



**Centro de Investigación en Alimentación y  
Desarrollo, A.C.**

**PASTA DE TRIGO SUSTITUIDA PARCIALMENTE CON  
HARINA DE GRILLO (*Acheta domesticus*) Y SU EFECTO SOBRE  
PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS, NUTRICIONALES,  
SENSORIALES Y BIOACTIVAS**

---

Por:

**Salma Alejandra Enríquez Valencia**

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL

Como requisito para obtener el grado de

**MAESTRA EN CIENCIAS**

## APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Salma Alejandra Enríquez Valencia, le han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.



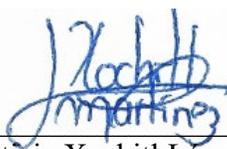
---

Dr. Gustavo Adolfo González Aguilar  
Director de Tesis



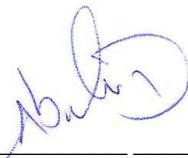
---

Dra. Norma Julieta Salazar López  
Codirectora de Tesis



---

Dra. Leticia Xochitl López Martínez  
Integrante del comité de tesis



---

Dr. Jesús Abraham Domínguez Avila  
Integrante del comité de tesis

## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis "Pasta de Trigo Sustituida Parcialmente con Harina de Grillo (*Acheta domesticus*) y su Efecto sobre Propiedades Fisicoquímicas, Nutricionales, Sensoriales y Bioactivas" es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial de la autora Salma Alejandra Enríquez Valencia, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del director(a) de tesis.



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN  
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.  
Coordinación de Programas Académicos

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Graciela Cáire Juvera", written over a horizontal line.

Dra. Graciela Cáire Juvera  
Directora General

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de mis estudios de Maestría en Ciencias.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD) por la infraestructura y equipo humano que permitieron la realización de mis estudios de posgrado.

A la Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal (CTAOV) por permitirme el uso de los equipos necesarios para la realización de mi proyecto.

A mi director de tesis Dr. Gustavo A. González Aguilar, por darme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo y por abrirme las puertas de su laboratorio. A mi codirectora de tesis, Dra. Norma J. Salazar López y mis asesores, Dra. L. Xochitl López Martínez y Dr. J. Abraham Domínguez Avila por todo el apoyo, enseñanzas, dedicación e interés que siempre demostraron por mi formación académica y profesional.

Al Dr. Ángel Huerta, al M. en C. Orlando Tortoledo y a la Dra. Gabriela Ramos por todo el asesoramiento y por abrirme las puertas de sus laboratorios para poder hacer uso de sus equipos y realizar gran parte de mis experimentos.

Al equipo de trabajo del Laboratorio de Antioxidantes y Alimentos Funcionales, especialmente a QB. Mónica Villegas Ochoa, por todo el apoyo, disposición y paciencia. A mis compañeras de laboratorio Shain, Alejandra y Beatriz, por su apoyo, asesoramiento y sobre todo por su amistad.

A mis amigas de generación Karina, Mitzi y Martha por su gran apoyo, su amistad y por siempre animarme durante mi maestría.

A mis padres Alma y Saúl por su incondicional apoyo y cariño.

## CONTENIDO

<b>APROBACIÓN</b> .....	2
<b>DECLARACIÓN INSTITUCIONAL</b> .....	3
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	4
<b>CONTENIDO</b> .....	5
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	7
<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	8
<b>RESUMEN</b> .....	10
<b>ABSTRACT</b> .....	11
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	12
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	16
2.1. Insectos como Fuente Alternativa Sustentable y Nutricionalmente Valiosa.....	16
2.1.1. Historia y Consumo de Insectos.....	16
2.1.2. Incorporación de Insectos Comestibles en Alimentos y sus Usos en la Dieta.....	17
2.1.3. Composición Nutricional de los Insectos Comestibles .....	19
2.1.4. Propiedades Tecnofuncionales.....	21
2.2. Harina de Insectos y sus Efectos sobre Propiedades Nutricionales y Fisicoquímicas.....	22
2.2.1. Efecto sobre Propiedades Nutricionales .....	22
2.2.2. Efecto sobre Propiedades Físicas .....	25
2.3. Compuestos Bioactivos en Insectos Comestibles.....	27
2.3.1. Compuestos y Propiedades Bioactivos de Insectos Comestibles.....	27
2.3.2. Digestibilidad y Bioaccesibilidad de Alimentos Sustituídos con Insectos .....	30
2.4. Desarrollo de Alimentos Funcionales Sustituídos Parcialmente con Harina de Insectos..	31
<b>3. HIPÓTESIS</b> .....	33
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	34
4.1. Objetivo General.....	34
4.2. Objetivos Específicos.....	34
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	35
5.1. Materia Prima .....	35
5.2. Caracterización Fisicoquímica.....	36
5.2.1. Propiedades Tecnofuncionales.....	36
5.2.1.1. Capacidad de absorción de agua .....	36
5.2.1.2. Capacidad de hinchamiento y solubilidad .....	36
5.2.1.3. Capacidad de absorción de aceite .....	37
5.2.2. Análisis de Espectrometría FTIR-ATR .....	37
5.2.3. Tamaño de Partícula y Carga Superficial .....	37
5.3. Elaboración de Pastas de Trigo Sustituída Parcialmente con Distintas Proporciones de Harina de Grillo ( <i>A. domesticus</i> ).....	38

## CONTENIDO (continuación)

5.4. Caracterización Nutricional, Física y Sensorial de Pastas de Trigo Sustituida Parcialmente con Distintas Proporciones de Harina de Grillo ( <i>A. domesticus</i> ) .....	38
5.4.1. Análisis Proximal .....	38
5.4.2. Textura .....	39
5.4.3. Color .....	39
5.4.4. Análisis Sensorial .....	40
5.5. Obtención y Caracterización de Productos de Digestión mediante Simulación de Digestión Gastrointestinal .....	41
5.5.1. Simulación de Digestión Gastrointestinal.....	41
5.5.2. Perfil de Aminoácidos .....	42
5.5.3. Perfil Electroforético de Proteínas.....	43
5.5.4. Digestibilidad de Proteína.....	45
5.5.5. Evaluación de Capacidad Antioxidante.....	45
5.5.5.1. Determinación de la capacidad antioxidante por el método de ORAC.....	45
5.5.5.2. Determinación de la capacidad antioxidante por el método de TEAC .....	46
5.5.5.3. Determinación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH .....	46
5.5.6. Prueba de Inhibición de Enzimas Digestivas de Carbohidratos.....	46
5.5.6.1. Inhibición de $\alpha$ -amilasa .....	46
5.5.6.2. Inhibición de $\alpha$ -glucosidasa .....	47
5.6. Diseño Experimental y Análisis de Datos .....	47
<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>48</b>
6.1. Caracterización Fisicoquímica.....	48
6.1.1. Propiedades Tecnofuncionales .....	48
6.1.2. Tamaño de Partícula y Carga Superficial .....	53
6.1.3. Análisis de Espectroscopía FTIR-ATR .....	56
6.2. Caracterización Nutricional, Física y Sensorial de Pastas .....	60
6.2.1. Análisis Proximal .....	60
6.2.2. Textura.....	62
6.2.3. Color .....	64
6.2.4. Análisis Sensorial .....	66
6.3. Caracterización de Productos de Digestión Obtenidos mediante Simulación de Digestión Gastrointestinal .....	69
6.3.1. Perfil de Aminoácidos .....	69
6.3.2. Perfil Electroforético de Proteínas.....	77
6.3.3. Digestibilidad de Proteína.....	82
6.3.4. Capacidad Antioxidante.....	85
6.3.5. Efecto sobre Enzimas Digestivas de Carbohidratos.....	88
<b>7. CONCLUSIONES .....</b>	<b>90</b>
<b>8. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>91</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>92</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Etapas experimentales para evaluar el efecto de la sustitución parcial con harina de grillo ( <i>A. domesticus</i> ) a una pasta de trigo, sobre sus propiedades fisicoquímicas, sensoriales, nutricionales y bioactivas <i>in vitro</i> .....	35
2	Formulario utilizado para la evaluación sensorial de las pastas sustituidas parcialmente con harina de grillo (P-20, P-25 y P-30) y control (PC).....	40
3	Espectro FTIR-ATR de harina de grillo, trigo y sémola.....	57
4	Espectro FTIR-ATR de mezclas de harinas para la elaboración de pasta de trigo sustituida parcialmente con distintas concentraciones de harina de grillo.....	59
5	Espectro FTIR-ATR de pastas de trigo secas sustituidas parcialmente con distintas concentraciones de harina de grillo.....	60
6	Espacio de color CIE L*a*b* de pastas cocinadas.....	66
7	Nivel de agrado de los parámetros organolépticos evaluados en pastas sustituidas parcialmente con 20 % (P-20), 25 % (P-25) y 30 % (P-30) de harina de grillo y pasta control (PC).....	67
8	Intención de compra de pastas evaluadas (PC, P-20, P-25 y P-30).....	68
9	Perfil electroforético de proteínas.....	79
10	Perfil electroforético de proteínas de (A) PC, (B) PT y (C) P-20 cocinadas y sometidas a cocimiento y a simulación de digestión gastrointestinal.....	82

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
1	Composición nutricional de <i>A. domesticus</i> y algunas fuentes convencionales de proteína animal en base seca .....	20
2	Alimentos sustituidos parcialmente con diferentes concentraciones de <i>A. domesticus</i> y su efecto sobre propiedades fisicoquímicas.....	23
3	Pastas sustituidas parcialmente con distintas concentraciones de harinas de insectos y su efecto sobre propiedades nutricionales y fisicoquímicas.....	24
4	Concentración final de soluciones madre para la preparación de fluidos para la simulación de digestión gastrointestinal.....	42
5	Determinación de la capacidad de absorción de agua (CAA), capacidad de hinchamiento (CH), solubilidad y capacidad de absorción de aceite (CAO) de harinas de trigo, sémola, grillo, sus mezclas y pastas secas con 20, 25 y 30 % de harina de grillo.....	49
6	Tamaño de partícula y carga superficial de harina de trigo, grillo y sémola, sus mezclas y de pastas sustituidas parcialmente con distintas concentraciones de harina de grillo.....	55
7	Análisis proximal de pastas.....	61
8	Determinación de firmeza de pastas cocinadas.....	63
9	Determinación de color de pastas cocinadas de trigo comercial (PT), pasta control (PC), y pastas sustituidas con 20 (P-20), 25 (P-25) y 30 % (P-30) de harina de grillo.....	65
10	Perfil de aminoácidos de pastas cocinadas antes de simulación de digestión gastrointestinal.....	70
11	Perfil de aminoácidos de pastas cocinadas después de ser sometidas a simulación de digestión gástrica.....	71
12	Perfil de aminoácidos de pastas cocinadas después de ser sometidas a simulación de digestión intestinal.....	73
13	Perfil de aminoácidos de fracción no bioaccesible de pastas cocinadas después de ser sometidas a simulación de digestión gastrointestinal (no absorbidos en intestino).....	75
14	Perfil de aminoácidos de fracción bioaccesible de pastas cocinadas después de ser sometidas a simulación de digestión gastrointestinal (absorbidos en intestino).....	76
15	Digestibilidad de proteína de pastas sometidas a simulación de digestión gastrointestinal.....	83

## LISTA DE CUADROS (continuación)

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
16	Capacidad antioxidante de harinas y pastas.....	85
17	Capacidad antioxidante de productos de digestión de pastas sometidas a simulación de digestión gastrointestinal.....	87
18	Valores de IC <sub>50</sub> para inhibición de $\alpha$ -amilasa y $\alpha$ -glucosidasa por los productos de digestión de pasta de trigo, sustituida con 20 % de harina de grillo (P-20).....	89

## RESUMEN

El crecimiento poblacional, el incremento de los costos de proteínas convencionales y el gran impacto medioambiental de su producción, hacen necesaria la búsqueda de proteínas alternativas y sustentables. Una opción son los insectos comestibles, sin embargo, su consumo aún es poco aceptado por la población occidental. Su aceptación puede incrementarse al incorporarse en forma de harinas en alimentos de alto consumo, como pastas de trigo, mejorando su contenido nutricional y sin alterar las propiedades físicas y sensoriales del producto final. Por lo que el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la sustitución parcial de harina de trigo por harina de grillo (*A. domesticus*) (HG) a una pasta, sobre sus propiedades fisicoquímicas, nutricionales, sensoriales y bioactivas. Para ello, se formularon tres pastas de trigo sustituidas HG al 20 (P-20), 25 (P-25) y 30 % (P-30) (p/p), las cuales fueron comparadas con una pasta sin adicionar (PC), y una pasta de trigo comercial (PT). Posteriormente, la pasta sustituida con HG de mayor agrado sensorial, la PC y la PT, fueron sometidas a simulación de digestión gastrointestinal para caracterizar sus productos de digestión. La incorporación de HG a las pastas disminuyó la capacidad de hinchamiento y aumentó la capacidad de absorción de aceite ( $p<0.05$ ), además, provocó la aparición e intensificación de bandas asociados a proteínas, lípidos y quitina en sus espectros FTIR-ATR. La sustitución con HG en pastas de trigo aumentó el contenido de proteína, lípidos, fibra y cenizas, redujo el de carbohidratos y disminuyó la luminosidad y firmeza de las pastas ( $p<0.05$ ). Sensorialmente, la pasta P-20 obtuvo valores más altos de agrado comparada con las pastas P-25 y P-30 ( $p<0.05$ ). La pasta P-20 presentó mayor contenido de aminoácidos esenciales con respecto a PC y PT, antes y después de la digestión gastrointestinal ( $p<0.05$ ). De acuerdo con los patrones electroforéticos, la pasta P-20 presentó una susceptibilidad a la degradación enzimática más notable, con base a la desaparición de algunas bandas y aparición de otras nuevas (<15 kDa), con respecto a la pasta sin digerir. Asimismo, P-20 presentó mayor digestibilidad de proteína y capacidad antioxidante antes y después de la simulación de digestión gastrointestinal ( $p<0.05$ ), con respecto a PC y PT. Estos resultados indican que la sustitución parcial de trigo con HG en pasta, parece ser una buena alternativa para mejorar su perfil nutricional, aceptabilidad sensorial, aumentar la digestibilidad proteica, aporte de aminoácidos esenciales y su capacidad antioxidante.

**Palabras claves:** Insectos, *A. domesticus*, pasta de trigo, proteína, digestibilidad.

## ABSTRACT

Population growth, the increase in conventional protein costs, and the high environmental impact of their production make it necessary to search for alternative and sustainable protein sources. One option is edible insects, however, their consumption is still not widely accepted in the West. Their acceptance could be enhanced by incorporating them, in the form of flours, into high-consumption foods like wheat pastas, thereby improving their nutritional content without altering the physical and sensory properties of the final product. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of partially substituting wheat flour with cricket flour (*A. domesticus*) (HG) in pasta on its physicochemical, nutritional, sensory, and bioactive properties. Three wheat pasta formulations were prepared, substituting 20% (P-20), 25% (P-25), and 30% (P-30) (w/w) with HG, which were compared with a pasta without the addition of HG (PC) and a commercial wheat pasta (PT). Subsequently, the HG-substituted pasta with the highest sensory acceptance, PC and PT were subjected to simulated gastrointestinal digestion to characterize their digestion products. The incorporation of HG in the pasta reduced its swelling capacity, increased its oil absorption capacity ( $p < 0.05$ ), and led to the appearance and intensification of characteristic bands associated with proteins, lipids, and chitin in their FTIR-ATR spectra. The substitution with HG in wheat pasta increased the protein, lipid, fiber, and ash content, reduced the carbohydrate content, and decreased the pasta's luminosity and firmness ( $p < 0.05$ ). Sensory evaluation showed that P-20 obtained higher acceptability, as compared to P-25 and P-30 ( $p < 0.05$ ). P-20 had a higher content of essential amino acids, as compared to PC and PT, both before and after undergoing gastrointestinal digestion ( $p < 0.05$ ). According to electrophoretic patterns, P-20 showed a more noticeable susceptibility to enzymatic degradation based on the disappearance of bands and the appearance of new bands (<15 kDa), as compared to undigested pasta. Additionally, P-20 exhibited higher protein digestibility and antioxidant capacity before and after simulated gastrointestinal digestion ( $p < 0.05$ ), as compared to PC and PT. These results indicate that partial substitution of wheat with HG in pasta seems to be a good alternative to improve its nutritional profile, sensory acceptability, increase protein digestibility, essential amino acids delivery, and its antioxidant capacity.

**Keywords:** Insects, *A. domesticus*, wheat pasta, protein, digestibility.

## 1. INTRODUCCIÓN

La población mundial crece rápidamente; se estima que para el año 2050 se alcanzarán los 9 billones de pobladores, lo cual ocasionará un aumento estimado de cerca del 60 % en la demanda de alimentos (Imathiu, 2020). Se espera también que el consumo *per cápita* de carne en países de altos ingresos aumente en un 9 % para el año 2030, lo cual significa un incremento en la demanda de alimento para ganado en un 158 %. Además, el aumento de los precios mundiales de los cultivos agrícolas más importantes para consumo humano llevará también a un incremento en los precios de la carne de res, puerco y pollo de más del 30 % para el año 2050 (Van Huis, 2013). Debido a estos cambios en los precios de los alimentos, aunado al reto de alimentar a la población con recursos limitados, se hace necesario buscar fuentes alternativas e innovadoras que contribuyan a mantener una adecuada seguridad alimentaria.

La cadena de producción de proteína animal abarca desde la producción del alimento para los animales, hasta el sacrificio y procesamiento de la carne. Según Raheem y colaboradores (2019), esta cadena contribuye hasta el 9 % de las emisiones de CO<sub>2</sub> y 18 % de las emisiones antropogénicas globales totales, a las cuales se les responsabiliza del cambio climático. De estas, las emisiones de metano y amonio son entre el 35-40 % y 65 %, respectivamente. Asimismo, la producción de carne requiere altas cantidades de alimento, agua y superficie terrestre. Estos mismos autores reportaron que para producir 1 kg de carne de res se requieren 10 kg de alimento, 5 kg para cerdo y 2.5 kg para pollo. En el caso del requerimiento de agua, se ha registrado que para la producción de 1 tonelada de carne de res se necesitan hasta 154,115 m<sup>3</sup> de agua, 5,988 m<sup>3</sup> para cerdo y 4,325 m<sup>3</sup> para pollo. Se ha estimado también que el área terrestre requerida para la producción de 1 kg de carne de res, puerco y pollo es de hasta 254 m<sup>2</sup>, 63 m<sup>2</sup> y 51 m<sup>2</sup>, respectivamente. Debido a estos factores, el desarrollo de nuevas fuentes sustentables de proteína se convierte en una prioridad global, especialmente cuando se espera que la población mundial crezca a la velocidad descrita anteriormente (Imathiu, 2020).

Una fuente alternativa, sustentable y nutricionalmente valiosa propuesta y estudiada con más énfasis, son los insectos comestibles. En comparación con el ganado, la producción de insectos

requiere de cantidades menores de alimento (1.7 kg para producir 1 kg de insectos), agua (4341 m<sup>3</sup> por tonelada de insectos) y menor espacio para su producción, ya que pueden ser criados en cajas apiladas. Asimismo, los insectos producen cantidades menores de gases de efecto invernadero, por ejemplo, menor emisión de metano (0.16 g/kg masa corporal/día, mientras que para ganado vacuno es de 0.239 g/kg/d) y amonio (3.0-5.4 mg/kg/d, mientras que para el ganado porcino y vacuno es de 4.8-75 y 14-170 mg/kg/d, respectivamente) (Gere *et al.*, 2019; Raheem *et al.* 2019).

Aunque el consumo de insectos es una práctica que se ha realizado desde nuestros ancestros, y que incluso en la actualidad diversas culturas y regiones de diferentes países los incluyen en su dieta regular, la cultura occidental aún no se siente cómoda con su consumo (Villaseñor *et al.*, 2021). Esto es debido a que regularmente se asocia a los insectos con pestes, como agentes de transmisión de enfermedades y su consumo se ve con disgusto (Zielińska *et al.*, 2015). Para superar estos obstáculos, diversos estudios se han centrado en evaluar la incorporación de insectos como ingredientes en alimentos convencionales y su aceptación por los consumidores. Para ello, los insectos han sido procesados para obtener harinas, las cuales son añadidas en las formulaciones, ya que se ha demostrado que la disposición de las personas a consumir insectos aumenta cuando se reduce su visibilidad en los alimentos (Tan *et al.*, 2015). En este contexto, Zielińska y colaboradores (2021) evaluaron la sustitución parcial con hasta 10 % de harina de grillo en la elaboración de panqués, reportando que la aceptabilidad de los consumidores no se vio afectada. Con base en estos y otros resultados (Haber *et al.*, 2019; Osimani *et al.*, 2018; Smarzyński *et al.*, 2021), se abre ventana de oportunidades para probar la sustitución parcial con insectos en la elaboración de diferentes alimentos, principalmente aquellos con los que los consumidores estén familiarizados, que sean de alto consumo, aporten un buen contenido nutricional y sean aceptados sensorialmente (Zielińska *et al.*, 2021).

Investigaciones previas han documentado la incorporación de insectos en la elaboración de diferentes alimentos, principalmente en productos de panificación y cárnicos, los cuales han sido sujetos a análisis fisicoquímicos y sensoriales. Los resultados obtenidos muestran productos con un mejor perfil nutricional, ya que se aumenta el contenido y calidad de proteína, se mejora el perfil lipídico y se reduce el contenido de carbohidratos (Osimani *et al.*, 2018; Zielińska *et al.*, 2021). Se han observado también efectos sobre el color y textura, al respecto, los análisis sensoriales han

demostrado que ciertas concentraciones de sustitución resultan en productos con una buena aceptación por parte de los consumidores (Castro *et al.*, 2020; da Rosa y Thys, 2019). Por otro lado, D'Antonio y colaboradores (2021b) indican que un aspecto innovador de los insectos es su contenido de compuestos bioactivos, haciendo de ellos una fuente potencial de ingredientes funcionales. Sin embargo, aún son escasos los estudios que evalúan dichos compuestos bioactivos una vez incorporados en las matrices alimentarias, como pueden ser péptidos o compuestos fenólicos. Es por ello que se requieren mayores investigaciones de aspectos como el contenido y las propiedades de los compuestos bioactivos, su digestibilidad y bioaccesibilidad.

Aunado a lo anterior, los autores sugieren y alientan a que se realicen más estudios en otros tipos de alimentos, con el fin de obtener una mayor variedad de productos que sean nutricionalmente ricos, sin afectar negativamente sus características sensoriales, y así evitar el rechazo por parte del consumidor (Zielińska *et al.*, 2021). Asimismo, como proponen Castro y colaboradores (2020), emplear un producto que sea popular y altamente consumido por la población, puede mantener o incluso exceder las expectativas sensoriales de los consumidores, además de aumentar la probabilidad de aceptación y compra de dichos productos. Esto abre la posibilidad de evaluar la incorporación de harina de insectos en productos que sean de alto consumo, de importancia para los distintos sectores de la población a la que van dirigidos y sean aceptados, al igual que productos de características similares.

