la fórmula para determinar el porcentaje de proteínas:

$$\% \text{Proteínas} = \frac{V \times N \times W}{M} \times 100 \times F$$

Dónde:

- V = volumen de ácido utilizado en la titulación de muestra – Volumen de ácido

utilizado en la titulación del blanco

- N = normalidad de ácido utilizado en la titulación
- W = peso molecular de nitrógeno (14 g/mol)
- M = peso de muestra
- F = factor de corrección (6.25 por *default*)

3.3 Determinación de grasas método Soxhlet

Para la determinación del porcentaje de grasas se utilizará el equipo Soxhlet automático (104).

- Se pesará el cartucho de celulosa, el vaso de vidrio y 3 g de muestra, y se registraron los pesos.
- Se colocarán las muestras pesadas en los cartuchos de celulosa.
- Se agregará el solvente (éter de petróleo) en el vaso de vidrio, se le colocará sobre la manta calefactora del equipo Soxhlet automático y se le ajustará al cuerpo superior.
- Se abrirá la llave de circulación de vapores para permitir el calentamiento.
- Se dejará durante 30 minutos el cartucho en contacto con el solvente y luego se elevará el cartucho para continuar con el calentamiento a reflujo del solvente durante 60 minutos.
- Se cerrará la llave de vapores para recuperar el solvente sin que se seque la muestra. Posteriormente se enjuagará el vaso con pequeñas porciones del solvente y se la colocará en un cristizador previamente tarado y será llevado a baño maría para su total evaporación. Para finalizar, se llevará el cristizador por 10 minutos a estufa y luego a pesar. La diferencia con el peso inicial serán los gramos de grasa en 3 g de muestra.

3.4 Determinación de cenizas en alimentos

Este método es aplicable a todas las muestras de alimentos sólidos. Para las muestras se puede determinar primero los sólidos totales y sobre este material aplicar la técnica descrita (104).

MATERIALES

- 3 crisoles
- pinza para crisol
- Desecador

REACTIVOS

- Muestras para análisis

EQUIPO

- Mufla
- Balanza analítica

TÉCNICA

1. Se pesará en la balanza analítica de 0.5 a 1 g de muestra sobre el crisol
2. El tiempo necesario a una temperatura de 600- 800 ° C.
3. Se apaga la mufla y cuando llega la temperatura a un máximo de 200 ° C, se pasa a temperatura ambiente.
4. Se calcula el% de cenizas utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{de residuo fij}}{\text{muestra}} \times 100$$

3.5 Extracto libre de nitrógeno

Se calculará por diferencia (104).

Anexo 4. Digestibilidad in vitro Max Becker 1961

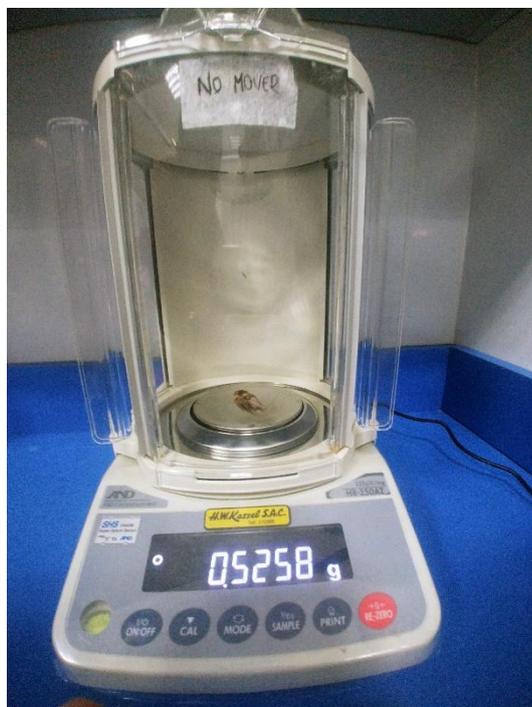
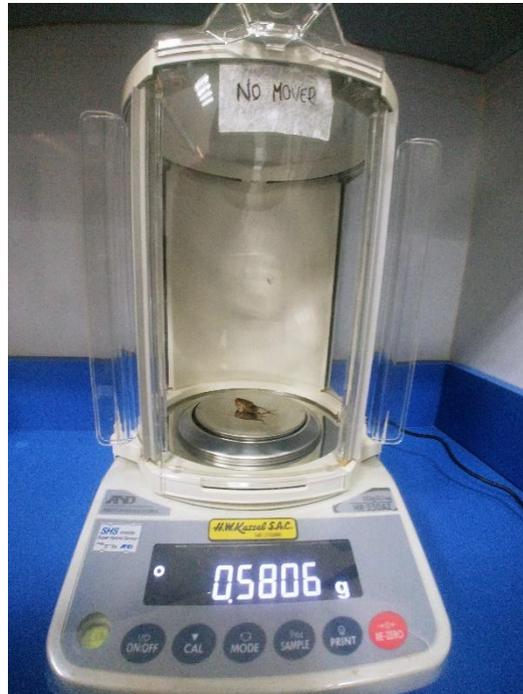
Se determinará la digestibilidad *in vitro* de la harina de *Gryllus assimilis*, en 1 g de muestra se incubará con una solución de pepsina 0.0002% en ácido clorhídrico 0.075 N por 16 horas a 45 ° C. Se usará un blanco sin pepsina en todos los casos.