En la incorporación de insectos como ingredientes alimentarios, se incluyen puntos de gran importancia que deben ser analizados. Si bien existen publicaciones que reportan análisis proximales y sensoriales de alimentos sustituidos parcialmente con insectos (hasta el 40 % de sustitución), se requiere evidencia científica que soporte el posible impacto de esta sustitución sobre la funcionalidad de las matrices alimentarias. Son también necesarios estudios que profundicen sobre el efecto en las propiedades fisicoquímicas, interacciones en la matriz alimentaria, la determinación del contenido e identificación de compuestos bioactivos que se encuentran tanto en las materias primas como en los productos alimentarios, así como posibles cambios que pudieran sufrir durante el procesamiento. Son muy escasas las evidencias sobre digestibilidad y bioaccesibilidad de los compuestos bioactivos que se están incorporando a los alimentos y, al mismo tiempo, los posibles cambios que ocurren durante los procesos de digestión.

Esto con el fin de determinar si los productos desarrollados pudiesen ser catalogados como alimentos funcionales. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de la sustitución parcial con harina de grillo *A. domesticus* a una pasta de trigo sobre las propiedades fisicoquímicas, nutricionales, sensoriales y bioactivas.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Insectos Como Fuente Alternativa Sustentable y Nutricionalmente Valiosa

#### 2.1.1. Historia y Consumo de Insectos

El consumo humano de insectos, conocido como entomofagia, se ha practicado desde hace muchos años, aunque se desconoce exactamente cuándo comenzó. Se ha encontrado evidencia en coprolitos de ancestros del *Homo sapiens* y de comunidades primitivas que los insectos eran parte substancial de sus dietas (Govorushko, 2019). Se han encontrado también fragmentos relacionados con la entomofagia en pasajes bíblicos, así como en textos y pinturas antiguas mesoamericanas que muestran que el consumo de insectos estuvo relacionado con la realeza, y que fueron usados como tributo para los emperadores Aztecas (Villaseñor *et al.*, 2021). Además de su uso como alimento, los insectos también han sido utilizados en la medicina tradicional para el tratamiento de desórdenes respiratorios y estomacales, lo cual hoy en día es posible atribuirse con bases científicas a los compuestos bioactivos presentes en ellos (D'Antonio *et al.*, 2021; Serafini, 2022).

La entomofagia, además de ser una práctica que ha acompañado a la historia de la humanidad, hoy en día, es una tendencia de consumo en los distintos continentes, que cada vez va ganando mayor popularidad debido a sus beneficios medioambientales, socioeconómicos y nutricionales (Gere *et al.*, 2019; Govorushko, 2019; Serafini, 2022). Se ha demostrado que la producción de insectos requiere de una menor área terrestre, menor requerimiento de agua y menor cantidad de alimento que la ganadería tradicional, además de que producen cantidades considerablemente menores de gases de efecto invernadero y presentan mayor eficiencia de conversión de alimento en proteína (Gere *et al.*, 2019; Nowak *et al.*, 2016). Adicionalmente, los insectos constituyen una nueva y accesible oportunidad de negocio para los países en desarrollo, ya que son producidos de manera rápida y económica, lo que los convierte en una buena opción para garantizar la seguridad alimentaria de la creciente población mundial (Gravel y Doyen, 2020). Se ha documentado que los

insectos comestibles poseen características nutricionales deseables, ya que contienen una cantidad importante de nutrientes esenciales como proteínas, vitaminas, minerales y ácidos grasos (Acosta-Estrada *et al.*, 2021). Del mismo modo, las harinas de los insectos comestibles han mostrado tener propiedades tecnofuncionales que pueden ser aprovechadas para la elaboración de distintos productos alimentarios (Villaseñor *et al.*, 2021).

Se estima que existen alrededor de 2000 especies diferentes de insectos comestibles, dentro de los cuales los de mayor consumo incluyen a los del orden Coleoptera (escarabajos, 31 %), Lepidoptera (orugas, 18 %), Hymenoptera (abejas, avispas y hormigas, 14 %), Orthoptera (grillos, 13 %), Hemiptera (10 %), Isoptera (termitas, 3 %), Odonata (libélulas, 3 %), Diptera (moscas, 2 %) y otros (5 %) (Avendaño *et al.*, 2020). En México, los insectos comestibles más populares son los gusanos de agave blanco (*Aegiale hesperiaris*), gusanos de agave rojo (*Comadia redtenbacheri*), escamoles (*Liometopum apiculatum*), chapulines (*Sphenarium purpurascens*) y chichatanas (*Atta mexicana*) (Villaseñor *et al.*, 2021). Por otro lado, entre las especies más populares en Europa se encuentra el grillo doméstico *Acheta domesticus*, considerado como uno de los insectos más prometedores en la industria alimentaria, debido a su atractivo perfil nutricional y su bajo requerimiento de alimento para producir 1 kg de producto comestible (Fernandez-Cassi *et al.*, 2019). Además, esta última especie es reconocida como alimento novedoso por la EFSA (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria) (Raheem *et al.*, 2019).

### **2.1.2. Incorporación de Insectos Comestibles en Alimentos y sus Usos en la Dieta**

Los insectos han sido utilizados por diferentes culturas alrededor del mundo como fuente de alimento, principalmente en países de Asia, América Central y África (Avendaño *et al.*, 2020; Imathiu, 2020). Las especies comestibles de insectos son consumidos en distintas etapas de crecimiento, desde los huevos hasta la etapa adulta (Govorushko, 2019). Por lo general, los insectos son recolectados del medio ambiente y consumidos en su forma cruda o sometidos a diferentes procesamientos como rostizado, tostado, freído, horneado o hervido (Ordoñez-Araque y Egas-Montenegro, 2021). No obstante, la población occidental rechaza la idea de consumir insectos,

debido a que son considerados como desagradables y nocivos, aunque como lo menciona Govorushko (2019), esta actitud puede ser sólo un prejuicio, ya que a través de los años muchos alimentos se convierten en tradición. Este mismo autor indica que los insectos comestibles tienen el potencial para convertirse en alimentos populares y comunes en la dieta.

Debido a la actitud negativa frente al posible consumo de insectos, uno de los principales retos para promover su consumo, es hacerlos más atractivos y agradables ante los ojos de los consumidores (Ordoñez-Araque y Egas-Montenegro, 2021). Una alternativa para mejorar su aceptabilidad ha sido procesarlos para la obtención de harinas, siendo esta la forma más utilizada para su incorporación en alimentos procesados, dentro de las cuales, la más estudiada y utilizada es la harina de *A. domesticus* (Avendaño *et al.*, 2020; Villaseñor *et al.*, 2021). Además, debido a sus altos niveles de proteína y aminoácidos esenciales, los insectos han sido objeto de estudio y están siendo utilizados como ingredientes para incrementar el contenido nutricional de diferentes alimentos alrededor del mundo (Avendaño *et al.*, 2020). Cabe resaltar que la industria alimentaria se ha esforzado en buscar nuevas e innovadoras formas de incorporar insectos en alimentos occidentales tradicionales. Los principales alimentos que han sido sustituidos parcialmente con insectos, y que se pueden encontrar en el mercado, son distintos tipos de panes, tortillas, cereales, snacks extrudidos, chocolates, galletas y productos cárnicos (Acosta-Estrada *et al.*, 2021; Avendaño *et al.*, 2020).

Aunado a lo anterior, Castro y colaboradores (2020) han sugerido que emplear alimentos que sean populares y altamente consumidos por la población para la incorporación de insectos comestibles, puede mantener o incluso exceder las expectativas sensoriales de los consumidores y, al mismo tiempo, aumentar la probabilidad de agrado y de compra de dichos alimentos. En este sentido, productos como pastas de trigo, que son populares entre todos los grupos sociales y con una posición segura en el mercado mundial, pueden servir como base para el desarrollo de nuevos alimentos debido a sus características como bajo costo, sencilla y variada preparación. Además, la baja calidad de la proteína de las pastas debido a las limitaciones de aminoácidos esenciales, principalmente lisina, puede mejorarse con la incorporación de harina de insectos los cuales han demostrado poseer proteínas de buena calidad (Biró *et al.*, 2019; Duda *et al.*, 2019; Jakab *et al.*, 2020).

### 2.1.3. Composición Nutricional de los Insectos Comestibles

Los insectos comestibles son reconocidos por ser una fuente rica de macro y micronutrientes, generalmente con mejores características nutricionales que las fuentes de proteína convencionales como res, puerco, pollo, huevo y leche (Gere *et al.*, 2019) (**Cuadro 1**). Sin embargo, debido a la gran variedad de especies, el contenido y calidad nutricional de los insectos comestibles también es muy variable. El perfil nutricional puede variar dependiendo de la etapa de desarrollo del insecto, su alimentación, el hábitat, el país de origen, el tipo de tratamiento térmico al que se somete previo al consumo, entre otros factores (Gere *et al.*, 2019; Zielińska *et al.*, 2015). Por lo general, los insectos poseen un alto contenido de proteína (hasta 76 % en base seca) y de buena calidad por todos los aminoácidos esenciales que contienen. En este contexto, Brogan y colaboradores (2021) reportaron que el contenido de aminoácidos esenciales en *A. domesticus* excede las recomendaciones diarias para adultos por la FAO/WHO/UNU, a excepción de la metionina. Además de su buena calidad, las proteínas de insectos son altamente digeribles, un poco menos que las de huevo y res (95 y 98 %, respectivamente), pero mayor que las vegetales como maíz, trigo y arroz (73, 81 y 66 %, respectivamente), por ejemplo, la proteína de *A. domesticus* presenta una digestibilidad del 83.9 % (Magara *et al.*, 2021; Ordoñez-Araque y Egas-Montenegro, 2021).

El segundo componente más abundante en los insectos comestibles son los lípidos, siendo los más abundantes los ácidos grasos mono- y polinsaturados (Paul *et al.*, 2016). También contienen cantidades significativas de fibra (compuesta principalmente por quitina), y son una fuente abundante en minerales como hierro, zinc, cobre, calcio, manganeso, magnesio, potasio y vitaminas B1, B2, C, D, E y K (Ghosh *et al.*, 2017; Govorushko, 2019; Ojha *et al.*, 2021). Los carbohidratos se encuentran principalmente en forma de glucógeno (0.1-14 %), y la cantidad de energía que proveen puede variar desde 385 a 617 kcal/100 g, dependiendo de la especie. Es por esto que los insectos podrían ser una solución a las deficiencias nutrimentales de la población, participar en el aporte de nutrientes en alimentos de primera necesidad en países en desarrollo, y representar una alternativa sustentable y soportable para la industria ganadera (Ordoñez-Araque y Egas-Montenegro, 2021).

**Cuadro 1.** Composición nutricional de *A. domesticus* y algunas fuentes convencionales de proteína animal en base seca (%).

Fuente	Proteína	Lípidos	Carbohidratos	Fibra	Ceniza	Energía (kcal/100 g)	Referencia
Grillo <i>A. domesticus</i> (adulto)	56.58 – 72.0	9.8 - 27.08	12.33 ± 0.41	4.46 – 10.20	4.02 - 9.10	455.19	(Brogan <i>et al.</i> , 2021; González <i>et al.</i> , 2019)
Res	40.5	56.3	-	-	3.35	155	
Puerco	27.7	69.9	8.05	-	12.39	126	
Pollo	54.7	44.3	-	-	3.42	166	(Chakravorty <i>et al.</i> , 2016; USDA, 2019)
Huevo	52.7	39.9	3.97	-	3.51	147	
Leche	27.48	26.89	38.91	-	6.72	61	

#### 2.1.4. Propiedades Tecnofuncionales

Los insectos como ingredientes en la industria alimentaria pueden aportar ventajas debido a sus propiedades tecnofuncionales, tales como capacidad de absorción de agua y aceite, hinchamiento, solubilidad, capacidad de emulsión y formación de espuma y gel (Haber *et al.*, 2019). Villaseñor y colaboradores (2021) han resaltado la importancia de considerar estas propiedades tecnofuncionales de los insectos comestibles al momento de formular alimentos. Por ejemplo, mencionan que la formación de espuma es importante en la industria de panificación, mientras que una buena propiedad de emulsión es ideal en la industria cárnica para evitar pérdidas de agua en productos emulsificados. Además, la buena formación de geles es necesaria en productos lácteos para obtener buena textura y reducir sinéresis, y la solubilidad es importante en bebidas y productos en polvo. Con base en esto, proponen que comprender y caracterizar las propiedades tecnofuncionales de los insectos, es clave para promover su incorporación en una amplia gama de productos alimentarios.

La solubilidad es una de las propiedades funcionales más importantes de las proteínas, la cual depende de la hidratación y el grado de hidrofobicidad de estas moléculas (Zielińska *et al.*, 2018). Brogan y colaboradores (2021) evaluaron esta propiedad en la harina de grillo *A. domesticus*, encontrando que se favorecía en condiciones alcalinas (pH 12-13), mientras que a pH entre 4 y 5 se encontraba el mayor nivel de proteínas precipitadas. Se ha indicado que una buena solubilidad es importante, principalmente para la formación de emulsiones, espumas y geles en productos alimentarios diseñados, por lo que representa un aspecto muy importante que considerar para su uso en una amplia gama de productos alimentarios (Zielińska *et al.*, 2018). Por otro lado, Kim y colaboradores (2017) evaluaron la capacidad de emulsión y formación de gel de la harina de *A. domesticus*, la cual presentó una capacidad de emulsión del 45 %, pero no presentó capacidad de formación de gel a concentraciones entre 5 y 20 % a pH 6. La ausencia de capacidad de formación de gel se atribuyó al pH, el cual pudo encontrarse cercano al pH isoelectrico, y se sugirió que se requerirían mayores concentraciones de proteína, así como la modificación de las condiciones de temperatura y tiempo para formar el gel.

La capacidad de retención de agua es un parámetro que indica la habilidad para absorber y retener

agua por un material. Al igual que la capacidad de retención de agua, la retención de aceite indica el atrapamiento de aceite en la matriz (Villaseñor *et al.*, 2021). Se ha reportado que las harinas de insectos presentan mayores capacidades de retención de agua y aceite que las harinas de fuentes vegetales, lo que se ha atribuido a la composición de aminoácidos, y el efecto de carbohidratos y otros polímeros presentes en los mismos (Villaseñor *et al.*, 2021). Por ejemplo, la harina de grillo (*Gryllus assimilis*) presentó mayor capacidad de retención de agua y aceite (2.87 g agua/g harina y 3.22 g aceite/g harina), comparado con harina de lentejas (1.2 y 0.6 g/g, respectivamente) (da Rosa y Thys, 2019). Igualmente, la harina de saltamontes (*S. gregaria*) mostró una mayor capacidad de retención de agua y aceite (1.37 y 1.21 g/g, respectivamente) que la harina de trigo (0.67 y 0.89 g/g, respectivamente) (Haber *et al.*, 2019). El mismo comportamiento fue reportado en harinas de *T. molitor* y *G. sigillatus*, las cuales presentaron mayor capacidad de retención de agua (1.29 y 2.34 g/g) y aceite (1.71 y 2.82 g/g) que harina de lentejas (1.33 y 0.93 g/g) soya (1.3 y 0.84 g/g) y chícharo (1.19 y 1.10 g/g), respectivamente. Estas características de las harinas de los insectos juegan un papel importante en la textura de productos horneados, por lo que representan una alternativa prometedora en la elaboración de este tipo de productos.

## 2.2. Harina de Insectos y sus Efectos sobre Propiedades Nutricionales y Fisicoquímicas

Las harinas de insectos pueden ser obtenidas mediante el secado y molienda de los insectos en su integridad, consiguiendo harinas similares a las de cereales, y las cuales pueden ser utilizadas como ingredientes para la elaboración de distintos productos alimentarios (Acosta-Estrada *et al.*, 2021). Sin embargo, se obtienen alteraciones nutricionales, físicas y sensoriales como consecuencia de la incorporación de las harinas de insectos en alimentos (Acosta-Estrada *et al.*, 2021; Calzada *et al.*, 2021).

### 2.2.1. Efecto sobre Propiedades Nutricionales

La principal razón del consumo de insectos es su alto contenido de proteína, pero también constituyen una fuente importante de lípidos esenciales, vitaminas y minerales, por lo que su

incorporación en productos alimentarios puede mejorar su composición nutricional (Ojha *et al.*, 2021). Es por ello que diversos trabajos se han dirigido a la evaluación del contenido nutricional de alimentos que son sustituidos parcialmente con harina de insectos comestibles, aunque en la mayoría de los casos se ha dejado de lado la evaluación de aspectos como la digestibilidad y bioaccesibilidad de sus principales componentes (González *et al.*, 2019; Kowalski *et al.*, 2022 Smarzyński *et al.*, 2019; Zielińska *et al.*, 2021).

Los principales alimentos que han sido enriquecidos con insectos comestibles son los productos a base de cereales, debido a que representan la fuente más importante de nutrientes del humano (Acosta-Estrada *et al.*, 2021). El **Cuadro 2** presenta algunos estudios en donde se reportan alimentos sustituidos parcialmente con diferentes concentraciones de harina de *A. domesticus*, así como sus efectos sobre sus propiedades fisicoquímicas. Por ejemplo, Osimani y colaboradores (2018) incorporaron el 10 y 30 % de harina de *A. domesticus* en panes de trigo, observando una correlación lineal entre el contenido de proteína, grasa y fibra y la cantidad de la harina de grillo. De forma similar, González y colaboradores (2019) incorporaron el 5 % de harina de *A. domesticus* en panes de trigo, reportando también que la harina de insecto afectó la composición nutricional de los panes aumentando el contenido de proteína, grasa, minerales y fibra (soluble), mientras que el contenido de carbohidratos se vio reducido. Además, se destacó que la harina de *A. domesticus* proporcionó características reológicas similares a las del pan de trigo control. La misma tendencia en el aumento de proteína, grasa y otros nutrientes por la sustitución parcial con *A. domesticus* se ha observado en otros alimentos como galletas, snacks extrudidos de maíz, barritas de cereales y frutos secos, tortillas y totopos de maíz y productos cárnicos.

**Cuadro 2.** Alimentos sustituidos parcialmente con diferentes concentraciones de harina de *A. domesticus* y su efecto sobre propiedades fisicoquímicas.

Alimento	Concentración	Efecto	Referencia
Pan de trigo	5 %	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento de proteína, grasa, minerales y fibra</li> <li>• Reducción de carbohidratos</li> <li>• Reducción de luminosidad (L*) y aumento del rojizo (a*) y tonalidad amarilla (b*)</li> </ul>	(González <i>et al.</i> , 2019)
Pan de trigo	10 y 30 %	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento de proteína, grasa, fibra</li> <li>• Aumento de aminoácidos esenciales (lisina, tirosina, valina y metionina)</li> <li>• Disminución de volumen específico</li> </ul>	(Osimani <i>et al.</i> , 2018)

			<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento de firmeza</li> </ul>	
Galleta	2, 6 y 10 %		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento de proteína, aminoácidos esenciales, minerales (Ca, Mg, K, Na, Cu, Fe, Mn, Zn) y grasa</li> <li>• Disminución en contenido de carbohidratos</li> <li>• Aumento del diámetro y dispersión</li> <li>• Reducción de dureza</li> <li>• Oscurecimiento, disminución de L* y b*, e incremento de a*</li> </ul>	(Smarzyński <i>et al.</i> , 2021)
Snack extrudido de maíz	5, 7.5, 10, 12.5 y 15 %		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento en contenido de proteína</li> <li>• Disminución del índice de expansión, crujencia y coordenadas de color L* y b*</li> <li>• Aumento de dureza y color rojizo (a*)</li> </ul>	(Iguar <i>et al.</i> , 2020)
Barritas de cereales y frutos secos	8 %		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento del contenido de proteína en un 46 %</li> </ul>	(Ribeiro <i>et al.</i> , 2019)
Tortilla de maíz Totopos de maíz	20 %		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sustitución parcial con hidrolizados proteicos de <i>A. domesticus</i> aumentó el contenido de proteína y aminoácido esencial lisina</li> </ul>	(Calzada <i>et al.</i> , 2021)
Emulsión de carne	5 y 10 %		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento en contenido de proteína, P, K, Mg, Zn, Mn</li> <li>• Aumento de dureza, gomosidad y masticabilidad</li> </ul>	(Kim <i>et al.</i> , 2017)

Asimismo, las pastas han sido objeto de estudio en la sustitución parcial con distintas harinas de insectos (**Cuadro 3**), en los que se han reportado comportamientos similares en los cambios nutricionales producidos, como aumento del contenido de proteína y disminución del contenido de carbohidratos.

**Cuadro 3.** Pastas sustituidas parcialmente con distintas concentraciones de harinas de insectos y su efecto sobre propiedades nutricionales y fisicoquímicas.

Alimento	Especie	Concentración	Efecto	Referencia
Pasta de sémola de trigo	Grillo (no especificada)	5, 10 y 15 %	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento de proteína, grasa y minerales, y disminución de carbohidratos.</li> <li>• Disminución de luminosidad (L*), cambio del balance de color hacia rojo (+a*) y azul (-b*) y aumento de firmeza.</li> </ul>	(Duda <i>et al.</i> , 2019)
Pasta de	Gusano	5 y 10 %	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento de proteína (de 26.2 a</li> </ul>	(Biró <i>et</i>

alforfón	<i>Bombyx mori</i>		30.3 %)	<i>al.</i> , 2019)
			<ul style="list-style-type: none"> <li>Disminución de carbohidratos (de 59.5 a 57.3)</li> </ul>	
Pasta de mijo	Grillo <i>Gryllus bimaculatus</i>	5 y 10 %	<ul style="list-style-type: none"> <li>Aumento de proteína y aminoácidos esenciales treonina y lisina</li> <li>Aumento de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante (FRAP)</li> </ul>	(Jakab <i>et al.</i> , 2020)
Pasta de mijo	Grillo <i>Gryllus bimaculatus</i>	5 y 10 %	<ul style="list-style-type: none"> <li>Disminución de luminosidad (L*), incremento del color rojo (a*) y disminución del azul (b*)</li> </ul>	(Jakab <i>et al.</i> , 2020)
Pasta de huevo	Gusano de harina <i>T. molitor</i>  Saltamontes <i>L. Migartoria</i>	15 %	<ul style="list-style-type: none"> <li>Aumento de humedad y fibra</li> <li>Disminución de almidón</li> <li>Reducción de luminosidad (L*) y color amarillo (b*)</li> <li>Aumento del tiempo óptimo de cocinado y pérdida de cocinado</li> <li>Disminución de absorción de agua y expansión de volumen</li> <li>Menores puntajes en sensorial</li> </ul>	(Çabuk & Yılmaz, 2020)

### 2.2.2. Efecto sobre Propiedades Físicas

La incorporación de harinas de insectos en alimentos no sólo tiene un impacto sobre las propiedades nutricionales, sino que también pueden llegar a afectar las características físicas de los productos. En panes de trigo, Osimani y colaboradores (2018) reportaron que la sustitución parcial con harina de *A. domesticus* disminuyó el volumen específico, un parámetro que indica la porosidad de los panes debido a burbujas de gas, las cuales son las responsables de la textura suave. La reducción de este parámetro se atribuyó a la dilución del gluten y la reducción de la proteína cohesiva, además de que la harina de insecto pudo haber interrumpido la formación de uniones S-S entre las moléculas de gluten, causando que la red tridimensional atrapara menos aire. Asimismo, se reportó el aumento de la firmeza de los panes (**Cuadro 2**).

Por otro lado, la incorporaron harina de *A. domesticus* (2, 6 y 10 %) a galletas generó un aumento en su diámetro, posiblemente por la reducción del contenido de proteínas de gluten en la masa, lo

que causó que no se pudiera mantener la forma durante el horneado. También se observó el incremento en la dispersión de las galletas, mostrando la pobre interacción entre las proteínas y carbohidratos, lo que también se reflejó en la disminución de la dureza de las muestras (Smarzyński *et al.*, 2021) (**Cuadro 2**). Los autores mencionaron que la reducción de la dureza fue debido a la poca uniformidad de mezclado, lo que pudo haber limitado el agua para las proteínas, las cuales deben ser hidratadas en la preparación de la masa. Poca agua o la sustitución de otros ingredientes como grasas en la masa previene que las proteínas se hidraten apropiadamente. Además, se reportó que la harina de grillo provocó el oscurecimiento de las galletas (menor valor de  $L^*$ ), debido al incremento de proteína y las altas temperaturas del horneado, llevando a la formación de melanoidinas, aunque también se pudo haber debido a la transformación de los carbohidratos, incluyendo su caramelización. También se observó que el color de las galletas sustituidas cambió gradualmente, incrementando la saturación en el rojo ( $a^*$ ) y disminuyendo en el amarillo ( $b^*$ ) (**Cuadro 2**).

Igual y colaboradores (2020) observaron que, en snacks extrudidos de maíz, la sustitución parcial con harina de *A. domesticus* redujo el índice de expansión y la crujencia de los productos (**Cuadro 2**). Esto se atribuyó a cambios en la microestructura principalmente por el contenido de lípidos y proteínas, lo que pudo haber reducido la viscosidad de la mezcla causando una pérdida en la energía mecánica, y que durante la extrusión se afectara la distribución del agua en la matriz creando una red a través de interacciones covalente y no enlazantes que modificaron las propiedades extensionales de la mezcla, limitando su expansión (**Cuadro 2**). Además, se observó un aumento de la dureza y cambios en el color de los extrudidos.

En el caso de pastas, Duda y colaboradores (2019) sustituyeron parcialmente con 5, 10 y 15 % de harina de grillo, reportando cambios en el color y textura (**Cuadro 3**). Con la sustitución parcial con harina de grillo en estas pastas de sémola de trigo se observó un oscurecimiento debido a la reducción de la luminosidad ( $L^*$ ), un color similar al de pastas comerciales de trigo integral, consideradas como más “saludables”. Asimismo, se observó que el tiempo de cocinado aumentó, mientras la pérdida y peso de cocinado disminuyeron, concluyendo que la calidad de las pastas fue mejorada debido a que se obtuvo una mayor firmeza del producto. Cambios similares fueron reportados por otros autores en pastas (**Cuadro 3**).

Cabe mencionar que esta serie de estudios se han limitado a la evaluación del impacto que tiene la sustitución parcial con la harina de insecto, principalmente sobre las propiedades de textura y color, dejando fuera la evaluación de las interacciones intermoleculares entre las materias primas que podrían estar participando de manera positiva o negativa en la matriz alimentaria. La información sobre las características fisicoquímica de las materias primas aún es escasa, las cuales ayudarían a optimizar la formulación y desarrollo de nuevos alimentos enriquecidos con insectos.

### 2.3. Compuestos Bioactivos en Insectos Comestibles

#### 2.3.1. Compuestos y Propiedades Bioactivas de Insectos Comestibles

Además del alto valor nutricional de los insectos comestibles, estos poseen una característica innovadora atribuida a su contenido de compuestos bioactivos y habilidad para inducir efectos positivos en la salud (D'Antonio *et al.*, 2021b). Se ha demostrado que los insectos poseen compuestos bioactivos con actividad antioxidante, antiinflamatoria, moduladora del metabolismo de lípidos y carbohidratos, así como compuestos que ejercen efectos positivos en la microbiota intestinal (Acosta-Estrada *et al.*, 2021; D'Antonio *et al.*, 2021). A pesar de que se cuenta con la evidencia de que los insectos exhiben estas bioactividades, los mecanismos específicos y los compuestos responsables de estas no se han elucidado completamente (Navarro *et al.*, 2020).

Los compuestos antioxidantes pueden disminuir la oxidación en alimentos, eliminar y proteger contra el daño de radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), así como disminuir el riesgo de enfermedades crónicas no transmisibles en humanos (Acosta-Estrada *et al.*, 2021). Zielińska y colaboradores (2021) evaluaron la habilidad de neutralizar los radicales DPPH y ABTS<sup>•+</sup> de las harinas de grillo (*G. sigillatus*) y gusano (*T. molitor*), así como el contenido de compuestos fenólicos totales (CFT). Estos autores reportaron una correlación entre la capacidad antioxidante (CAOX) y el contenido de CFT presentes en estos insectos. La harina de grillo presentó mayor contenido de CFT (515.76 mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g) y

mayor CAOX (2.27 y 1.15 mM equivalentes de Trolox (ET)/100 g para DPPH y ABTS, respectivamente) que la harina de gusano (351.05 mg EAG/100g, 1.21 y 0.93 mM ET/100 g para DPPH y ABTS, respectivamente).

Di Mattia y colaboradores (2019) investigaron la habilidad de extractos de distintas especies de insectos para ejercer un efecto antioxidante *in vitro*, usando jugo de naranja como referencia. Fue reportado que los extractos de saltamontes (*Calliptamus italicus*), gusano de seda (*B. mori*) y grillo (*A. domesticus*) presentaron la mayor CAOX medida por el método de TEAC (2.55, 2.48 y 2.37 mM ET/100 g, respectivamente), hasta 5 veces más que el jugo de naranja (0.4 mM ET/100 g). En cambio, los extractos de saltamontes (*C. italicus*), de orugas africanas (*Imbrasia oyemensis*) y de grillo (*A. domesticus*) presentaron la mayor CAOX cuando fueron medidas por el método FRAP (2.12, 1.88 y 1.81 mM de Fe<sup>2+</sup>/100 g), el doble que el jugo de naranja (0.94 mM Fe<sup>2+</sup>/100 g). Adicionalmente, se reportó el contenido de CFT en los insectos, destacando los saltamontes y los grillos entre los valores más altos (492 y 299 mg EAG/100 g, respectivamente). Sin embargo, se observó que el contenido de CFT presentes en los extractos no fue superior al del jugo de naranja (496 mg EAG/100 g), sugiriendo que la CAOX de los insectos no sólo se debe a este tipo de compuestos, sino que también podrían estar involucrados otros compuestos bioactivos.

Otros constituyentes de los insectos, también podrían contribuir en su CAOX, por ejemplo, proteínas o péptidos y otros compuestos no identificados, y que posiblemente están relacionados con la dieta de los insectos (Di Mattia *et al.*, 2019). En este sentido, Navarro y colaboradores (2020) estudiaron la CAOX, el contenido de CFT y la caracterización de extractos de grillo (*A. domesticus*) y gusano (*T. molitor*) obtenidos por diferentes métodos de extracción y diferentes solventes. Se reportó que todos los extractos presentaron CAOX, así como una correlación positiva entre el contenido de CFT y la inhibición del radical DPPH. Sin embargo, no se encontró una correlación positiva entre la abundancia de los compuestos identificados en la caracterización (lípidos, compuestos nitrogenados, ácidos orgánicos, carbohidratos, esteroides y compuestos hidrocarbonados) y los valores de inhibición de DPPH. Por lo tanto, a pesar de la correlación entre el contenido de CFT y los valores de DPPH, se concluyó que se necesitan estudios más específicos que permitan identificar los compuestos responsables de la CAOX de los extractos. Por otro lado, también se encontró que los extractos presentaron actividad inhibitoria de la lipasa pancreática, pero no se pudo atribuir esta bioactividad a compuestos específicos. De cualquier manera, los

insectos poseen fuertes propiedades antioxidantes, las cuales son importantes para prevenir enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, y pueden ser aprovechados para ser utilizados en el desarrollo de alimentos.

Más allá del alto contenido de proteína en los insectos y su aporte de aminoácidos esenciales, estos proveen péptidos bioactivos (Acosta-Estrada *et al.*, 2021). Hall y colaboradores (2020) identificaron péptidos bioactivos derivados de la digestión *in vitro* de hidrolizados proteicos de grillo (*G. sigillatus*). Los péptidos identificados demostraron actividad inhibitoria *in vitro* de la  $\alpha$ -amilasa,  $\alpha$ -glucosidasa y de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), así como la inhibición de la expresión de NF- $\kappa$ B en células de macrófagos RAW 264.7. Con base en sus resultados, los autores concluyeron que el consumo de péptidos de grillo ya sea en su forma simple o en alimentos funcionales, puede contribuir con efectos positivos en condiciones asociadas con inflamación e hipertensión.

En el mismo contexto, Zielińska y colaboradores (2020) evaluaron péptidos a partir de hidrolizados proteicos de harina de gusano (*T. molitor*), langosta (*S. gregaria*) y grillo (*G. sigillatus*). Los péptidos derivados de la digestión *in vitro* fueron probados en la inhibición de enzimas asociadas con el desarrollo del síndrome metabólico. Igualmente, se reportó que todos los péptidos obtenidos como resultado de la digestión de proteínas bajo condiciones gastrointestinales presentaron la habilidad para inhibir a  $\alpha$ -glucosidasa, lipasa pancreática y ECA. Debido a que las especies de insectos que fueron estudiadas mostraron una bioactividad mediante la inhibición de enzimas que contribuyen al desarrollo del síndrome metabólico, se concluyó que pueden tener un posible valor nutracéutico y que podrían incrementar su potencial benéfico en la salud cuando son incorporados como ingredientes en alimentos funcionales. Sin embargo, en la literatura aún no se encuentra información de la bioactividad de alimentos sustituidos parcialmente con harinas de insectos comestibles y que hayan sido sometidos a la digestión gastrointestinal simulada. Esto proporcionaría una vista más cercana a lo que realmente podría ocurrir tras la ingestión de alimentos formulados con la incorporación de insectos, y si en realidad, estos productos tienen un efecto biológico tras la digestión gastrointestinal.

### **2.3.2. Digestibilidad y Bioaccesibilidad de Alimentos Sustituídos Parcialmente con Harina de Insectos**

Como se ha descrito a lo largo del presente trabajo, los insectos comestibles son una fuente importante de macro- y micronutrientes, además de compuestos que potencialmente podrían promover la salud. Sin embargo, aspectos como digestibilidad y bioaccesibilidad de estos constituyentes de los insectos han sido escasamente estudiados, y aún en menor medida, el comportamiento cuando son parcialmente añadidos en distintos alimentos. La digestibilidad hace referencia a una manera de evaluar el grado de digestión o disponibilidad de nutrientes, mientras que bioaccesibilidad se refiere a la fracción de nutrientes que son liberados de la matriz alimentaria durante el proceso de digestión y que pueden ser absorbidos, y biodisponibilidad a la fracción que es absorbida y transportada a los tejidos diana donde llevan a cabo su función biológica en beneficio de la salud (Imathiu, 2020; Ojha *et al.*, 2021). La digestibilidad, bioaccesibilidad y biodisponibilidad son aspectos importantes cuando los insectos son parcialmente incorporados a distintas matrices alimentarias, para asegurar que sus nutrientes y compuestos bioactivos estén disponibles en el cuerpo para la promoción de la salud (Imathiu, 2020).

Ojha y colaboradores (2021) han descrito que el valor biológico de la proteína (indicador de la utilización de la proteína por el organismo) de algunas especies de insectos (grillos, saltamontes y termitas) es mayor (85.49-93.2 %) que el de la caseína (73.45 %). De manera similar, Magara y colaboradores (2021) y Ordoñez-Araque y Egas-Montenegro (2021) describen que las proteínas aisladas de insectos, como *A. domesticus*, son más digeribles (83.9 %) que muchas proteínas de origen vegetal (46-81 %), aunque menos que la proteína de huevo (95 %), leche (95 %) y carne de res (98 %). Sin embargo, esta información no provee la digestibilidad y bioaccesibilidad real o suficiente, ya que es más probable que los insectos sean parte de una formulación de un alimento y, por lo tanto, estos aspectos dependerán de la matriz alimentaria, el proceso de digestión, absorción y otros procesos metabólicos (Ojha *et al.*, 2021).

En este sentido, Azzollini y colaboradores (2018) estudiaron la digestibilidad de snacks extrudidos sustituidos parcialmente con harina de gusano (*T. molitor*) mediante la realización de una digestión

*in vitro*. Estos autores reportaron que la digestibilidad de las proteínas fue dependiente de la microestructura de los extrudidos, lo cual gobernó la accesibilidad de las enzimas digestivas hacia las macromoléculas y, por lo tanto, su digestibilidad. Se observó una disminución de la digestibilidad de las proteínas en extrudidos más compactos, lo cual fue resultado de la mayor concentración de sustitución parcial con harina de gusano (20 %). En cambio, mayor porosidad, fracturabilidad y, por ende, mayor superficie de contacto, la digestibilidad fue mayor, lo cual fue obtenido en extrudidos con la menor sustitución con gusano (0 y 10 %). Por otro lado, Igual y colaboradores (2021) estudiaron la liberación de aminoácidos de panes sustituidos parcialmente con 5 y 10 % de harina de *Alphitobius diaperinus* y *T. molitor* sujetos a una digestión *in vitro*. Los autores reportaron que la mayor liberación de aminoácidos ocurrió durante la fase intestinal debido a la acción enzimática, y que la liberación de aminoácidos durante la digestión aumentaba de forma paralela con la sustitución de harina de insectos.

Si bien estos estudios ofrecen información básica sobre digestibilidad y bioaccesibilidad de proteínas y aminoácidos, se requieren más estudios utilizando otras matrices alimentarias. Esto no sólo es importante desde el punto de vista nutricional, sino también porque compuestos bioactivos, como péptidos, sólo pueden ser resultado de la proteólisis digestiva y ejercer posteriormente su efecto benéfico en la salud (Singh *et al.*, 2020).

#### 2.4. Desarrollo de Alimentos Funcionales Sustituidos Parcialmente con Harina de Insectos

Desde el punto de vista nutricional, los insectos representan una fuente importante de nutrientes por sus altos niveles de proteína, aminoácidos esenciales, lípidos, fibra, vitaminas y minerales (D'Antonio *et al.*, 2021). Asimismo, se ha propuesto que compuestos bioactivos presentes en los insectos comestibles poseen un valor nutracéutico, y que su incorporación en alimentos podría contribuir a ejercer efectos positivos en la salud (Hall *et al.*, 2020; Zielińska *et al.*, 2020). Por ejemplo, Gaglio y colaboradores (2021) reportaron que la incorporación de harina de gusano (*T. molitor*) y escarabajo (*Alphitobius diaperinus*) en panes aumentó la capacidad antioxidante antes y después de la digestión *in vitro*. Incluso se observó que la digestión gastrointestinal promovió la

liberación de compuestos antioxidantes, lo cual se reflejó en un incremento de la capacidad antioxidante evaluada por el ensayo de TEAC. Además, se mostró la reducción de la liberación de glucosa en las fracciones bioaccesibles, disminuyendo el índice glicémico de los panes sustituidos parcialmente. Se sugirió que péptidos que posiblemente se produjeron durante la digestión, mostraron un efecto inhibitorio sobre la enzima  $\alpha$ -glucosidasa, reduciendo la liberación de la glucosa durante la digestión de los panes.

De manera similar, Zielińska y colaboradores (2021) observaron que al incorporar harina de grillo (*G. sigillatus*) en muffins, se aumentó el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de los productos. También fue reportado que compuestos presentes en los insectos interactuaron con el almidón, provocando la reducción de su digestibilidad mediante transformaciones en los complejos y reacciones que ocurrieron durante el tratamiento térmico de los muffins. Esto resultó en una disminución de los índices glicémicos predictivos, un aspecto importante en la modulación de la glucosa postprandial.

Debido a estos resultados, se evidencia que el uso de insectos como ingredientes alimentarios permite la obtención de alimentos potencialmente funcionales que proporcionen efectos positivos en la salud, más allá de su aporte nutricional. Sin embargo, se requieren mayores estudios que permita la comprensión del efecto de la inclusión de harina de insectos en otras matrices alimentarias, así como otras especies de insectos, que relacionen los efectos provocados por su sustitución en la composición de los alimentos, sus compuestos y propiedades bioactivas y, de manera imprescindible, su aceptabilidad sensorial. Por lo tanto, surge la pregunta de investigación: ¿cómo afecta la sustitución parcial con harina de grillo *A. domesticus* las propiedades fisicoquímicas, sensoriales, nutricionales y bioactivas *in vitro* de una pasta de trigo?

### 3. HIPÓTESIS

La sustitución parcial con harina de grillo (*A. domesticus*) a una pasta de trigo permite obtener un producto con mejor perfil nutricional, con buena aceptabilidad sensorial, mayor contenido de compuestos bioactivos bioaccesibles y con capacidad antioxidante e inhibitoria de enzimas digestivas de carbohidratos en un modelo *in vitro*.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de la sustitución parcial con harina de grillo (*A. domesticus*) a una pasta de trigo sobre sus propiedades fisicoquímicas, sensoriales, nutricionales y bioactivas *in vitro*.

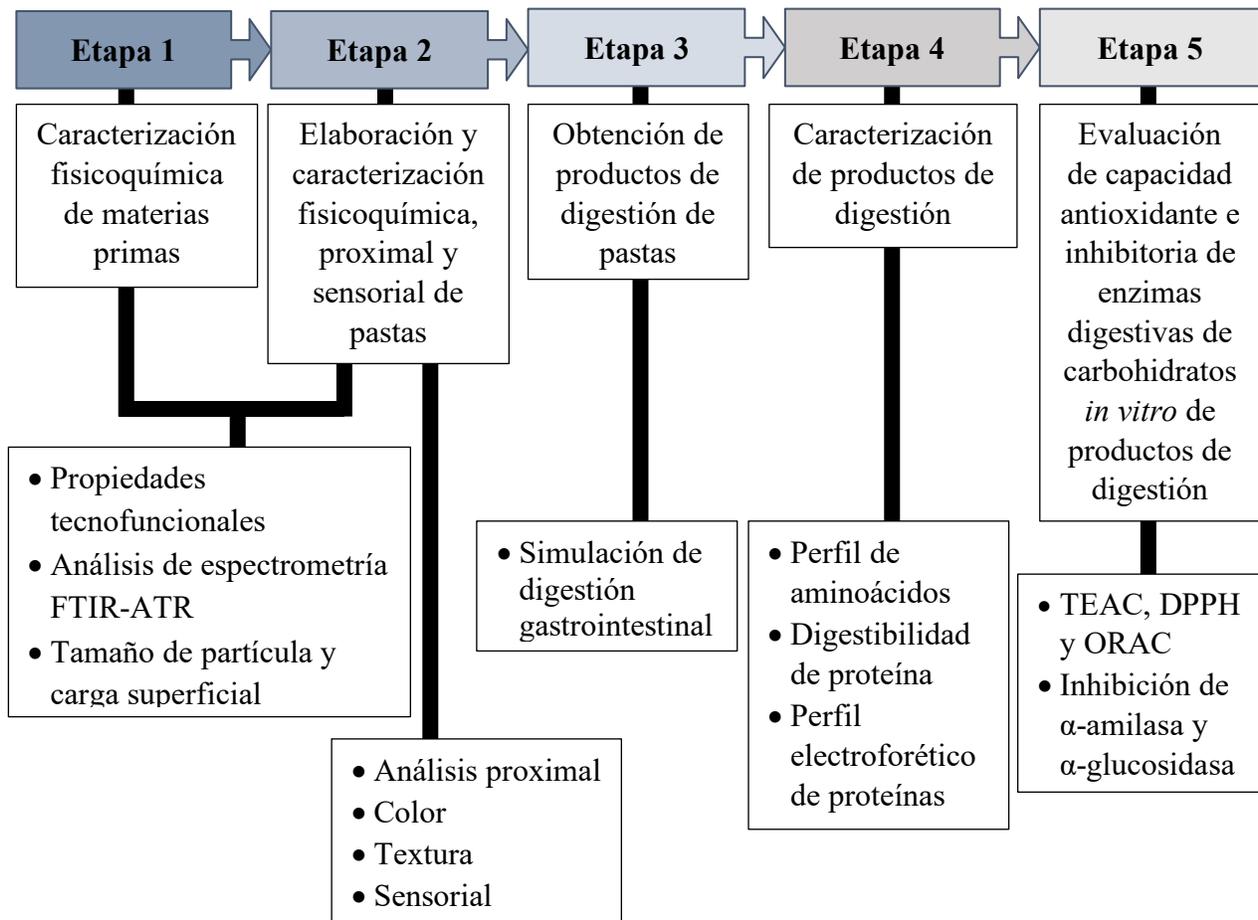
### 4.2. Objetivos Específicos

1. Caracterizar fisicoquímicamente las materias primas y sus mezclas, para la elaboración de una pasta de trigo sustituida parcialmente con harina de grillo (*A. domesticus*).
2. Obtener pastas de trigo sustituidas parcialmente con distintas concentraciones de harina de grillo (*A. domesticus*) y evaluar sus propiedades fisicoquímicas, nutricionales y sensorial.
3. Obtener y caracterizar productos de digestión de una pasta de trigo sustituida parcialmente con harina de grillo (*A. domesticus*), mediante una simulación de digestión gastrointestinal.
4. Evaluar la capacidad antioxidante e inhibitoria de  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa de productos de digestión, mediante una simulación de digestión gastrointestinal.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1. Materia Prima

La harina y sémola de trigo fueron adquiridas a través del vendedor en línea BestMarketMexico (Le 5 Stagioni, Italia), y la harina de grillo *A. domesticus* comestible se obtuvo de Griyum (Griyum, Querétaro, México). La **Figura 1** muestra las etapas del estudio y las determinaciones correspondientes en cada una de ellas.



**Figura 1.** Etapas experimentales para evaluar el efecto de la sustitución parcial con harina de grillo (*A. domesticus*) a una pasta de trigo sobre sus propiedades fisicoquímicas, sensoriales, nutricionales y bioactivas *in vitro*.

## 5.2. Caracterización Fisicoquímica

### 5.2.1. Propiedades Tecnofuncionales

5.2.1.1. Capacidad de absorción de agua. Se evaluó la capacidad de absorción de agua de las harinas de trigo, sémola, grillo y sus mezclas, así como de las pastas secas, siguiendo la metodología descrita por Sindhu y Singh (2016) con ligeras modificaciones. En tubos de centrífuga, se adicionaron 1.5 g de muestra con 10 mL de agua destilada, y fueron agitados en vórtex en 3 ocasiones, permitiendo un tiempo de reposo de 10 min entre cada agitación. Posteriormente, los tubos fueron centrifugados (Beckman Coulter, Allegra™ 64R, EUA) a 2,800 rpm por 25 min a temperatura ambiente, se decantaron los sobrenadantes y finalmente se pesaron (Mettler Toledo, Suiza) los tubos con los sedimentos. La absorción de agua se calculó a partir del aumento en el peso de la muestra. Se realizaron 9 repeticiones por muestra y los resultados fueron expresados en porcentaje.