La solución de reacción de filtro en papel filtro (Whatman N° 2) para retener la fracción insoluble. A la cual se determinará contenido de proteína utilizando el método Kjeldahl (105).

La digestibilidad se calculará usando la siguiente formula:

$$\% \text{ Digestibilidad} = \frac{\text{gr Prtoeina residual sin sin pepsina} - \text{gr Prtoeina residual con pepsina}}{\text{gr Proteina residual sin sin pepsina}} \times 100$$

Anexo 5. Peso promedio del Gryllus assimilis



Anexo 6. Informe de ensayo (harina de grillo)



INFORME DE ENSAYO 91220.12

FR-044

N° de Orden de Servicio : O.S. 190808.08
N° de Protocolo : 91220.12
Cliente : UNIVERSIDAD PERUANA UNION
Dirección legal del cliente : CAR.CENTRAL KM. 19 VILLA UNION-NANA LIMA - LIMA - LURIGANCHO
Muestra(s) declarada(s) : HARINA DE GRILLO
Procedencia de la Muestra : Proporcionado por el Cliente
Cantidad de Muestra(s) para ensayo : 1 muestra x 213.4g
Forma de Presentación : Bolsa de polietileno sellada
Identificación de la Muestra : Cod. Lab. 08-08012
Fecha de recepción de muestra(s) : 2019-08-08
Fecha de Inicio del Análisis : 2019-08-08
Fecha de Emisión de Informe : 2019-08-21

Parámetros Químicos Codificación y Resultados

Parámetro	Unidad	Resultados
Humedad	%	8.2
Proteína Cruda	g/100g (factor = 6.25)	56.7
Grasa	%	21.3
Fibra Cruda	%	4.9
Ceniza	%	2.1
ELN ¹	%	6.8
Digestibilidad por pepsina	%	85.7

ELN¹ = Extracto Libre de Nitrógeno

Metodologías

Parámetro	Método de Referencia
Humedad	AOAC, 20th Edition 2016
Proteína Cruda	AOAC, 20th Edition 2016
Grasa	AOAC, 20th Edition 2016
Fibra Cruda	AOAC, 20th Edition 2016
Ceniza	AOAC, 20th Edition 2016
Digestibilidad por pepsina	Análisis de Piensos y Forrajes. Max Becker 1961

INSPECTION & TESTING SERVICES DEL PERU S.A.C.
 LABORATORIO

Mblgo. Grover A. Rupaý Falcón
 C.B.P. 8505
 Jefe de Laboratorio

FIN DE DOCUMENTO

El informe de ensayo sólo es válido para las muestra referidas en el presente informe, no pudiendo extenderse los resultados del informe a ninguna otra unidad o lote que no haya sido analizado. Los resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. El informe de ensayo es un documento oficial de interés público, su adulteración o uso indebido constituye delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones penales y civiles en la materia. Si INSPECTION & TESTING SERVICES DEL PERU S.A.C no realizó la toma de muestra o el muestreo, los resultados se aplicaran a la muestra tal como fueron recepcionadas. INSPECTION & TESTING SERVICES DEL PERU S.A.C. Deslinda responsabilidad de la información proporcionada por el cliente. No se debe reproducir el informe de ensayo, excepto en su totalidad, sin la aprobación escrita de INSPECTION & TESTING SERVICES DEL PERU S.A.C.

Rev.02

Fecha de revisión :2019-08-15

Pág 1 de 1