5.2.1.2. Capacidad de hinchamiento y solubilidad. Para evaluar la capacidad de hinchamiento y solubilidad de las harinas de trigo, sémola y grillo, sus mezcla y de las pastas secas se siguió el método descrito por Olatunde *et al.* (2015), con algunas modificaciones. Se colocaron 0.35 g de muestra con 12.5 mL de agua destilada en tubos de centrífuga, y se calentaron en baño de agua a 80 °C durante 30 min con agitación constante (100 rpm). Se centrifugaron a 2,800 rpm por 15 min y los sobrenadantes fueron decantados en platillos de aluminio previamente tarados. Los sobrenadantes fueron secados a 100 °C por 5 h en una estufa (FD-23, Binder GmbH, Tuttlingen, Alemania), y por último fueron pesados. La capacidad de hinchamiento fue calculada a partir de la ganancia en peso de la muestra expresada como g de agua/g muestra, y la solubilidad se calculó a partir de la diferencia de peso de los platillos y se expresó en porcentaje. Se realizaron 9 repeticiones por muestra en cada determinación.

5.2.1.3. Capacidad de absorción de aceite. Se evaluó la capacidad de absorción de aceite de las harinas de trigo, sémola y grillo, sus mezclas y de las pastas secas, siguiendo la metodología descrita por del Rosario y Flores (1981). En tubos de centrífuga, se agregaron 0.5 g de muestra con 3 mL de aceite de soya. Después, los tubos fueron agitados en vórtex durante 1 min, se dejaron reposar por 30 min y finalmente fueron centrifugados a 2,800 rpm durante 25 min a temperatura ambiente. La absorción de aceite se determinó a partir de la diferencia del volumen de aceite libre leído del total y expresada como porcentaje. Se realizaron 9 repeticiones por muestra.

### **5.2.2. Análisis de Espectrometría FTIR-ATR**

Las características químicas estructurales de las harinas de trigo, sémola y grillo, de sus mezclas y de las pastas secas fueron determinadas por espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier con reflexión total atenuada (FTIR-ATR) utilizando un espectroscopio Cary 630 FTIR-ATR (Agilent, Santa Clara, CA, EUA). Los espectros FTIR de cada muestra fueron escaneados de 4,000 a 500  $\text{cm}^{-1}$  y se realizaron 3 repeticiones por muestra.

### **5.2.3. Tamaño de Partícula y Carga Superficial**

Se determinó el tamaño de partícula y la carga superficial (potencial zeta) de las harinas de trigo, sémola y grillo, sus mezclas y de las pastas secas mediante el principio de dispersión de luz dinámica (DLS, por sus siglas en inglés) (Zetasizer Nano-ZS90, Malvern Instruments Ltd., Reino Unido). Las muestras fueron disueltas en agua Milli-Q desionizada a una concentración de 1 mg/mL. Éstas se agitaron durante 24 h a temperatura ambiente, posteriormente se centrifugaron (5,000 rpm, 30 min, 4 °C) y filtraron los sobrenadantes con papel Whatman No. 1. Se realizaron 6 mediciones por muestra.

### 5.3. Elaboración de Pastas de Trigo Sustituidas con Distintas Proporciones de Harina de Grillo (*A. domesticus*)

La elaboración de pastas se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Duda y colaboradores (2019) con algunas modificaciones. Posterior a pruebas preliminares, se formularon pastas con diferentes proporciones de harina de trigo: sémola (mezcla base) y harina de grillo (*A. domesticus*) para generar tres tratamientos: P-20 (80 % harina de trigo: sémola 1:1, 20 % harina de grillo), P-25 (75 % harina de trigo: sémola 1:1, 25 % harina de grillo), P-30 (70 % harina de trigo: sémola 1:1, 30 % harina de grillo), así como un tratamiento control (PC) sin sustituir con harina de grillo (100 % harina de trigo: sémola 1:1). Además, todas las formulaciones fueron adicionadas con 1 % de carboximetilcelulosa, equivalente al peso de las mezclas, para controlar la viscosidad de las pastas. Las mezclas sustituidas con grillo fueron hidratadas agregando 40 % de agua potable, equivalente al peso de las mezclas, mientras que el control se adicionó con 36 %. Las mezclas fueron amasadas (6 min) y extrudidas en una máquina para hacer pastas (Philips Kitchen Appliances HR2375/06). Después, las pastas frescas fueron secadas en estufa (Binder FD 23) a 80 °C, con una humedad relativa de 35-40 % por 50 min. Finalmente, las pastas secas se enfriaron a temperatura ambiente, se guardaron en bolsas de polietileno y se almacenaron a 25 °C (deseCADOR). Adicional a la pasta control (PC), se utilizó una pasta comercial como control positivo (PT). Antes de los análisis, las pastas (PC, P-20, P-25 y P-30) fueron cocinadas en agua a punto de ebullición durante 8 min, y la pasta comercial durante 13 min como lo indicaba el empaquetado.

### 5.4. Caracterización Nutricional, Física y Sensorial de Pastas de Trigo Sustituidas con Distintas Proporciones de Harina de Grillo (*A. domesticus*)

#### 5.4.1. Análisis Proximal

El análisis proximal de las pastas se realizó siguiendo los métodos oficiales de la AOAC (2016).

Se determinó el contenido de humedad de las muestras por el método de secado en estufa (105 °C por 24 h) (método 950.46), el contenido de proteína cruda se determinó por el ensayo Kjeldahl (método 984.13), el contenido de grasa total por extracción Soxhlet (método 960.39), el contenido de cenizas por incineración en mufla (550 °C por 24 h) (método 920.153) y fibra total (método 991.43, AOAC 2005). El contenido de carbohidratos se determinó por diferencia. El análisis se realizó por triplicado en las pastas secas elaboradas.

#### **5.4.2. Textura**

La textura de las pastas cocinadas se determinó siguiendo la metodología descrita por Islas-Rubio y colaboradores (2014) con algunas modificaciones. Los parámetros de la prueba fueron: celda de carga de 5 kg, velocidad de prueba de 0.1 mm/s, distancia de ruptura de 1 mm y una fuerza de 100 g. Para la medición, 5 tiras de pastas cocinadas con una longitud de 5 cm fueron posicionadas paralelamente una al lado de otra en la plataforma del analizador de textura (Texture Analyser, Stable Micro System Ltd., Godalming, Reino Unido). Se realizaron 3 mediciones por réplica, y se repitió 7 veces para cada muestra. La fuerza máxima requerida para cortar el 50 % del grosor de las pastas cocinadas fue registrada como medida de la firmeza (esfuerzo al corte) de las pastas expresada en N.

#### **5.4.3. Color**

El color de las pastas cocinadas fue analizado utilizando un colorímetro CR-400HS (Konica Minolta Sensing Inc., NJ, EUA). En placas Petri, tiras de las pastas cocinadas fueron colocadas una a lado de la otra, tratando de no dejar espacios vacíos, y sobre las cuales se midieron los parámetros L\*, a\* y b\*. La medición se realizó por triplicado en 3 puntos diferentes de las placas. Los valores a\* y b\* se utilizaron para calcular Cromo (C\*) y el ángulo Hue (°Hue) de acuerdo con las ecuaciones 1 y 2.



## 5.5. Obtención y Caracterización de Productos de Digestión Mediante Simulación de Digestión Gastrointestinal

### 5.5.1. Simulación de Digestión Gastrointestinal

La simulación de digestión gastrointestinal se llevó a cabo siguiendo el método descrito por Brodkorb y colaboradores (2019) con algunas modificaciones. La metodología consistió en someter las pastas (PC, PT y P-20), previamente cocinadas, liofilizadas y molidas hasta un polvo fino, a tres fases secuenciales (oral, gástrica e intestinal). Se introdujo un blanco sin muestra (H<sub>2</sub>O destilada) al proceso de digestión simultáneamente con las pastas. En la fase oral se mezcló 1 g de muestra de cada pasta con 7.5 mL de solución salival (**Cuadro 4**), 0.5 mL de  $\alpha$ -amilasa (1,500 U/mL), 25  $\mu$ L de CaCl<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub> 0.3 M y el volumen necesario de H<sub>2</sub>O destilada para alcanzar un volumen final de 10 mL. La mezcla se incubó en baño de agua a 37 °C con agitación durante 2 min. Finalizada la fase oral, se añadieron 7.5 mL de solución gástrica (**Cuadro 4**) y se ajustó el pH a 3 con HCl 1 M, posteriormente se agregaron 1.6 mL de pepsina (25,000 U/mL), 5  $\mu$ L de CaCl<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub> 0.3 M y el volumen necesario de H<sub>2</sub>O destilada para alcanzar un volumen final de 20 mL. La mezcla se incubó en baño de agua a 37 °C con agitación durante 2 h y, finalizado el tiempo, se tomaron alícuotas de 2 mL para análisis posteriores. Para la fase intestinal, 11 mL de solución intestinal (**Cuadro 4**) fueron añadidos a la mezcla, y se ajustó el pH a 7 con NaOH 1 M. Después se agregaron 5 mL de pancreatina (800 U/mL), 2.5 mL de solución de bilis 160 mM, 36  $\mu$ L de CaCl<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub> 0.3 M y el volumen necesario de H<sub>2</sub>O destilada para alcanzar un volumen final de 40 mL. La mezcla se incubó en baño de agua a 37 °C con agitación durante 2 h y, finalizado el tiempo, se tomaron alícuotas de 2 mL para análisis posteriores. Las alícuotas tomadas después de cada una de las fases fueron centrifugadas a 10,000 rpm por 10 min, se recuperaron los sobrenadantes y se almacenaron a -20 °C hasta los análisis posteriores.

**Cuadro 4.** Concentración final (mM) de soluciones madre para la preparación de fluidos para la simulación de digestión gastrointestinal.

Sales	Fase Oral (pH 7)	Fase gástrica (pH 3)	Fase Intestinal (pH 7)
KCl 0.5 M	15.1	6.9	6.8
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0.5 M	3.7	0.9	0.8
NaHCO <sub>3</sub> 1 M	13.6	25	85
NaCl 2 M	-	47.2	38.4
MgCl <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub> 0.15 M	0.15	0.12	0.33
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> 0.5 M	0.06	0.5	-
HCl 6 M	1.1	15.6	8.4

### 5.5.2. Perfil de Aminoácidos

El análisis de aminoácidos fue realizado con base en la metodología reportada por Vázquez-Ortiz y colaboradores (1995) con algunos ajustes. Las muestras que no fueron sometidas a la simulación de digestión gastrointestinal, PC, PT y P-20 previamente cocinadas, liofilizadas y pulverizadas (3 mg) fueron hidrolizadas con ácido tioglicólico y HCl 6M a 150 °C durante 6 h. Después de la hidrólisis, las muestras fueron evaporadas a sequedad en rotavapor (RE500 Yamato Scientific America Inc., Santa Clara, CA, EUA), re suspendidas en agua HPLC y evaporadas de nuevo. Posteriormente, las muestras secas fueron re suspendidas en 1 mL de amortiguador de citrato de sodio pH 2.2, se tomaron 200 µL y se mezclaron con 40 µL de estándar interno (EI) y 760 µL de buffer de citrato para completar un volumen final de 1 mL. La derivatización se realizó tomando 250 µL de las muestras preparadas con EI y amortiguador de citrato, y adicionando 250 µL de solución de reactivo o-ftaldehído (OPA) que contenía β-mercaptoetanol y Brij 35. La mezcla se dejó reaccionar durante 2 min antes de la inyección. El estándar de aminoácidos consistía en 15 aminoácidos (0.1 µmol/mL de cada uno) utilizado para determinar los tiempos de retención de cada aminoácido. Las condiciones cromatográficas consistieron en un flujo de gradiente de fase móvil de acetato de sodio 0.1 M pH 7.2 (solvente A) y metanol (solvente B) para la separación de aminoácidos a través de una columna C18 (100 x 4.6 mm x 1/4" Microsorb 100-3 C18). El gradiente fue utilizado de la siguiente forma: 100 % A (al 0 min), 80 % A (0.5-7.5 min), 50 % A (10-15 min), 20 % A (18-20 min) y 0 % A (2 min). La detección de fluorescencia (Thermo

Scientific) se realizó utilizando una longitud de onda de excitación de 340 nm y emisión de 455 nm. El software Star Chromatography Workstation (Varian versión 5.51, EUA) fue utilizado para la integración de los picos de los aminoácidos.

En el caso de las muestras sometidas a la simulación de digestión gastrointestinal, se cuantificaron los aminoácidos libres directamente en los sobrenadantes de cada fase de la digestión simulada (gástrica, intestinal, absorbidos y no absorbidos en fase intestinal). Para ello, 500 µL de los sobrenadantes fueron precipitados con 21.7 µL de ácido sulfosalicílico 70 %, se homogenizaron en vórtex, se centrifugaron a 5,000 rpm, a 4 °C durante 20 min y los sobrenadantes fueron recuperados para su posterior derivatización. Ésta se realizó mezclando 200 µL de los sobrenadantes y 200 µL de OPA, dejando reaccionar durante 2 min antes de su inyección. Un estándar externo (Sigma, St. Louis, MO, EUA) fue utilizado como referencia, el cual fue tratado bajo las mismas condiciones que las muestras.

### **5.5.3. Perfil Electroforético de Proteínas**

5.5.3.1. Extracción y cuantificación de proteínas. La extracción de proteínas de las materias primas (harina de grillo y mezcla harina de trigo: sémola), así como de las pastas PC, PT y P-20 se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Faurobert y colaboradores (2007) con algunas modificaciones. 10 mg de las muestras, previamente pulverizadas hasta obtener un polvo fino, fueron adicionados con 200 µL de Fenol-Tris equilibrado con HCl 10mM (pH 8), EDTA 1mM, se sonicaron en 3 ciclos de 10 s con una amplitud de 20 % (GEX500, Ultrasonic Processor, Newtown, Connecticut, EUA) y se centrifugaron a 13,000 rpm por 10 min a temperatura ambiente (22 °C). Posteriormente, se tomaron 150 µL de los sobrenadantes y se agregaron 1.5 mL de acetona 100 % seguido de agitación en vortex para luego dejar en incubación a -20 °C durante toda la noche. Al día siguiente, las muestras precipitadas fueron lavadas con 1.5 mL de acetona (100 %) fría, seguido de dos lavados adicionales con acetona al 80 %, centrifugando después de cada lavado bajo las condiciones mencionadas anteriormente. Posteriormente las pastillas fueron secadas al vacío (Vacufuge plus Eppendorf, Hamburgo, Alemania) por 10 min a 45 °C. Una vez secas las pastillas,

se resuspendieron en 200  $\mu$ L de amortiguador de rehidratación (Urea 8 M, CHAPS 2 %, IPG buffer 0.5 % (pH 3-10), ditiotretitol 20 mM), se sonicaron con un ciclo de 1 s a una amplitud de 20 %, y se centrifugaron a 13,000 rpm por 10 min a temperatura ambiente (22 °C). Después se tomaron 100  $\mu$ L de los sobrenadantes y se agregó 1 mL de acetato de amonio 100 mM para una segunda precipitación, seguida de 3 lavados con acetona y secado al vacío como se describió anteriormente. Las pastillas de proteínas resultantes se resuspendieron en 200  $\mu$ L de amortiguador de rehidratación y se determinó la concentración de proteína mediante el método de Bradford, empleando una curva de albúmina sérica bovina en un rango de 0-1.0 mg/mL. Por otro lado, la concentración de proteína de los productos de digestión de las pastas sometidas a simulación de digestión gastrointestinal fue determinada por el método de BCA (ácido bicinconínico) utilizando una curva de albúmina sérica bovina en un rango de 0-2.0 mg/mL.

5.5.3.2. Electroforesis SDS-PAGE (por sus siglas en inglés, sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis). Las proteínas se separaron mediante SDS-PAGE bajo condiciones desnaturalizantes y reductoras en un gel de poliacrilamida al 13 % (Laemmli, 1970). Las proteínas extraídas de las materias primas (harina de grillo y mezcla harina de trigo: sémola), así como de las pastas (PC, PT y P-20) fueron corridas en un sistema Hoeffer SE600 (GE-Healthcare, Little Chalfont, Reino Unido) cargando 40  $\mu$ g de proteína por pozo, mientras las proteínas de los productos de digestión de las pastas sometidas a simulación de digestión gastrointestinal fueron corridas en un sistema Mini-PROTEAN (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA) cargando 25  $\mu$ g de proteína por pozo. Como referencia se utilizó un marcador de peso molecular preteñido (Precision Plus Protein Standards Dual Color, Bio-Rad). Los geles se corrieron a una corriente de 20 mA por gel durante los primeros 15 min, y luego a 40 mA hasta que el frente de corrimiento alcanzó el final de los geles. Los geles se desmontaron de la cámara de electroforesis, se fijaron con solución fijadora (60 % H<sub>2</sub>O bidestilada, 30 % metanol, 10 % ácido acético) durante 15 min, se tiñeron con azul de Coomassie coloidal durante una noche (Candiano *et al.*, 2004) y se fotodocumentaron en scanner Typhoon FLA 9500 (GE-Healthcare, Uppsala, Suecia).

#### 5.5.4. Digestibilidad de Proteína

El porcentaje de digestibilidad de proteína de las pastas fue determinada después de someterlas a una simulación de la digestión gastrointestinal, para ello se cuantificó la proteína en los sobrenadantes de la fase intestinal siguiendo la metodología de Xie y colaboradores (2022). La proteína en las muestras se determinó utilizando el kit BCA Protein Assay Kit (Pierce, Rockford, IL, EUA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La digestibilidad de la proteína se calculó mediante la ecuación 3.

$$Digestibilidad (\%) = \frac{W_0 - W_1}{W_0} \times 100 \quad (3)$$

Donde  $W_0$  es el contenido de proteína en las muestras antes de la digestión (análisis proximal) y  $W_1$  es el contenido de proteína sin digerir (cuantificada por el método de BCA).

#### 5.5.5. Evaluación de Capacidad Antioxidante

5.5.5.1. Determinación de la capacidad antioxidante por el método de ORAC (por sus siglas en inglés, Oxygen Radical Absorbance Capacity). La capacidad antioxidante de las materias primas, pastas y sus productos de digestión se determinó por el método ORAC siguiendo la metodología descrita por Prior y colaboradores (2003). El método se basa en el retraso, en presencia de compuestos antioxidantes, de la disminución de la fluorescencia de la fluoresceína debido a la acción del agente oxidante 2,2'-azo-bis(2-amidino-propano) dihidrocloruro (AAPH). Los resultados se expresaron en mg de equivalentes Trolox por g de peso seco (mg ET/g PS) con base en una curva de calibración de Trolox (0.0016- 0.0499 mg/mL).

5.5.5.2. Determinación de la capacidad antioxidante por el método de TEAC (por sus siglas en inglés, Trolox Equivalent Antioxidant Capacity). La capacidad antioxidante de las materias primas, pastas y sus productos de digestión se determinó por el método de TEAC, de acuerdo con Re y colaboradores (1999). El método se basa en los valores de absorbancia obtenidos por la neutralización del radical ABTS<sup>•</sup> (ácido 2-2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) al reaccionar con compuestos antioxidantes. Los resultados se expresaron en mg ET/g PS, con base en una curva de calibración de Trolox (0-0.08 mg/mL).

5.5.5.3. Determinación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH (por sus siglas en inglés, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). La capacidad antioxidante de las materias primas, pastas y sus productos de digestión se midió siguiendo la metodología de Brand-Williams y colaboradores (1995). El método se basa en la capacidad que tienen las muestras para inactivar el radical DPPH<sup>•</sup> (cromóforo púrpura) y reducirlo a hidrazina (DPPH-H, color amarillo). Los resultados se expresaron en mg ET/g PS, con base en una curva de calibración de Trolox 0-0.08 mg/mL).

### **5.5.6. Prueba de Inhibición de Enzimas Digestivas de Carbohidratos**

5.5.6.1. Inhibición de  $\alpha$ -amilasa. La evaluación de la actividad inhibitoria de  $\alpha$ -amilasa de los productos de digestión de las pastas se realizó siguiendo la metodología descrita por Hall y colaboradores (2020), con algunas modificaciones. Para el ensayo se utilizó el inhibidor acarbosa como control positivo y almidón como sustrato. Las muestras fueron disueltas en buffer de fosfato de sodio (0.02 M, pH 6.9). Posteriormente, 100  $\mu$ L de cada muestra y 100  $\mu$ L de una solución de  $\alpha$ -amilasa (50 U/mL) fueron adicionadas en tubo de ensaye e incubadas por 10 min a 25 °C. Después del tiempo de incubación, 100  $\mu$ L de una solución de almidón (1 g/100 mL disuelto en amortiguador de fosfato de sodio 0.02 M, pH 6.9) fueron adicionados a las mezclas e incubados por otros 10 min a 25 °C. La reacción se terminó adicionando 200  $\mu$ L de ácido dinitrosalicílico 1 %, seguido de una incubación a 100 °C por 5 min. La reacción fue diluida con agua bidestilada (3 mL), y la actividad enzimática se cuantificó midiendo los equivalentes de glucosa liberados del

almidón a 540 nm. Los resultados fueron presentados como el valor  $IC_{50}$  (concentración inhibitoria  $\mu\text{g/mL}$ ).

5.5.6.2. Inhibición de  $\alpha$ -glucosidasa. La evaluación de la actividad inhibitoria de  $\alpha$ -glucosidasa de los productos de digestión de las pastas se realizó siguiendo la metodología descrita por Zielińska y colaboradores (2020). Para el ensayo, el sustrato *p*-nitrofenil glucopiranosido (*p*NPG) (35 mM) fue preparado en buffer de fosfato de sodio (0.02 M, pH 6.9). 10  $\mu\text{L}$  de solución de  $\alpha$ -glucosidasa (1 U/mL), 10  $\mu\text{L}$  de muestra, 20  $\mu\text{L}$  de sustrato *p*NPG (35 mM) y 500  $\mu\text{L}$  de buffer de fosfato (0.02 M, pH 6.9) fueron mezclados e incubados a 37 °C por 20 min. Después del tiempo de incubación, 2 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0.1 M fueron adicionados a la mezcla para terminar la reacción. Posteriormente, la absorbancia de las mezclas fue medida a 405 nm, y los resultados se presentaron como el valor  $IC_{50}$  (concentración inhibitoria  $\mu\text{g/mL}$ ).

## 5.6. Diseño Experimental y Análisis de Datos

El diseño experimental para todos los experimentos fue un diseño completo al azar de una vía. Los datos fueron analizados utilizando un análisis de varianza (ANOVA) ( $p < 0.05$ ) y las diferencias entre medias se analizaron mediante una prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ). Los resultados fueron reportados como la media  $\pm$  desviación estándar de las repeticiones especificadas en cada determinación. Para el análisis de datos se utilizó el paquete estadístico NCSS 2022 (NCSS LLC, Kaysville, UT, EUA).

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1. Caracterización Fisicoquímica

#### 6.1.1. Propiedades Tecnofuncionales

Las propiedades tecnofuncionales de ingredientes ricos en proteína, como la capacidad de absorción de agua y aceite, son algunos atributos importantes que hay que considerar durante la formulación de alimentos. Comúnmente las harinas de insectos son incorporadas como ingredientes a matrices alimentarias, sin embargo, la información acerca del papel que juegan en las formulaciones aún es escasa. Además, comprender las propiedades tecnofuncionales de las harinas de insectos es importante para promover su incorporación en una amplia variedad de productos alimentarios (Villaseñor *et al.*, 2021). En este sentido, se determinó la capacidad de absorción de agua y aceite, capacidad de hinchamiento y solubilidad de las materias primas (harinas de trigo, sémola y grillo), así como de sus mezclas para la elaboración de pastas, con el fin de conocer el comportamiento de estos materiales durante la formulación y su elaboración. Asimismo, se determinaron estas propiedades en los productos finales (pastas secas) para conocer su desempeño.

El **Cuadro 5** muestra los resultados de la determinación de las propiedades tecnofuncionales de las harinas de trigo, sémola y grillo, sus mezclas y de las pastas secas. Entre las materias primas, la harina de grillo presentó la mayor capacidad de absorción de agua, solubilidad y absorción de aceite ( $p < 0.05$ ), mientras que la harina de trigo mostró los menores valores ( $p < 0.05$ ). Un comportamiento inverso se observó en la capacidad de hinchamiento, en donde la harina de grillo presentó la menor capacidad ( $p < 0.05$ ). Las propiedades tecnofuncionales de los alimentos están influenciadas por sus componentes, como las proteínas y carbohidratos (Chinaza *et al.*, 2019), de forma general, estas propiedades se pueden clasificar en tres categorías: interacciones proteína-agua, proteína-grasa y proteína-proteína, y son éstas las que determinan las principales propiedades de las harinas.

**Cuadro 5.** Determinación de la capacidad de absorción de agua (CAA), capacidad de hinchamiento (CH), solubilidad y capacidad de absorción de aceite (CAO) de harinas de trigo, sémola, grillo, sus mezclas y pastas secas con 20, 25 y 30 % de harina de grillo.

Muestra	CAA (%)	CH (g agua/g muestra)	Solubilidad (%)	CAO (%)
<b>Harinas</b>				
Harina de trigo	181.08 ± 3.26 <sup>a</sup>	7.88 ± 0.10 <sup>b</sup>	6.91 ± 0.64 <sup>a</sup>	199.67 ± 7.13 <sup>a</sup>
Sémola de trigo	205.84 ± 4.47 <sup>b</sup>	8.15 ± 0.19 <sup>c</sup>	8.88 ± 0.61 <sup>b</sup>	198.80 ± 1.60 <sup>a</sup>
Harina de grillo	279.15 ± 2.62 <sup>c</sup>	3.26 ± 0.09 <sup>a</sup>	11.74 ± 0.74 <sup>c</sup>	230.61 ± 2.85 <sup>b</sup>
<b>Mezclas de harinas</b>				
MC	204.55 ± 5.73 <sup>a</sup>	7.74 ± 0.23 <sup>c</sup>	8.30 ± 0.48 <sup>a</sup>	202.89 ± 1.13 <sup>a</sup>
M-20	200.41 ± 4.33 <sup>a</sup>	6.77 ± 0.08 <sup>ab</sup>	8.29 ± 0.39 <sup>a</sup>	205.90 ± 1.23 <sup>a</sup>
M-25	213.96 ± 4.92 <sup>b</sup>	6.80 ± 0.42 <sup>b</sup>	8.15 ± 0.5 <sup>a</sup>	205.35 ± 0.69 <sup>a</sup>
M-30	210.72 ± 3.78 <sup>b</sup>	6.42 ± 0.31 <sup>a</sup>	8.24 ± 0.30 <sup>a</sup>	207.09 ± 5.10 <sup>a</sup>
<b>Pastas secas</b>				
PC	193.44 ± 4.64 <sup>a</sup>	6.98 ± 0.33 <sup>c</sup>	6.58 ± 1.11 <sup>a</sup>	191.90 ± 6.47 <sup>a</sup>
P-20	183.03 ± 13.49 <sup>a</sup>	5.97 ± 0.21 <sup>b</sup>	5.88 ± 0.72 <sup>a</sup>	203.97 ± 2.34 <sup>b</sup>
P-25	184.76 ± 15.61 <sup>a</sup>	5.75 ± 0.28 <sup>b</sup>	5.84 ± 0.39 <sup>a</sup>	208.59 ± 5.24 <sup>b</sup>
P-30	190.44 ± 7.85 <sup>a</sup>	5.39 ± 0.13 <sup>a</sup>	5.95 ± 0.29 <sup>a</sup>	209.22 ± 9.93 <sup>b</sup>

Media ± desviación estándar (n=9). MC: mezcla control, sin sustituir con harina de grillo; M-20, M-25 y M-30: mezclas de harinas sustituidas con 20, 25 y 30 % de harina de grillo, respectivamente; PC: pasta control, sin sustituir con harina de grillo; P-20, P-25 y P-30: pastas sustituidas con 20, 25 y 30 % de harina de grillo, respectivamente. Literales distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre muestras.

Dentro de las interacciones proteína-agua se involucran propiedades como solubilidad, capacidad de absorción de agua e hinchamiento. La capacidad de absorción de agua es la cantidad de agua que una matriz puede retener o absorber en respuesta a una fuerza externa. Ésta puede darse por enlaces químicos, por acción capilar o atrapamiento físico del agua entre la estructura de la matriz (Smith, 2001). Una alta capacidad de absorción de agua puede atribuirse a un alto contenido de componentes hidrofílicos, como proteínas con residuos polares y carbohidratos (Chinaza *et al.*, 2019). Los diferentes tipos de fibras, en conjunto con las proteínas presentes en las harinas obtenidas a partir de diferentes fuentes, determinan en gran medida las propiedades funcionales.

Se ha reportado que la harina de grillo *A. domesticus* tiene un alto contenido de proteína, alcanzando hasta un 72 % en base seca, y que sus proteínas más abundantes son las de tipo

miofibrilares, como miosina, actina,  $\alpha$ -actinina, tropomiosina, tubulina y troponina T, las cuales son las responsables de la unión de agua, encapsulamiento de grasa y formación de geles (Brogan *et al.*, 2021; Montowska *et al.*, 2019; Lonergan *et al.*, 2019; Smith, 2001). Además, ha sido reportado que entre los principales aminoácidos en la harina de grillo es el ácido glutámico, un aminoácido hidrofílico (Magara *et al.*, 2021). Por otro lado, la cantidad de proteína reportada en harina de trigo es considerablemente menor que en la de grillo, con valores cerca del 13 % en base seca (Alviola & Monterde, 2018). Por lo tanto, la diferencia entre la capacidad de absorción de agua entre las harinas de grillo y trigo podría atribuirse a la gran diferencia en su contenido de proteína. Los valores de capacidad de absorción de agua de la harina de trigo (181.08 %) y grillo (279.15 %) fueron similares a lo reportado previamente en estos productos (131 y 260 %, respectivamente), aunque variaciones en los resultados podrían atribuirse a diferencias en las metodologías utilizadas (Alviola & Monterde, 2018; Kim *et al.*, 2017).

Por otra parte, la solubilidad es la propiedad que tiene una sustancia a disolverse en un solvente, lo cual depende de la hidratación, el grado de hidrofobicidad de sus proteínas (distribución de aminoácidos hidrofílicos e hidrofóbicos), así como de otras características del solvente y el soluto (Chinaza *et al.*, 2019; Zielińska *et al.*, 2018). Esta propiedad está fuertemente relacionada con la capacidad de absorción de agua, ya que a mayor capacidad de absorción de agua, mayor es la solubilidad (Herrera, 2015). Esto se comprobó al observar que la harina de grillo, que había presentado la mayor absorción de agua fue la misma que presentó la mayor solubilidad, y que la harina de trigo con la menor absorción de agua presentó la menor solubilidad (**Cuadro 5**), lo cual se podría atribuir de nuevo al contenido de proteína en estos materiales. El valor de solubilidad de la harina de trigo (6.91 %) fue menor a la reportada previamente (10 %), la diferencia podría deberse a variaciones en las metodologías (Alviola & Monterde, 2018). Por otro lado, la solubilidad de las proteínas depende fuertemente del pH. Se ha observado que los valores de esta propiedad aumentan cuanto más alejado se encuentra el pH del medio del punto isoeléctrico de las proteínas, por ejemplo, se ha reportado que a pH mayor a 11 la solubilidad de proteínas de otras especies de insectos (*T. molitor*, *S. gregaria* y *G. sigillatus*) incrementan a más del 90 % (Zielińska *et al.*, 2018). Esto es debido a que las cadenas laterales de los aminoácidos adquieren una carga neta negativa y, por la naturaleza dipolar del agua, se contribuye a la interacción con los grupos polares de las proteínas (Lonergan *et al.*, 2019). Con base en esto, se podría atribuir una baja solubilidad

de la harina de grillo (11.74 %) al pH del medio en que se determinó, el cual pudo haber presentado un pH cerca al punto isoeléctrico de sus proteínas.

La capacidad de hinchamiento es la medida de la capacidad de un material para absorber agua e hincharse bajo condiciones específicas (calentamiento). En el caso de las harinas de trigo, la capacidad de hinchamiento está determinada por el almidón (Chinaza *et al.*, 2019). La capacidad de hinchamiento de las harinas de trigo (7.88 y 8.15 g/g) fue menor a lo reportado previamente (11 g/g), lo cual podría atribuirse a diferencias en el contenido de amilosa en las harinas (Alviola & Monterde, 2018). En el caso de la harina de grillo, la capacidad de hinchamiento depende de sus proteínas (miofibrilares). Se observó que la capacidad de la harina de grillo (3.26 g/g) fue significativamente menor ( $p < 0.05$ ), que la de trigo (**Cuadro 5**). Cuando las proteínas miofibrilares son calentadas pueden formar geles por interacciones proteína-proteína. En este proceso, las proteínas se desdoblán y se agregan para formar una red entrecruzada continua (gel), la cual tiene influencia sobre las propiedades de textura y sensoriales, así como de rendimiento de cocinado de los alimentos. Los geles proteicos se obtienen cuando se alcanza una temperatura crítica, en la cual las proteínas se desnaturalizan y se aglomeran formando una solución viscosa. Estos geles se forman por una combinación de puentes de hidrógeno, interacciones electrostáticas, interacciones hidrofóbicas y puentes disulfuro, reteniendo una alta cantidad de agua dentro de la red. Sin embargo, una temperatura mayor a la de gelificación de proteínas miofibrilares (mayor a 70 °C), lleva a la sinéresis o pérdida de agua del producto (Smith, 2001). Es debido a esto que la harina de grillo presentó una menor capacidad de hinchamiento, ya que la muestra fue sometida a una mayor temperatura de calentamiento (85 °C), provocando que la matriz no pudiera retener agua. No obstante, la capacidad de hinchamiento de la harina de grillo fue similar a lo reportado previamente (3.9 g/g) (Lucas-González *et al.*, 2019).

Por su parte, la capacidad de absorción de aceite de proteínas se relaciona parcialmente con su hidrofobicidad intrínseca y la presencia de interacciones proteína-lípido (Day *et al.*, 2022). Es la unión de las cadenas hidrocarbonadas del aceite o grasa con las cadenas laterales no polares de las proteínas (Chinaza *et al.*, 2019). Al igual que en el caso de la capacidad de absorción de agua, la harina de grillo presentó una mayor capacidad de absorción de aceite (**Cuadro 5**), lo que se podría atribuir a un mayor contenido de proteína. Además, proteínas que contienen una mayor proporción

de aminoácidos hidrofóbicos (leucina, isoleucina, valina y fenilalanina), pueden interactuar con lípidos no polares mediante fuerzas de van der Waals (Day *et al.*, 2022). Esto concuerda con lo reportado en cuanto al perfil de aminoácidos en la harina de grillo, ya que se han encontrado altos niveles de aminoácidos hidrofóbicos en ella (Brogan *et al.*, 2021). La capacidad de absorción de la harina de grillo *A. domesticus* (230.61 %) fue superior a lo reportado previamente en la misma especie (175 %) (Kim *et al.*, 2017), aunque menor a la de otras especies (*G. sigillatus* 282 %) (Zielińska *et al.*, 2018). Estas variaciones podrían deberse a los diferentes contenidos de proteína y/o a los diferentes procedimientos de preparación de las harinas (Zielińska *et al.*, 2018). En el caso de la harina de trigo, la capacidad de absorción de aceite (199.67 %) fue mayor a lo reportado previamente (146 %) (Chandra & Samsheer, 2013), diferencias que se podrían deber a los factores antes mencionados.

Una vez que se mezclaron las materias primas para la formulación de las pastas, M-25 y M-30 (mezclas sustituidas con 25 y 30 % de harina de grillo) presentaron la mayor capacidad de absorción de agua ( $p < 0.05$ ), seguidas de MC (mezcla control, sin harina de grillo) y M-20 (mezcla sustituida con 20 % de harina de grillo), sin diferencias entre ellas ( $p > 0.05$ ), indicando que sustituir con concentraciones mayores al 25 % de harina de grillo incrementa la capacidad de absorción de agua de la formulación ( $p < 0.05$ ) (**Cuadro 5**). Por otro lado, se observó que, independientemente de la concentración de sustitución con harina de grillo en las formulaciones, la capacidad de absorción de aceite y/o solubilidad de las formulaciones no fue afectada. Sin embargo, en la capacidad de hinchamiento, la MC mostró la mayor capacidad ( $p < 0.05$ ) entre todas las formulaciones, indicando que la presencia de harina de grillo en las mezclas reduce los valores de esta propiedad (**Cuadro 5**). En este sentido, se ha reportado que la presencia de azúcares, grasas y proteína reducen la capacidad de hinchamiento de la matriz debido a que estos causan el recubrimiento de gránulos de almidón, previniendo la absorción de agua (Chinaza *et al.*, 2019). Se ha observado también que la amilosa y los lípidos forman complejos insolubles, lo que disminuye su hinchamiento; de manera similar, las proteínas disminuyen la capacidad de hinchamiento mediante la formación de matrices duras cuando son embebidas en los gránulos de almidón, lo que limita el acceso de agua, por lo que es comúnmente reportado que la capacidad de hinchamiento es inversamente proporcional al contenido de proteína y grasa (Alviola & Monterde, 2018). Con base en esto, se podría inferir que la capacidad de la formulación para hincharse se vio reducida al

sustituir con la harina de grillo, debido a su alto contenido de proteína y grasa.

Después del proceso de amasado, extrudido y secado, las pastas obtenidas (pastas secas) también fueron sometidas a las determinaciones de estas propiedades tecnofuncionales. Aunque en las mezclas de harinas se observó un incremento en la capacidad de absorción de agua con la sustitución con harina de grillo, en las pastas secas no se observó este comportamiento. PC, P-20, P-25 y P-30 presentaron la misma capacidad para absorber agua ( $p>0.05$ ), al igual que en la solubilidad (**Cuadro 5**), un comportamiento similar a lo reportado por Çabuk & Yılmaz (2020) en pastas sustituidas con distintas especies de insectos. No obstante, las pastas sustituidas con harina de grillo presentaron mayor capacidad de absorción de aceite ( $p<0.05$ ), con respecto a la pasta control. Esto demostró que la presencia de harina de grillo en las pastas aumenta su capacidad de absorber aceite, lo cual podría atribuirse a que la harina de grillo presenta una mayor proporción de aminoácidos no polares que la harina de trigo. En cuanto a capacidad de hinchamiento de las pastas, éstas siguieron un comportamiento similar al de las mezclas. PC mostró la mayor capacidad de hinchamiento ( $p<0.05$ ), mientras que la sustitución con harina de grillo en las pastas disminuyó esta propiedad ( $p<0.05$ ), lo cual puede explicarse por la presencia de un mayor contenido de proteína y grasa en la matriz impidiendo la absorción e hinchamiento, como se mencionó anteriormente.

### **6.1.2. Tamaño de Partícula y Carga Superficial (Potencial Zeta)**

La pasta es un alimento que ha ido evolucionando a lo largo del tiempo para satisfacer los requerimientos de los consumidores, lo cual ha llevado al desarrollo de diversas formulaciones para mejorar su perfil nutricional. Sin embargo, cualquier cambio en una simple variable, como la materia prima, puede afectar todo el proceso y la calidad del producto final, por lo que es importante separar y comprender cada factor (ingredientes) para adaptar el proceso y obtener un producto de buena calidad (Bresciani *et al.*, 2022). En este sentido, uno de los factores más importantes que afectan la calidad de la pasta es el tamaño de partícula de la materia prima. El tamaño de partícula de las harinas es un factor que tiene influencia sobre algunas propiedades tecnofuncionales de la

masa y en consecuencia, sobre la calidad el producto final, además de tener un efecto sobre la digestibilidad y respuesta glicémica de los alimentos (Jalgaonkar & Jha, 2016; Zafar *et al.*, 2020). El **Cuadro 6** muestra los resultados de la medición del tamaño de partícula de las materias primas, sus mezclas y de los productos finales.

La harina de trigo y sémola presentaron tamaños de partícula mayores (565.72 y 690.25 nm, respectivamente) que la harina de grillo (183.17 nm) ( $p < 0.05$ ), con índices de polidispersión  $< 0.5$ , mostrando muestras monodispersas (distribución de tamaño de partícula homogénea). La influencia que tiene el tamaño de partícula sobre algunas propiedades tecnofuncionales de las harinas, además de la composición de éstas, se debe a su hidratación, ya que partículas pequeñas absorben agua más rápido que partículas grandes (Jalgaonkar & Jha, 2016). Esto se comprobó al observar que la harina de grillo con el menor tamaño de partícula presentó la mayor capacidad de absorción de agua, así como de solubilidad y absorción de aceite, mientras las harinas de trigo con mayor tamaño de partícula presentaron valores menores de estas propiedades (**Cuadro 5**). En contraste, la capacidad de hinchamiento de las harinas es mejor a tamaños de partícula más grandes debido a la presencia de una mayor área de superficie por donde el agua puede penetrar durante el calentamiento (Zafar *et al.*, 2020). Esta relación también pudo observarse en el presente estudio, pues las harinas de trigo con mayor tamaño de partícula presentaron mayor capacidad de hinchamiento que la harina de grillo, la cual presentó el menor tamaño de partícula (**Cuadro 6**).

Las mezclas de harinas sustituidas con grillo (M-20, M-25 y M-30) presentaron un menor tamaño de partícula ( $p < 0.05$ ) que la mezcla control (MC), con índices de polidispersión  $< 0.7$  y mostrando mezclas con una distribución de tamaño de partícula homogénea (**Cuadro 6**). Estos resultados también se pudieron relacionar con la capacidad de hinchamiento de las muestras, ya que la MC al presentar un mayor tamaño de partícula, presentó la mayor capacidad para hincharse, lo cual puede atribuirse a los discutido anteriormente. En cuanto a los productos finales, PC, P-20 y P-30 no presentaron diferencias en su tamaño de partícula ( $p > 0.05$ ), mientras P-25 mostró mayor tamaño de partícula que las tres pastas anteriores ( $p < 0.05$ ). A pesar de estos resultados, no se encontró una relación entre el tamaño de partícula y las propiedades tecnofuncionales de las pastas, las cuales podrían depender en mayor medida a su composición y otras características de las pastas.

**Cuadro 6.** Tamaño de partícula y carga superficial de harina de trigo, grillo y sémola, sus mezclas y de pastas sustituidas parcialmente con distintas concentraciones de harina de grillo.

Muestra	Tamaño de partícula (d, nm)	Índice de polidispersión	Potencial zeta (mV)
<b>Harinas</b>			
Harina de trigo	565.72 ± 59.96 <sup>b</sup>	0.41 ± 0.25 <sup>a</sup>	-11.84 ± 1.92 <sup>c</sup>
Sémola de trigo	690.28 ± 59.97 <sup>c</sup>	0.37 ± 0.23 <sup>a</sup>	-14.37 ± 1.87 <sup>b</sup>
Harina de grillo	183.17 ± 4.68 <sup>a</sup>	0.15 ± 0.02 <sup>a</sup>	-30.43 ± 0.81 <sup>a</sup>
<b>Mezclas de harinas</b>			
MC	930.53 ± 87.00 <sup>b</sup>	0.67 ± 0.18 <sup>b</sup>	-13.43 ± 2.81 <sup>b</sup>
M-20	494.20 ± 10.92 <sup>a</sup>	0.17 ± 0.09 <sup>a</sup>	-16.75 ± 1.77 <sup>b</sup>
M-25	455.12 ± 21.16 <sup>a</sup>	0.27 ± 0.15 <sup>a</sup>	-16.52 ± 1.07 <sup>b</sup>
M-30	458.32 ± 12.32 <sup>a</sup>	0.08 ± 0.06 <sup>a</sup>	-23.42 ± 2.61 <sup>a</sup>
<b>Pastas secas</b>			
PC	488.52 ± 22.38 <sup>a</sup>	0.15 ± 0.09 <sup>ab</sup>	-24.9 ± 2.94 <sup>bc</sup>
P-20	461.28 ± 17.52 <sup>a</sup>	0.08 ± 0.08 <sup>a</sup>	-22.68 ± 2.95 <sup>c</sup>
P-25	692.08 ± 49.03 <sup>b</sup>	0.35 ± 0.26 <sup>b</sup>	-27.92 ± 1.97 <sup>ab</sup>
P-30	542.93 ± 26.75 <sup>a</sup>	0.13 ± 0.09 <sup>ab</sup>	-30.30 ± 0.79 <sup>a</sup>

Media ± desviación estándar (n=6). MC: mezcla control, sin sustituir con harina de grillo; M-20, M-25 y M-30: mezclas de harinas sustituidas con 20, 25 y 30 % de harina de grillo, respectivamente; PC: pasta control, sin sustituir con harina de grillo; P-20, P-25 y P-30: pastas sustituidas con 20, 25 y 30 % de harina de grillo, respectivamente. Literales distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre muestras.

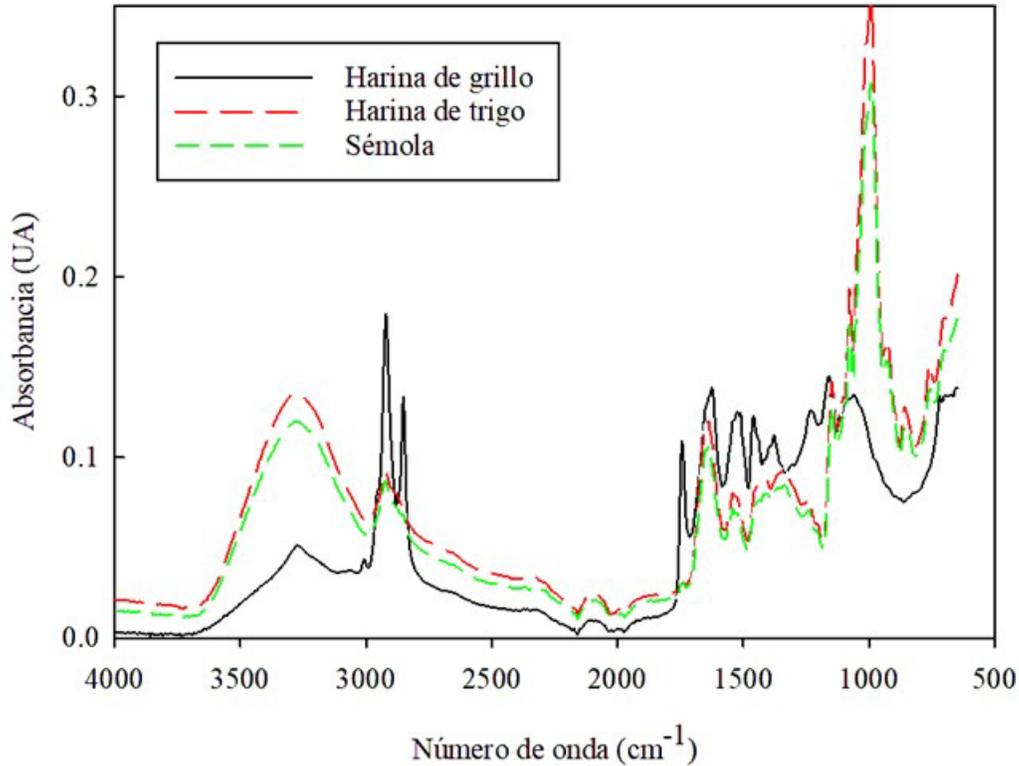
Por su parte, el potencial zeta se relaciona con la carga superficial de las proteínas de forma que a mayores valores absolutos, mayores son las repulsiones electrostáticas entre las partículas de las proteínas, y menores son las interacciones entre ellas (Chen *et al.*, 2018). Como se puede observar en el **Cuadro 6**, se obtuvo una carga superficial negativa en las materias primas (harina de trigo, sémola y harina de grillo) bajo condiciones acuosas, donde la harina de grillo mostró el valor más alto ( $p < 0.05$ ), seguido de la sémola y de la harina de trigo, indicando mayores repulsiones electrostáticas en la harina de grillo que en las de trigo. Esta característica de las materias primas se puede relacionar de nueva cuenta con algunas de sus propiedades tecnofuncionales, más allá de su composición, ya que tanto la capacidad de absorción de agua como la de aceite y la solubilidad dependen de la carga superficial (polaridad o hidrofobicidad) de las harinas (Chinaza *et al.*, 2019). Por ejemplo, partículas con una mayor carga superficial tienden a retener más agua, esto debido a

que las moléculas de agua (dipolares) pueden interactuar en mayor medida con los grupos polares de las proteínas.

Respecto a las mezclas para la obtención de las pastas, la sustitución con 30 % de harina de grillo (M-30) provocó un aumento ( $p<0.05$ ) en la carga negativa de la mezcla, mientras la sustitución con 20 y 25 % de harina de grillo (M-20 y M-25) no mostró diferencias en la carga superficial con respecto a la mezcla sin sustituir con grillo (MC) ( $p>0.05$ ), por lo que no se pudo apreciar una relación entre esta característica y las propiedades tecnofuncionales de las mezclas. Posterior al procesamiento de las mezclas para la obtención de las pastas secas, se observaron cambios en la carga superficial de las muestras (**Cuadro 6**). La pasta P-30 presentó la mayor carga negativa ( $p<0.05$ ), seguida de P-25, y PC y P-20 (sin diferencias significativas entre estas dos). No se encontró una relación entre la carga superficial de las pastas y sus propiedades tecnofuncionales, por lo que las fuerzas electrostáticas de atracción y repulsión, podrían no ser un factor importante para explicar el comportamiento durante y posterior al procesamiento de las muestras.

### 6.1.3. Análisis de Espectrometría FTIR-ATR

La espectroscopía infrarroja es una técnica que permite la obtención de información acerca de la composición química de muestras complejas, como matrices alimentarias, correlacionando diferentes bandas con grupos funcionales específicos. Es una técnica ideal para la caracterización, identificación, confirmación y análisis cuantitativo de los componentes de un alimento (Indrayanto & Rohman, 2020). En este sentido, es de importancia analizar todos los ingredientes que conforman las matrices alimentarias por separado para poder elucidar el posible origen de las bandas asociados con ciertos componentes (García-Gutiérrez *et al.*, 2021). La **Figura 3** muestra el espectro de FTIR-ATR de las materias primas para la preparación de las pastas (harina de trigo, sémola y harina de grillo).

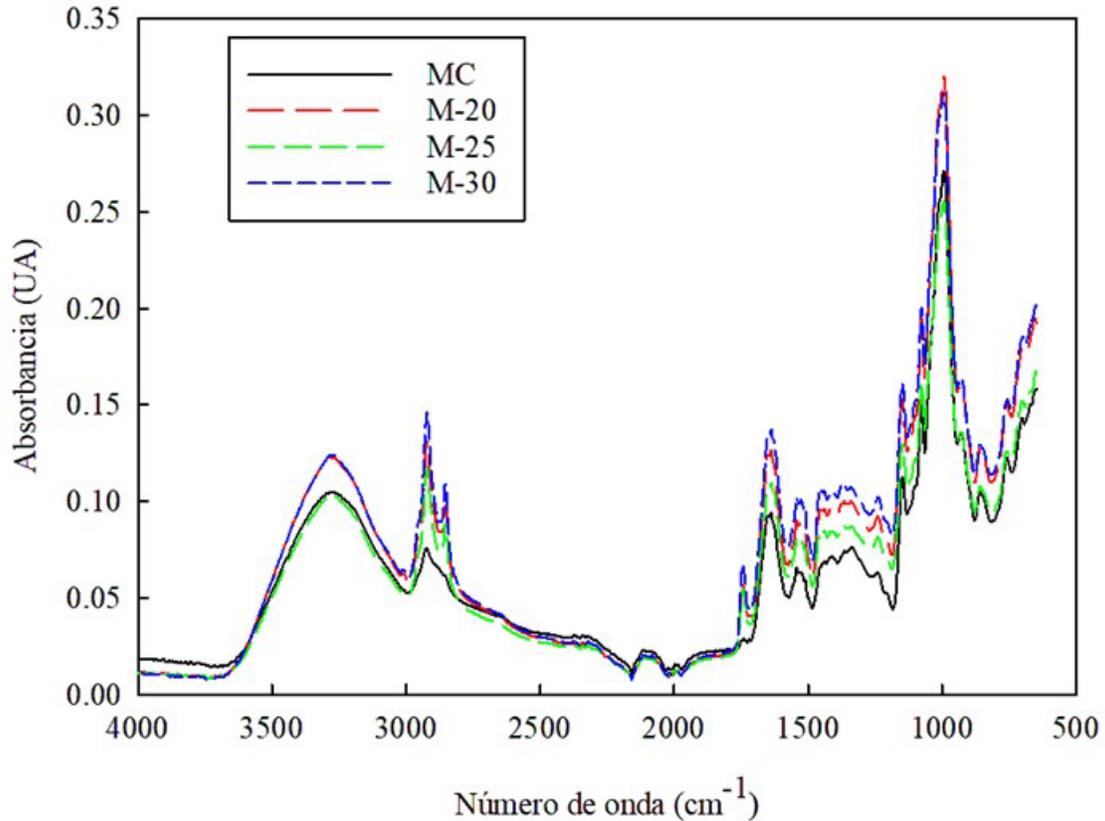


**Figura 4.** Espectro FTIR-ATR de harina de grillo, trigo y sémola.

Comparando los espectros de los ingredientes o materias primas, se pueden observar que las tres harinas mostraron bandas entre los 3600 y 3000  $\text{cm}^{-1}$ , más pronunciada en las harinas de trigo y sémola que en la de grillo, las cuales se originan del estiramiento de uniones O-H, que probablemente provienen de la presencia de agua, carbohidratos y fibra (García-Gutiérrez *et al.*, 2021). Asimismo, los espectros mostraron dos bandas alrededor de los 2990 y 2800  $\text{cm}^{-1}$ , correspondientes a vibraciones de estiramientos de enlaces C-H de grupos metilo, probablemente causados por la presencia de lípidos, o en el caso de la harina de grillo, a lípidos y quitina (García-Gutiérrez *et al.*, 2021; Son *et al.*, 2021). A diferencia de las harinas de trigo, en el espectro de la harina de grillo se observó una banda alrededor de los 1740  $\text{cm}^{-1}$  asociada con estiramiento de enlaces C=O de grupos éster, relacionados con la presencia de lípidos (García-Gutiérrez *et al.*, 2021). Bandas entre los 1700 y 1600  $\text{cm}^{-1}$  se relacionaron con la presencia de amidas primarias en términos de estiramiento de enlaces C=O, mientras bandas entre los 1550 y 1460  $\text{cm}^{-1}$  se asociaron a doblamientos de enlaces N-H, de 1450 a 1400  $\text{cm}^{-1}$  a vibraciones de doblamientos C-H, y alrededor de los 1320  $\text{cm}^{-1}$  con estiramientos de enlaces C-N de amida II, todas relacionadas con

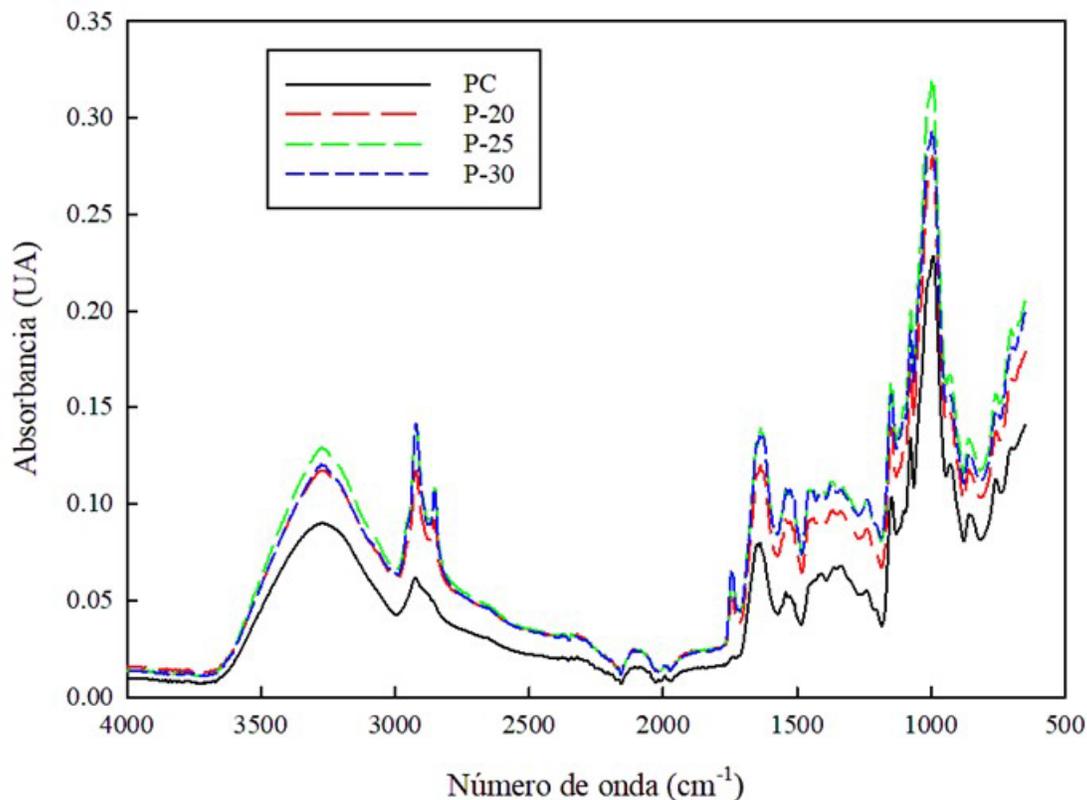
la presencia de proteínas (Chen *et al.*, 2018; Son *et al.*, 2021). Por último, en los espectros de las harinas se observaron bandas alrededor de los 1100 y 900  $\text{cm}^{-1}$  asociadas a estiramientos de enlaces C-O-C, C-C y C-O (-COH), así como el doblamiento de enlaces C-C-H correspondientes a la presencia de carbohidratos como el almidón (Foschi *et al.*, 2022). Debido a que la harina de grillo es un material abundante en proteína, lípidos y quitina, las bandas características de los grupos funcionales que conforman a estas moléculas fueron las que presentaron valores más altos en el rango del espectro, en comparación con la sémola y harina de trigo. Estas bandas se apreciaron fácilmente entre los 2990-2800  $\text{cm}^{-1}$  y entre los 1700-1320  $\text{cm}^{-1}$ . Por otro lado, la harina y sémola de trigo son materiales ricos en carbohidratos, por lo que se apreciaron bandas más pronunciadas en las regiones características de las vibraciones de los grupos funcionales correspondientes a estas moléculas las cuales se observaron entre los 3600-3000  $\text{cm}^{-1}$  y los 1100-900  $\text{cm}^{-1}$ .

La **Figura 4** muestra el espectro FTIR-ATR de las mezclas de harinas para la elaboración de las pastas. Al comparar el espectro obtenido de MC (mezcla control de sémola y harina de trigo, sin sustituir con harina de grillo) se presentaron las bandas características de la sémola y harina de trigo, aunque con una reducción en intensidad, con respecto a los espectros individuales de estas harinas. Posteriormente, al sustituir con 20, 25 y 30 % de harina de grillo en la mezcla (M-20, M-25 y M-30, respectivamente), en los espectros obtenidos se observaron los picos característicos tanto de la sémola y harina de trigo, como las presentes en la harina de grillo. Además, se observó que en los espectros de estas mezclas se intensificaron los picos correspondientes a las proteínas, lípidos y quitina, lo esperado ante la sustitución con harina de grillo en las mezclas. Algo similar fue reportado previamente por García-Gutiérrez y colaboradores (2021) en mezclas de harinas de semillas sustituidas con diferentes especies de insectos, así como Foschi y colaboradores (2022) en la autenticación de harinas de insectos.



**Figura 4.** Espectro FTIR-ATR de mezclas de harinas para la elaboración de pasta de trigo sustituida con distintas concentraciones de harina de grillo. MC: mezcla control, sin sustituir con harina de grillo; M-20, M-25 y M-30: mezclas sustituidas con 20, 25 y 30 % de harina de grillo, respectivamente.

Los espectros FTIR-ATR de las pastas elaboradas se muestran en la **Figura 5**. Similar a lo observado en las mezclas, PC (pasta control de sémola y harina de trigo, sin sustituir con harina de grillo) presentó las bandas características de la sémola y harina de trigo. En el caso de las pastas sustituidas con grillo al 20, 25 y 30 % (P-20, P-25 y P-30), estas mostraron las bandas características de la harina de grillo, además de que se pudo apreciar el aumento en la intensidad de sus picos en las regiones características de los grupos funcionales presentes en las proteínas, lípidos y quitina.



**Figura 5.** Espectro FTIR-ATR de pastas de trigo secas sustituidas con distintas concentraciones de harina de grillo. PC: pasta control, sin sustituir con harina de grillo; P-20, P-25 y P-30: pastas sustituidas con 20, 25 y 30 % de harina de grillo, respectivamente.

## 6.2. Caracterización Nutricional, Física y Sensorial de Pastas

### 6.2.1. Análisis Proximal

La composición proximal de las pastas sustituidas parcialmente con harina de grillo se muestra en el **Cuadro 7**. La sustitución parcial con 20, 25 y 30 % de harina de grillo *A. domesticus* en pasta de trigo (P-20, P-25 y P-30) aumentó el contenido de proteína, lípidos, fibra y cenizas ( $p < 0.05$ ), mientras que redujo el contenido de carbohidratos ( $p < 0.05$ ), con respecto a la pasta sin la sustitución con harina de grillo y una pasta de trigo comercial (PC y PT, respectivamente). Resultados similares fueron reportados previamente en panes de trigo sustituidos parcialmente con

harina de grillo (Cappelli *et al.*, 2020). Estos autores sustituyeron hasta con 15 % de harina de grillo reportando un aumento de proteína (de 13.96 a 22.24 %), lípidos (de 1.50 a 2.36 %) y cenizas (de 0.40 a 0.93 %), con la reducción de carbohidratos (de 84.14 a 74.48 %). De igual forma, Osimani y colaboradores (2018) sustituyeron hasta con 30 % de harina de grillo y reportaron el aumento de proteína (de 14.69 a 27.72 %), lípidos (de 0.10 a 6.38 %), cenizas (0.69 a 1.57 %), así como de fibra (de 0.45 a 2.58 %). Estos autores además observaron una correlación lineal entre el contenido de proteína, lípidos y fibra con la concentración de harina de grillo incorporada en los productos. En el caso de pastas, Duda y colaboradores (2019) reportaron que adicionar hasta 15 % de harina de grillo en pasta trigo incrementa el contenido de proteína (de 9.96 a 16.92 %), lípidos (de 1.31 a 4.73 %) y cenizas (de 0.86 a 1.46 %), debido a que la harina de grillo es alta en proteína, lípidos y minerales, lo cual se reflejó en la composición de las pastas elaboradas.

**Cuadro 7.** Análisis proximal de pastas (en base seca).

Muestra	Proteína (%)	Lípidos (%)	Carbohidratos (%)	Fibra (%)	Cenizas (%)
PT	11.7	1.6	71.1	3.3	-
PC	12.23 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.21 ± 0.00 <sup>a</sup>	85.25 ± 0.10 <sup>d</sup>	2.35 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.68 ± 0.01 <sup>a</sup>
P-20	22.29 ± 0.01 <sup>b</sup>	2.85 ± 0.00 <sup>b</sup>	67.39 ± 0.01 <sup>c</sup>	6.10 ± 0.01 <sup>b</sup>	1.38 ± 0.02 <sup>b</sup>
P-25	24.63 ± 0.03 <sup>c</sup>	2.87 ± 0.01 <sup>c</sup>	65.00 ± 0.02 <sup>b</sup>	6.11 ± 0.01 <sup>b</sup>	1.38 ± 0.01 <sup>b</sup>
P-30	26.58 ± 0.02 <sup>d</sup>	2.90 ± 0.00 <sup>d</sup>	62.97 ± 0.01 <sup>a</sup>	6.16 ± 0.01 <sup>c</sup>	1.40 ± 0.01 <sup>b</sup>

Media ± desviación estándar (n=3). PT: pasta de trigo comercial (valores reportados en el envase); PC: pasta control de trigo; P-20, P-25 y P-30: pastas de trigo sustituidas con 20, 25 y 30 % de harina de grillo, respectivamente. Literales distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre muestras.

La Comisión Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, por sus siglas en inglés) define que, alimentos en los que al menos el 20 % del valor energético es aportado por la proteína, son categorizados como alimentos altos en proteína. Esta autoridad también considera que alimentos que contienen al menos 6 g de fibra por cada 100 g de producto son alimentos altos en fibra (European Commission, 2023). Con base en estas definiciones y en los resultados del análisis proximal, las pastas elaboradas en el presente estudio que fueron sustituidas parcialmente con harina de grillo, P-20, P-25 y P-30, podrían ser categorizadas como alimentos altos en fibra, ya que

mostraron un contenido de fibra que supera ligeramente los 6 g de fibra por cada 100 g de pasta. Asimismo, P-20, P-25 y P-30 podrían considerarse como alimentos altos en proteína ya que sus contenidos de proteína (22.29, 24.63 y 26.58 %) proveen más del 20 % del valor energético de las pastas (23.20, 25.63 y 27.67 % del valor energético para P-20, P-25 y P-30, respectivamente).

### 6.2.2. Textura

La calidad de las pastas está determinada por las características nutricionales, sensoriales y del rendimiento de cocinado. En este último, las propiedades de textura son las más importantes, ya que son las que dirigen las elecciones del consumidor. Una alta calidad de cocinado puede definirse con una buena firmeza y elasticidad después del cocinado (Romano *et al.*, 2021). En el **Cuadro 8** se muestran los resultados de la medición de firmeza de las pastas cocinadas de trigo y de las sustituidas con harina de grillo. PC presentó la mayor firmeza ( $p < 0.05$ ), seguida de P-20 y PT, mientras P-25 y P-30 presentaron la menor firmeza ( $p < 0.05$ ). Se pudo observar que la formulación control (PC) resultó en una pasta con mayor firmeza que una pasta de trigo comercial. Además, se demostró que sustituir con hasta un 20 % de harina de grillo permite conseguir una pasta con una firmeza igual a la del producto comercial, y que la sustitución con un mayor porcentaje de harina de grillo (25 y 30 %) la disminuyen. Por lo tanto, porcentajes mayores al 20 % de harina de grillo tienen un efecto negativo sobre la textura de las pastas.

El comportamiento de la firmeza de las pastas tuvo una tendencia a disminuir conforme se aumenta la concentración de harina de grillo en las pastas, lo cual difiere con lo reportado en otras pastas sustituidas con harina de insectos. Por ejemplo, Duda y colaboradores (2019) reportaron que la sustitución con 5, 10 y 15 % de harina de grillo en pasta de trigo aumenta la firmeza de éstas, con respecto a la control. Estos autores establecieron que el uso de ingredientes con altos contenidos de proteína en la producción de pasta, como el huevo y frijol, aumenta la firmeza. De forma similar, Pasini y colaboradores (2022) reportaron que la sustitución con 15 % de proteína de grillo *A. domesticus* incrementa el valor de esta propiedad, sin embargo, en estos estudios se sustituyeron porcentajes menores (5-15 %) que los empleados en el presente trabajo (20-30 %), por lo que el

efecto de estas concentraciones sobre la firmeza de las pastas no ha sido documentado. No obstante, la sustitución con 20 % de harina de grillo permitió mantener una firmeza similar a la de una pasta de trigo comercial.

**Cuadro 8.** Determinación de firmeza de pastas cocinadas.

Muestra	Firmeza (N)
PT	2.92 ± 0.22 <sup>b</sup>
PC	3.51 ± 0.32 <sup>c</sup>
P-20	2.75 ± 0.23 <sup>b</sup>
P-25	2.51 ± 0.22 <sup>a</sup>
P-30	2.27 ± 0.21 <sup>a</sup>

Media ± desviación estándar (n=16). PT: pasta de trigo comercial; PC: pasta control; P-20, P-25 y P-30: pastas sustituidas con 20, 25 y 30 % de harina de grillo, respectivamente. Literales distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre muestras.

Aunque en pastas no se ha observado un comportamiento similar al de este estudio, en productos de panificación como el pan de trigo y galletas, se ha reportado la disminución en algunos parámetros de textura con la sustitución con harina de distintos insectos. Haber y colaboradores (2019) reportaron que la sustitución con 10 y 20 % de harina de saltamontes en panes resultó en texturas más suaves y en menor dureza debido a la dilución del gluten y a la presencia de harina de insecto, lo cual pudo haber interrumpido la formación de uniones S-S entre las moléculas de gluten, causando una menor elasticidad y que la red tridimensional atrapara menos aire. Smarzyński y colaboradores (2021) también reportaron una reducción de dureza en galletas sustituidas con 2, 6 y 10 % de harina de grillo *A. domesticus*, la cual era debido a la reducción del contenido de proteínas de gluten en la masa y la pobre interacción entre las proteínas y carbohidratos, así como la falta de uniformidad del mezclado, lo que pudo haber limitado la disponibilidad de agua para las proteínas, las cuales deben ser hidratadas en la preparación de la masa. Poca agua o la sustitución con otros ingredientes como grasas en la masa, previene que las proteínas se hidraten apropiadamente. Con base en estas observaciones, la reducción en la firmeza de las pastas

elaboradas, como un parámetro de textura, podría atribuirse a la reducción del contenido de gluten y el alto contenido de grasa presente en la harina de grillo, lo que afectó una óptima hidratación de proteínas, la uniformidad del mezclado y la elasticidad de la masa.

### 6.2.3. Color

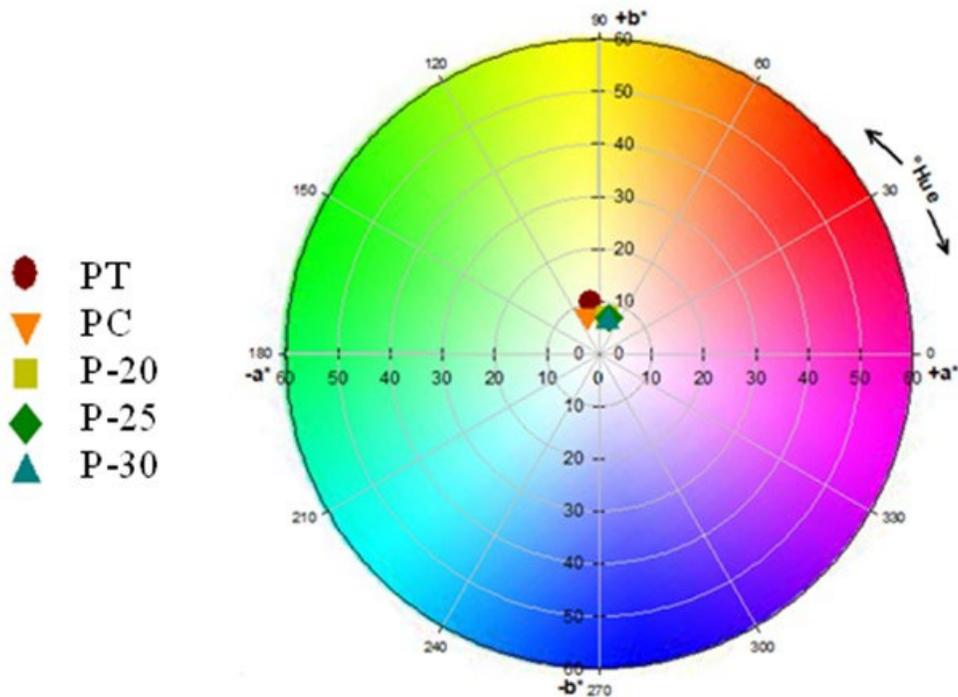
El color es una de las propiedades sensoriales que más aprecian los consumidores en un alimento, y que afecta directamente su preferencia, selección y deseo (Duda *et al.*, 2019). El **Cuadro 9** muestra los resultados de la medición de color de las pastas cocinadas. La sustitución parcial con harina de grillo disminuyó la luminosidad ( $L^*$ ) de las pastas ( $p < 0.05$ ), resultando visiblemente en pastas más oscuras en comparación con PC y PT. Además, PC presentó una luminosidad aún mayor que PT ( $p < 0.05$ ), obteniendo una pasta con una coloración más clara que una pasta comercial. Asimismo, la sustitución con grillo en las pastas provocó un aumento en los valores de  $a^*$  ( $p < 0.05$ ), y disminución de los valores de  $b^*$  ( $p < 0.05$ ), en comparación con las pastas de trigo sin harina de grillo (PC y PT), indicando cambios en el balance del color hacia el rojo y el azul (aumento de la saturación de rojo ( $a^*$ ) y disminución de la saturación del amarillo ( $b^*$ )). Este mismo comportamiento ha sido reportado por otros autores en productos como pan de trigo, snacks de maíz y galletas sustituidas parcialmente con harina de grillo *A. domesticus* (González *et al.*, 2019; Igual *et al.*, 2020; Smarzyński *et al.*, 2021). Dichos autores atribuyeron estos cambios de color al incremento de proteína y a las altas temperaturas de horneado, llevando a la formación de productos coloridos (melanoidinas) por reacciones de Maillard, así como el oscurecimiento por la transformación de carbohidratos y caramelización. También se menciona que el color de los productos finales usualmente depende directamente del color de los materiales crudos que se utilizan. Esto último se pudo apreciar a simple vista, ya que la harina de grillo presenta un color café oscuro, lo cual afectó el color de las mezclas de harina de trigo y sémola, de color claro, al ser sustituidas parcialmente y, en consecuencia, al color de las pastas. Lo mismo fue reportado en pastas sustituidas parcialmente con otras especies de insectos, y en las que se relacionó el color oscuro al de pastas integrales, percibidas como “más saludables” (Duda *et al.*, 2019; Jakab *et al.*, 2020).

**Cuadro 9.** Determinación de color de pastas cocinadas de trigo comercial (PT), pasta control (PC), y pastas sustituidas con 20 (P-20), 25 (P-25) y 30 % (P-30) de harina de grillo.

Muestra	L*	a*	b*	C*	°Hue
PT	50.49 ± 1.91 <sup>c</sup>	-1.46 ± 0.12 <sup>b</sup>	9.73 ± 0.85 <sup>c</sup>	9.84 ± 0.85 <sup>c</sup>	98.59 ± 0.71 <sup>c</sup>
PC	53.81 ± 0.89 <sup>d</sup>	-2.24 ± 0.10 <sup>a</sup>	7.19 ± 0.35 <sup>b</sup>	7.53 ± 0.34 <sup>b</sup>	107.34 ± 1.04 <sup>d</sup>
P-20	43.24 ± 0.48 <sup>b</sup>	1.59 ± 0.21 <sup>c</sup>	6.89 ± 0.37 <sup>b</sup>	7.07 ± 0.40 <sup>b</sup>	77.05 ± 1.21 <sup>b</sup>
P-25	41.80 ± 1.76 <sup>ab</sup>	1.92 ± 0.18 <sup>d</sup>	6.92 ± 0.19 <sup>b</sup>	7.19 ± 0.16 <sup>b</sup>	74.51 ± 1.58 <sup>a</sup>
P-30	41.49 ± 0.46 <sup>a</sup>	1.68 ± 0.15 <sup>c</sup>	6.06 ± 0.58 <sup>a</sup>	6.29 ± 0.59 <sup>a</sup>	74.49 ± 0.93 <sup>a</sup>

Media ± desviación estándar (n=9). Literales distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre muestras.

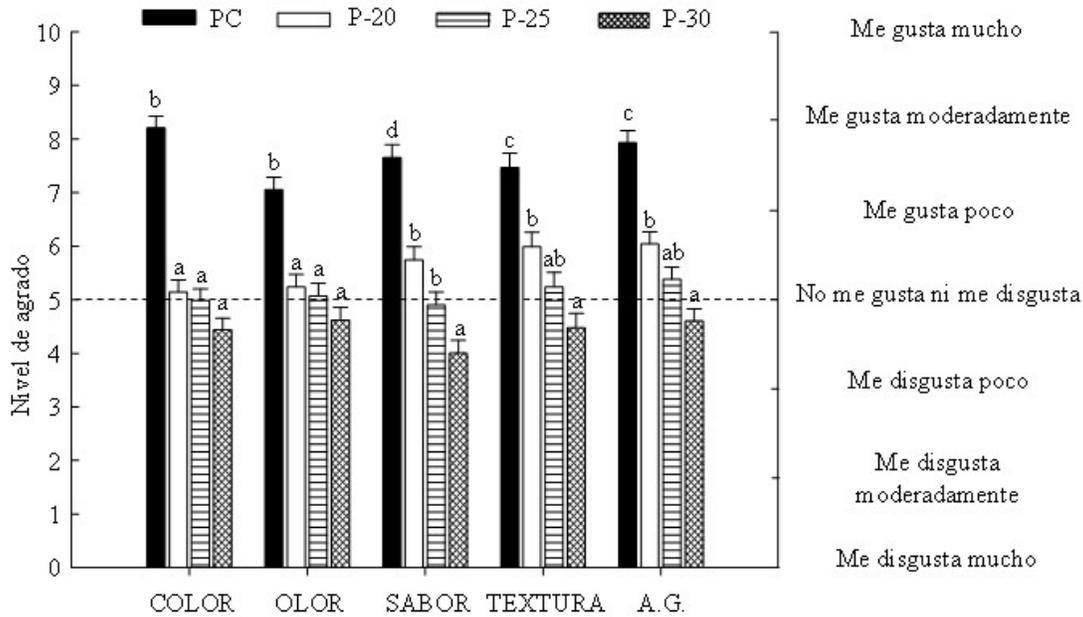
PT presentó el mayor valor de Croma (C\*), seguida de PC, P-20 y P-25, mientras P-30 presentó la menor cromaticidad ( $p < 0.05$ ), obteniendo pastas más oscuras a mayor concentración de harina de grillo incorporada en las pastas. Por último, P-20, P-25 y P-30 presentaron menor °Hue que PC y PT ( $p < 0.05$ ). La **Figura 6** muestra la representación de los resultados en el espacio de color CIE L\*a\*b\*. Se observó como P-20, P-25 y P-30 se inclinaron hacia colores rojizos, mientras PC y PT hacia colores amarillos claros.



**Figura 6.** Espacio de color CIE L\*a\*b\* de pastas cocinadas. PT: pasta de trigo comercial; PC: pasta control; P-20, P-25 y P-30: pastas sustituidas con 20, 25 y 30 % de harina de grillo, respectivamente.

#### 6.2.4. Análisis Sensorial

Los principales factores que influyen en la aceptación de los productos alimentarios son sus características sensoriales, por lo que es de gran importancia que características como sabor, textura y color de productos a base de insectos alcancen las expectativas de los consumidores (Castro *et al.*, 2020). No obstante, los insectos pueden impartir efectos notables en algunos parámetros sensoriales de los productos, generando un impacto negativo en la percepción de los consumidores (Osimani *et al.*, 2018; Smarzyński *et al.*, 2021). Con el fin de determinar el efecto de la sustitución parcial con harina de grillo en pastas de trigo sobre el nivel de agrado y aceptabilidad por parte de los consumidores, se realizó una evaluación sensorial. La **Figura 7** muestra los resultados de esta evaluación.

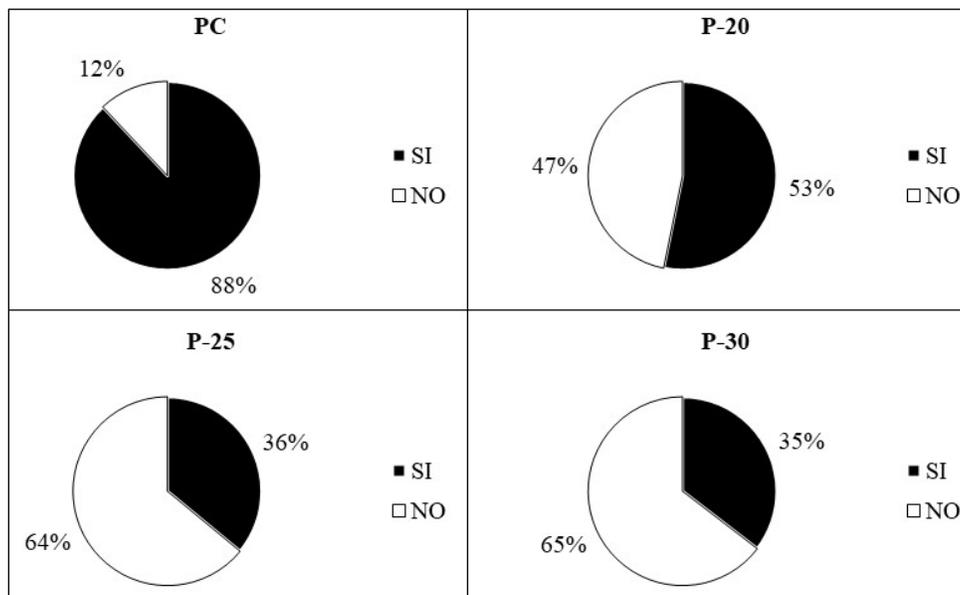


**Figura 7.** Nivel de agrado de los parámetros organolépticos evaluados en pastas sustituidas con 20 % (P-20), 25 % (P-25) y 30 % (P-30) de harina de grillo y pasta control (PC). A.G: aceptabilidad general. Literales distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre pastas. Media  $\pm$  error estándar ( $n=109$ ).

La sustitución parcial con harina de grillo en las pastas afectó significativamente el nivel de agrado expresado por los panelistas. PC obtuvo el mayor nivel de agrado en todos los parámetros evaluados (color, olor, sabor, textura y aceptabilidad general) ( $p < 0.05$ ), en los que la respuesta por parte de los consumidores tuvo una tendencia a “me gusta moderadamente”, y quienes mencionaron que era una pasta similar a la que consumen normalmente, con buena textura y sabor. En cuanto al nivel de agrado del color, las pastas sustituidas con harina de grillo (P-20, P-25 y P-30) obtuvieron un menor nivel de agrado que la muestra control ( $p < 0.05$ ), sin diferencias entre ellas ( $p > 0.05$ ), por lo que sustituir con 20, 25 y 30 % de harina de grillo en las pastas, no causó una diferencia en la percepción del color de los panelistas, pero sí en la medición instrumental de este parámetro (**Cuadro 9**). Sin embargo, algunos panelistas mencionaron que el color era parecido al de pastas integrales, comúnmente percibidas como “más saludables”, algo similar a lo reportado por Duda y colaboradores (2019). El mismo comportamiento se observó en la evaluación del parámetro de olor, en el que P-20, P-25 y P-30 no presentaron diferencias significativas en el nivel de agrado ( $p > 0.05$ ). No obstante, en los comentarios de los panelista se mencionó que en P-25 y P-30 se percibía un olor fuerte y extraño, algo que no ocurrió en P-20. En sabor, P-20 y P-25

obtuvieron el mismo nivel de agrado ( $p>0.05$ ), mientras P-30 obtuvo el menor ( $p<0.05$ ), en la que se comentó que se percibía un sabor ligeramente amargo. La textura de las pastas también fue afectada por la sustitución con harina de grillo. Entre P-20 y P-25 no se presentó una diferencia en el nivel de agrado de la textura ( $p>0.05$ ), pero éste se vio disminuido significativamente en P-30, en el que los consumidores expresaron percibir una textura “arenosa” o “con grumos”. Por último, P-20 y P-25 obtuvieron la misma aceptabilidad general ( $p>0.05$ ), y P-30 la menor aceptación ( $p<0.05$ ).

Adicionalmente, se les preguntó a los panelistas si comprarían o no las pastas evaluadas (intención de compra). La **Figura 8** muestra los resultados. El 88 % de los panelistas respondieron que sí estarían dispuestos a comprar PC, más del 50 % comprarían P-20, pero cuando el porcentaje de sustitución con harina de grillo fue superior al 20 %, la intención de compra de los consumidores se redujo hasta un 35.78 y 25.69 % para P-25 y P-30, respectivamente. Con base en los resultados del análisis sensorial y de la intención de compra, la sustitución con 20 % de harina de grillo es un porcentaje de sustitución factible para la obtención de pastas con un nivel de agrado aceptable, mientras la sustitución con una mayor concentración (25 y 30 %) reduce significativamente su agrado e intención de compra.



**Figura 8.** Intención de compra de pastas evaluadas (PC, P-20, P-25 y P-30). PC: pasta control, sin sustitución con harina de grillo; P-20, P-25 y P-30: pastas sustituidas con 20, 25 y 30 % de harina de grillo, respectivamente.

## 6.3. Caracterización de Productos de Digestión Mediante Simulación de Digestión Gastrointestinal

Con base en los resultados del análisis fisicoquímico, proximal y sensorial, se seleccionó la pasta de trigo sustituida con 20 % de harina de grillo (P-20) para ser sometida a los análisis posteriores, además de la pasta control sin la sustitución con harina de grillo (PC) y una pasta de trigo comercial (PT).

### 6.3.1. Perfil de Aminoácidos

Las proteínas son un elemento vital en la dieta humana para la supervivencia, ya que son necesarias para el crecimiento y desarrollo del cuerpo, así como para el mantenimiento y reparación de tejidos dañados, entre otras funciones (Igual *et al.*, 2021). En este sentido, los insectos comestibles, incluyendo el grillo *A. domesticus*, han demostrado ser una fuente prometedora de proteína debido a su alto contenido de este macronutriente. No obstante, la calidad nutricional de fuentes proteicas no sólo está determinada por la proporción de proteína en la materia, sino que también depende de otros factores como la abundancia de aminoácidos esenciales y su digestibilidad. Para esto, las proteínas deben ser hidrolizadas por las enzimas digestivas a péptidos pequeños y a aminoácidos individuales para ser absorbidos y utilizados por el organismo (Day *et al.*, 2022). En este contexto, las proteínas de los insectos comestibles también han sido reconocidas por su buena calidad, debido a que contienen todos los aminoácidos esenciales y por presentar una mayor digestibilidad que proteínas de fuentes de origen vegetal (Brogan *et al.*, 2021; Magara *et al.*, 2021; Ordoñez-Araque y Egas-Montenegro, 2021).

El **Cuadro 10** muestra el perfil de aminoácidos de las pastas cocinadas (PC, PT y P-20), antes de ser sometidas a la simulación de digestión gastrointestinal. Los resultados se compararon con los valores de aminoácidos recomendados para adultos por la OMS (Organización Mundial de la Salud), FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, por sus

siglas en inglés) y la UNU (Universidad de las Naciones Unidas) (WHO/FAO/UNU, 2007). Se determinó que la pasta P-20 presentó un mayor contenido de aminoácidos esenciales y no esenciales, a excepción de ácido glutámico, en comparación con la pasta PC y PT ( $p < 0.05$ ). Asimismo, la pasta P-20 superó los valores mínimos recomendados para los aminoácidos histidina, leucina, treonina, glicina, mientras igualó el de isoleucina. No obstante, los valores de los aminoácidos esenciales lisina, metionina, fenilalanina y valina de P-20 fueron ligeramente menores a los valores mínimos recomendados. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Osimani y colaboradores (2018) en panes sustituidos parcialmente hasta con 30 % de harina de grillo *A. domesticus*, y quienes obtuvieron un mayor contenido de aminoácidos esenciales, en comparación con panes que no fueron sustituidas parcialmente con harina de insecto. De forma similar, Severini y colaboradores (2018) también reportaron un aumento en el contenido de aminoácidos esenciales en snacks que fueron sustituidos parcialmente hasta con 20 % de harina de gusano *T. molitor*, lo que llevó a estos autores a concluir que los productos sustituidos parcialmente con harina de insecto tenían mejor valor nutricional que aquellos que no fueron sustituidos.

**Cuadro 10.** Perfil de aminoácidos de pastas cocinadas antes de simulación de digestión gastrointestinal.

Aminoácido	PC	PT	P-20	Requerimiento*
	mg/g proteína			mg/g proteína
<b>Esenciales</b>				
Ile	21.74 ± 0.64 <sup>a</sup>	23.27 ± 0.62 <sup>b</sup>	28.39 ± 1.04 <sup>c</sup>	30
His	20.40 ± 0.61 <sup>a</sup>	39.31 ± 3.91 <sup>b</sup>	33.86 ± 5.38 <sup>ab</sup>	15
Leu	50.59 ± 1.48 <sup>a</sup>	59.87 ± 0.43 <sup>b</sup>	69.38 ± 0.01 <sup>c</sup>	59
Lys	11.85 ± 0.35 <sup>a</sup>	13.32 ± 1.35 <sup>a</sup>	33.13 ± 0.21 <sup>b</sup>	45
Met (azufrados)	14.58 ± 0.43 <sup>a</sup>	17.04 ± 1.47 <sup>b</sup>	18.94 ± 0.19 <sup>b</sup>	22
Phe (aromáticos)	30.10 ± 0.88 <sup>a</sup>	35.15 ± 0.41 <sup>c</sup>	32.81 ± 0.49 <sup>b</sup>	38
Thr + Gly	57.90 ± 1.72 <sup>a</sup>	91.34 ± 8.21 <sup>b</sup>	95.08 ± 0.33 <sup>b</sup>	23
Val	26.11 ± 0.77 <sup>a</sup>	27.00 ± 0.47 <sup>a</sup>	35.18 ± 1.99 <sup>b</sup>	39
<b>No esenciales</b>				
Ala	23.32 ± 0.69 <sup>a</sup>	29.95 ± 0.11 <sup>b</sup>	63.40 ± 0.06 <sup>c</sup>	

Arg	33.11 ± 0.98 <sup>a</sup>	48.34 ± 6.79 <sup>b</sup>	63.22 ± 3.03 <sup>c</sup>
Asp	36.70 ± 1.08 <sup>a</sup>	40.99 ± 5.34 <sup>a</sup>	73.79 ± 0.86 <sup>b</sup>
Glu	312.76 ± 9.20 <sup>b</sup>	360.00 ± 21.70 <sup>c</sup>	252.74 ± 5.70 <sup>a</sup>
Tyr	27.03 ± 0.80 <sup>a</sup>	33.46 ± 3.47 <sup>b</sup>	50.22 ± 9.71 <sup>c</sup>
Ser	27.70 ± 0.86 <sup>a</sup>	29.78 ± 2.01 <sup>a</sup>	46.34 ± 6.02 <sup>b</sup>

Media ± desviación estándar (n=3). PC: pasta control de trigo; PT: pasta de trigo comercial; P-20: pasta de trigo sustituida con 20 % de harina de grillo; \*Requerimiento de aminoácidos para adultos (WHO/FAO/UNU, 2007). Literales distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre pastas.

Para que el cuerpo aproveche al máximo las proteínas, los aminoácidos esenciales deben estar disponibles para lo cual, las proteínas deben ser primero hidrolizadas por las enzimas digestivas a péptidos pequeños y aminoácidos individuales, los cuales son mejor absorbidos y utilizados (Day *et al.*, 2022). El **Cuadro 11** presenta el perfil de aminoácidos de las pastas cocinadas después de ser sometidas a simulación de digestión gástrica. Entre las pastas (PC, PT y P-20), P-20 presentó la mayor concentración de aminoácidos ( $p < 0.05$ ), a excepción de serina, en comparación con PC y PT, con valores de hasta más de tres veces que estas pastas. Esto se podría interpretar como una mayor liberación y disponibilidad de aminoácidos para su absorción en P-20.

**Cuadro 11.** Perfil de aminoácidos de pastas cocinadas después de ser sometidas a simulación de digestión gástrica.

Aminoácido	PC	PT	P-20
	mg/g proteína		
<b>Esenciales</b>			
Ile	0.12 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.48 ± 0.00 <sup>b</sup>	2.39 ± 0.10 <sup>c</sup>
His	0.38 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.22 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.60 ± 0.12 <sup>b</sup>
Leu	3.15 ± 0.30 <sup>a</sup>	3.90 ± 0.12 <sup>a</sup>	10.18 ± 0.57 <sup>b</sup>
Lys	0.31 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.30 ± 0.03 <sup>a</sup>	3.21 ± 0.10 <sup>b</sup>
Met	0.70 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.74 ± 0.04 <sup>a</sup>	2.42 ± 0.04 <sup>b</sup>
Phe	1.37 ± 0.16 <sup>a</sup>	2.50 ± 0.04 <sup>b</sup>	7.71 ± 0.36 <sup>c</sup>
Thr + Gly	0.95 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.23 ± 0.08 <sup>a</sup>	3.49 ± 0.32 <sup>b</sup>

Val	0.70 ± 0.13 <sup>a</sup>	1.14 ± 0.04 <sup>b</sup>	4.12 ± 0.26 <sup>c</sup>
<b>No esenciales</b>			
Ala	0.77 ± 0.13 <sup>a</sup>	1.30 ± 0.07 <sup>a</sup>	11.68 ± 1.43 <sup>b</sup>
Arg	0.02 ± 0.00 <sup>a</sup>	5.89 ± 0.54 <sup>b</sup>	7.36 ± 0.55 <sup>c</sup>
Asp	0.47 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.73 ± 0.02 <sup>a</sup>	16.78 ± 1.14 <sup>b</sup>
Glu	0.63 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.81 ± 0.02 <sup>a</sup>	10.30 ± 0.80 <sup>b</sup>
Tyr	1.53 ± 0.10 <sup>a</sup>	1.62 ± 0.05 <sup>a</sup>	5.08 ± 0.20 <sup>b</sup>
Ser	29.66 ± 2.27 <sup>c</sup>	0.90 ± 0.02 <sup>a</sup>	4.64 ± 0.28 <sup>b</sup>

Media ± desviación estándar (n=3). PC: pasta control de trigo; PT: pasta de trigo comercial; P-20: pasta de trigo sustituida con 20 % de harina de grillo. Literales distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre pastas.

Igual y colaboradores (2021) también evaluaron la liberación de aminoácidos de panes sustituidos hasta con 10 % de gusano *T. molitor* y escarabajo *A. diaperinus*, después de someterlos a simulación de digestión gastrointestinal. Estos autores reportaron que después de la fase gástrica, sólo pudieron detectar histidina, lisina, leucina y fenilalanina, los cuales estuvieron presentes en mayor concentración con respecto al pan control, a excepción de lisina. En el presente trabajo, ocho de los nueve aminoácidos esenciales se detectaron en todas las pastas, siendo P-20 la pasta que presentó la mayor concentración de aminoácidos esenciales liberados en fase gástrica ( $p < 0.05$ ). Esta mayor liberación parece estar en función de la concentración de aminoácidos presentes en las pastas.

El **Cuadro 12** muestra el perfil de aminoácidos de las pastas cocinadas después de pasar por la simulación de digestión intestinal. La pasta P-20 presentó mayor concentración en los aminoácidos esenciales isoleucina, lisina y treonina, y en los no esenciales glicina, alanina, ácido glutámico y tirosina, en comparación con una pasta comercial, PT ( $p < 0.05$ ). Dentro de los aminoácidos esenciales, la isoleucina, un aminoácido ramificado, juega un papel importante en el crecimiento y mantenimiento de la masa muscular; la lisina ayuda en la absorción de calcio en el cuerpo y participa en la formación de colágeno, mientras que la treonina participa en el metabolismo hepático de lípidos, previniendo la acumulación de triglicéridos en hígado (Day *et al.*, 2022). Debido a una mayor concentración de estos tres aminoácidos esenciales (Ile, Lys, Thr) en P-20 después de la fase intestinal, se podrían estar favoreciendo los beneficios potenciales a la salud que estos aminoácidos son capaces de ejercer, tales como el incremento de masa muscular, la absorción

de calcio y la prevención de acumulación de triglicéridos en hígado, en comparación con una pasta elaborada solamente con trigo.

Algunos de estos resultados concuerdan con lo reportado por Igual y colaboradores (2021) en panes sustituidos parcialmente con harina de gusano y escarabajo, después de la simulación de digestión intestinal. Estos autores reportaron un mayor contenido de isoleucina, treonina y ácido glutámico en los panes sustituidos parcialmente con harina de insectos, en comparación con el pan control. Por otro lado, no se encontraron diferencias entre todas las pastas (PC, PT y P-20) en la concentración de metionina, fenilalanina, valina, arginina, aspártico y serina ( $p > 0.05$ ), mientras histidina y leucina estuvieron en menor concentración en P-20 en comparación con PC y PT ( $p < 0.05$ ). Se ha reportado que un aspecto importante a tomar en cuenta al realizar estudios de simulaciones de digestión gastrointestinal, es que no se considera la acción de enzimas peptidasas que se encuentran en la membrana del borde en cepillo, las cuales tienen altos niveles hidrolíticos (Perez-Moral *et al.*, 2023). Tomando en cuenta esto, podría hipotetizarse que la falta de estas peptidasas en la simulación de la digestión gastrointestinal no permitió una mayor digestión de péptidos presentes en la pasta P-20, limitando así la liberación de una mayor cantidad de aminoácidos. Asimismo, podrían estar presentándose fracciones inaccesibles o intrínsecamente resistentes a la digestión enzimática, limitando también la liberación de una mayor cantidad de aminoácidos (Perez-Moral *et al.*, 2023).

**Cuadro 12.** Perfil de aminoácidos de pastas cocinadas después de ser sometidas a simulación de digestión intestinal.

Aminoácido	PC	PT	P-20
	mg/g proteína		
<b>Esenciales</b>			
Ile	2.32 ± 0.16 <sup>a</sup>	2.67 ± 0.16 <sup>a</sup>	3.71 ± 0.32 <sup>b</sup>
His	33.91 ± 0.27 <sup>b</sup>	32.91 ± 0.73 <sup>b</sup>	17.41 ± 0.04 <sup>a</sup>
Leu	35.64 ± 0.39 <sup>c</sup>	33.14 ± 0.25 <sup>b</sup>	29.75 ± 0.52 <sup>a</sup>
Lys	18.50 ± 0.83 <sup>c</sup>	6.62 ± 0.66 <sup>a</sup>	10.64 ± 0.11 <sup>b</sup>
Met	9.31 ± 0.97 <sup>b</sup>	6.51 ± 0.18 <sup>a</sup>	5.83 ± 0.34 <sup>a</sup>
Phe	15.93 ± 0.81 <sup>a</sup>	16.60 ± 1.97 <sup>a</sup>	16.63 ± 0.63 <sup>a</sup>
Thr + Gly	0.29 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.90 ± 0.14 <sup>b</sup>	2.18 ± 0.13 <sup>c</sup>

Val	3.60 ± 0.35 <sup>a</sup>	3.47 ± 0.11 <sup>a</sup>	3.91 ± 0.11 <sup>a</sup>
<b>No esenciales</b>			
Ala	1.39 ± 0.19 <sup>a</sup>	2.01 ± 0.06 <sup>b</sup>	4.37 ± 0.09 <sup>c</sup>
Arg	36.64 ± 0.60 <sup>a</sup>	39.27 ± 1.45 <sup>b</sup>	42.02 ± 1.23 <sup>b</sup>
Asp	4.62 ± 0.06 <sup>a</sup>	5.46 ± 0.09 <sup>b</sup>	6.71 ± 1.12 <sup>b</sup>
Glu	3.16 ± 0.20 <sup>a</sup>	3.57 ± 0.24 <sup>a</sup>	5.20 ± 0.33 <sup>b</sup>
Tyr	19.53 ± 0.18 <sup>b</sup>	18.35 ± 0.11 <sup>a</sup>	21.65 ± 0.52 <sup>c</sup>
Ser	1.33 ± 0.23 <sup>a</sup>	3.21 ± 0.08 <sup>b</sup>	4.23 ± 0.67 <sup>b</sup>

Media ± desviación estándar (n=3). PC: pasta control de trigo; PT: pasta de trigo comercial; P-20: pasta de trigo sustituida con 20 % de harina de grillo. Literales distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre pastas.

Una vez que se da la desnaturalización de éstas por el ácido gástrico y las enzimas digestivas (pepsinas del estómago y proteasas pancreáticas) ejercen su acción hidrolítica sobre ellas, los enterocitos se enfrentan a una mezcla de oligopéptidos y aminoácidos libres, los cuales pasan por un proceso de absorción, principalmente en el yeyuno (Caspary, 1992; Vermeirssen *et al.*, 2004). Antes de ser absorbidos, los oligopéptidos sufren otra hidrólisis por la acción de peptidasas que se encuentran en la membrana del borde en cepillo, lo que resulta en la liberación de aminoácidos libres, así como di- y tripéptidos, los cuales son subsecuentemente transportados hacia el interior de los enterocitos por sistemas de transporte específicos. No obstante, estos di- y tripéptidos pueden ser absorbidos a través de la mucosa intestinal por otros mecanismos, como por ejemplo, por difusión pasiva (Caspary, 1992; Vermeirssen *et al.*, 2004).

Después de simular un proceso de absorción de aminoácidos, utilizando una membrana de diálisis con un tamaño de poro de 14-15 kDa, se obtuvieron dos perfiles de aminoácidos. El **Cuadro 13** muestra el perfil de aminoácidos correspondiente a la fracción no bioaccesible (fracción no absorbida y que quedó dentro de la bolsa de diálisis), y el **Cuadro 14** el de la fracción bioaccesible (fracción absorbida y que salió de la bolsa de diálisis). Como muestra el **Cuadro 13**, a excepción de lisina, glicina, treonina, alanina y tirosina, en los que la concentración fue igual entre P-20 y PT, la concentración de los demás aminoácidos en P-20 fue menor en comparación con PT y PC ( $p < 0.05$ ). Esto indica que la pasta P-20 ocurrió una mayor difusión de aminoácidos hacia el exterior de la membrana de diálisis en comparación con PC y PT, lo cual podría interpretarse como una

mayor concentración de aminoácidos “absorbidos”. Posteriormente, al evaluar el perfil de aminoácidos en la fracción bioaccesible que se muestra en el **Cuadro 14**, se observó que, en cuanto aminoácidos no esenciales, P-20 presentó mayor concentración de estos aminoácidos en comparación con PC y PT ( $p<0.05$ ). Por otro lado, en cuanto aminoácidos esenciales, sólo en el caso de lisina, glicina y treonina, los valores de P-20 fueron superiores con respecto a PC y PT ( $p<0.05$ ). En el caso de isoleucina, metionina, fenilalanina y valina, los valores fueron iguales entre P-20 y las pastas de solo trigo, y solamente para histidina y leucina, P-20 presentó valores menores con respecto a PC y PT ( $p<0.05$ ).

Cabe resaltar que, como se mencionó anteriormente, la ausencia o la falta de la acción hidrolítica de enzimas que se encuentran en la membrana epitelial, como algunas aminopeptidasas y dipeptidil peptidasas y otras peptidasas intracelulares (Shen & Matsui, 2017), las cuales no se consideran en una simulación de digestión gastrointestinal, podría limitar la liberación de una mayor cantidad de aminoácidos tanto en P-20 como en PC y PT. Asimismo, otro factor a considerar es que tampoco se cuenta con los sistemas de transporte de aminoácidos y péptidos encargados de transportarlos a través de la membrana epitelial por lo que, sólo aquellos aminoácidos o péptidos lo suficientemente pequeños para atravesar la membrana de diálisis por difusión pasiva, son los que se lograron cuantificar. Considerando estas limitantes propias de la metodología utilizada, la concentración real de aminoácidos libres en las pastas podría ser mayor.

**Cuadro 13.** Perfil de aminoácidos de fracción no bioaccesible de pastas cocinadas después de ser sometidas a simulación de digestión gastrointestinal.

Aminoácido	PC	PT	P-20
	mg/g proteína		
<b>Esenciales</b>			
Ile	4.40 ± 0.36 <sup>b</sup>	3.90 ± 0.21 <sup>b</sup>	2.37 ± 0.11 <sup>a</sup>
His	35.45 ± 2.81 <sup>c</sup>	28.74 ± 0.97 <sup>b</sup>	13.77 ± 0.52 <sup>a</sup>
Leu	26.10 ± 1.11 <sup>c</sup>	22.06 ± 0.93 <sup>b</sup>	16.06 ± 0.38 <sup>a</sup>
Lys	6.16 ± 0.42 <sup>b</sup>	3.99 ± 0.04 <sup>a</sup>	3.60 ± 0.01 <sup>a</sup>
Met	4.38 ± 0.23 <sup>c</sup>	3.71 ± 0.06 <sup>b</sup>	2.28 ± 0.09 <sup>a</sup>
Phe	15.39 ± 0.77 <sup>c</sup>	13.24 ± 0.50 <sup>b</sup>	10.15 ± 0.30 <sup>a</sup>

Gly	10.88 ± 0.36 <sup>b</sup>	9.38 ± 0.36 <sup>a</sup>	9.45 ± 0.29 <sup>a</sup>
Thr	1.50 ± 0.07 <sup>b</sup>	0.83 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.72 ± 0.12 <sup>a</sup>
Val	3.96 ± 0.39 <sup>b</sup>	3.58 ± 0.04 <sup>b</sup>	2.20 ± 0.11 <sup>a</sup>
<b>No esenciales</b>			
Ala	2.20 ± 0.13 <sup>b</sup>	1.91 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.87 ± 0.10 <sup>a</sup>
Arg	3.58 ± 0.28 <sup>c</sup>	2.82 ± 0.08 <sup>b</sup>	1.92 ± 0.12 <sup>a</sup>
Asp	3.95 ± 0.49 <sup>b</sup>	3.31 ± 0.11 <sup>b</sup>	1.46 ± 0.16 <sup>a</sup>
Glu	2.25 ± 0.30 <sup>b</sup>	2.22 ± 0.17 <sup>b</sup>	1.47 ± 0.12 <sup>a</sup>
Tyr	17.85 ± 0.79 <sup>b</sup>	14.84 ± 0.72 <sup>a</sup>	13.35 ± 0.36 <sup>a</sup>
Ser	2.84 ± 0.13 <sup>b</sup>	2.64 ± 0.07 <sup>b</sup>	1.60 ± 0.14 <sup>a</sup>

Media ± desviación estándar (n=3). PC: pasta control de trigo; PT: pasta de trigo comercial; P-20: pasta de trigo sustituida con 20 % de harina de grillo. Literales distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre pastas.

**Cuadro 14.** Perfil de aminoácidos de fracción bioaccesible de pastas cocinadas después de ser sometidas a simulación de digestión gastrointestinal.

Aminoácido	PC	PT	P-20
	mg/g proteína		
<b>Esenciales</b>			
Ile	0.84 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.77 ± 0.08 <sup>ab</sup>	0.64 ± 0.03 <sup>a</sup>
His	4.98 ± 0.05 <sup>b</sup>	4.64 ± 0.57 <sup>b</sup>	0.78 ± 0.03 <sup>a</sup>
Leu	8.19 ± 0.16 <sup>c</sup>	7.58 ± 0.01 <sup>b</sup>	6.19 ± 0.08 <sup>a</sup>
Lys	0.69 ± 0.07 <sup>b</sup>	0.19 ± 0.02 <sup>a</sup>	1.58 ± 0.07 <sup>c</sup>
Met	1.21 ± 0.14 <sup>b</sup>	1.04 ± 0.10 <sup>ab</sup>	0.80 ± 0.01 <sup>a</sup>
Phe	5.15 ± 0.35 <sup>a</sup>	4.86 ± 0.56 <sup>a</sup>	4.21 ± 0.08 <sup>a</sup>
Gly	2.61 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.80 ± 0.25 <sup>a</sup>	3.58 ± 0.06 <sup>b</sup>
Thr	-	-	0.45 ± 0.03
Val	0.74 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.92 ± 0.06 <sup>b</sup>	0.75 ± 0.04 <sup>a</sup>
<b>No esenciales</b>			
Ala	0.12 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.61 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.92 ± 0.07 <sup>c</sup>
Arg	0.23 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.75 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.70 ± 0.03 <sup>b</sup>
Asp	0.15 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.48 ± 0.08 <sup>b</sup>	0.92 ± 0.09 <sup>c</sup>
Glu	0.02 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.78 ± 0.03 <sup>c</sup>
Tyr	4.38 ± 0.32 <sup>a</sup>	3.99 ± 0.42 <sup>a</sup>	4.76 ± 0.13 <sup>a</sup>
Ser	-	-	0.49 ± 0.01

Media  $\pm$  desviación estándar (n=3). PC: pasta control de trigo; PT: pasta de trigo comercial; P-20: pasta de trigo sustituida con 20 % de harina de grillo. Literales distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre pastas.

En términos de bioaccesibilidad de nutrientes, como lo son los aminoácidos, aún es un tema muy poco estudiado en alimentos sustituidos parcialmente con harina de insectos. En nuestro conocimiento y búsqueda bibliográfica, no se ha reportado la evaluación de la liberación de aminoácidos durante un proceso de digestión gastrointestinal en pastas de trigo sustituida parcialmente con harina de grillo *A. domesticus*, lo cual depende de diferentes factores, por lo que estos resultados aquí obtenidos sientan una base para el estudio de aminoácidos que se encuentran disponibles para su absorción. Además, estos resultados nos darán la pauta para conocer en futuros estudios, los posibles efectos benéficos que podrían tener estos péptidos en la salud del consumidor, y de esta forma tener mayores evidencias para promover el consumo de harinas aditivadas con harina de grillo.

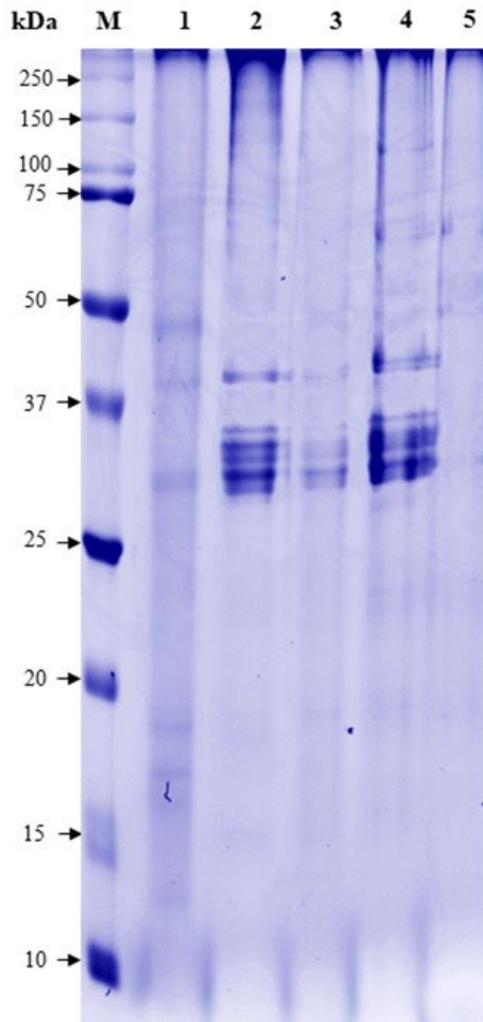
### 6.3.2. Perfil Electroforético de Proteínas

La electroforesis SDS-PAGE es una técnica que permite separar proteínas con base en su movilidad electroforética, la cual deriva de diferencias en su tamaño, peso molecular y otros factores. En el presente trabajo, la electroforesis permitió identificar y comparar la distribución de pesos moleculares de las proteínas que conforman las materias primas (harina de grillo, mezcla harina de trigo: sémola) y las pastas elaboradas (PC, PT y P-20) por comparación con un marcador de peso, además de determinar su grado de hidrólisis y formación de péptidos después de un proceso de digestión gastrointestinal simulada. El perfil electroforético de proteínas de las materias primas y las pastas cocinadas se muestra en la **Figura 9**. En la harina de grillo (carril 1) se observaron diferentes bandas entre los 10 y 50 kDa, en particular, algunas bien definidas alrededor de los 50 kDa, así como entre los 37-50, 25-37 y 10-20 kDa, similares a las reportadas previamente en *A. domesticus* (Calzada *et al.*, 2021; Kowalski *et al.*, 2022; Pasini *et al.*, 2022). Distintas proteínas de insectos, incluyendo las contenidas en grillos, han sido identificadas con base en su peso molecular

al ser separadas en geles de SDS-PAGE. Bandas entre los 12-15 kDa se han relacionado con proteínas de hemolinfa, las de 14-32 kDa con proteínas de las cutículas de insectos (p. ej., proteínas tipo quimotripsina de 24 kDa), alrededor de 41 y 42 kDa con arginina quinasa y actina, las de 75 kDa con hemocianina y las de 220 kDa con miosina (Brogan *et al.*, 2021; Montowska *et al.*, 2019; Yi *et al.*, 2013). Por lo tanto, las bandas observadas en el carril 1 se podrían deber a la presencia de actina (bandas entre los 37-50 kDa), proteínas de hemolinfa (10-20 kDa) y proteínas de cutículas (25-37 kDa), con la ausencia de miosina (220 kDa) y hemocianina (75 kDa). Esta ausencia podría deberse al procesamiento de los insectos para la obtención de la harina, la cual se obtuvo mediante cocimiento y deshidratado, de acuerdo con lo declarado por el proveedor. Montowska y colaboradores (2019) discutieron previamente que operaciones tecnológicas, como el calentamiento, puede llevar a la degradación proteica y consecuente desaparición de bandas, dependiendo de la intensidad del tratamiento. Esto podría indicar que la harina de grillo utilizada en el presente trabajo fue procesada bajo condiciones que favorecieron la degradación de ciertas proteínas. Por otro lado, tanto en la harina de grillo como en las demás muestras, se observó la presencia de sombreados en la parte inferior y superior de los carriles. Los sombreados en la parte inferior (<10 kDa) en el caso de la harina de grillo, podrían deberse a péptidos/hidrolizados de bajo peso molecular que resultaron de degradación proteolítica durante el procesamiento y/o almacenamiento de la harina, o una degradación catalizada por enzimas endógenas (Brogan *et al.*, 2021). En cambio, los sombreados intensos en la parte superior (>250 kDa) pueden deberse a agregados proteicos que se acumularon en los carriles como consecuencia de procesamiento de las muestras, como el calentamiento durante el cocimiento de las pastas (Montowska *et al.*, 2019).

En la mezcla de harina de trigo:sémola (**Figura 9, carril 2**) se observaron bandas predominantes entre los 25-40 kDa, así como bandas tenues entre los 15-20 kDa y > 50 kDa. Las proteínas del trigo han sido clasificadas desde hace años con base en su peso molecular. Proteínas con peso molecular >100 kDa se consideran principalmente gluteninas, entre 25-100 kDa incluyen a las gliadinas y gluteninas de bajo peso molecular, y proteínas <25 kDa se han clasificado como albuminas y globulinas (Li & Lee, 1996). De acuerdo con esto, la mezcla de harina de trigo: sémola mostró las bandas características de las proteínas del trigo. Posteriormente, al evaluar la distribución de pesos moleculares de las proteínas de la pasta de trigo sustituida con 20 % de harina de grillo y cocinada (**Figura 9, carril 3**), se obtuvo un patrón con las bandas que predominaron en

la mezcla de harina de trigo: sémola y, de forma tenue, las bandas características de la harina de grillo, tal como lo sugiere la literatura. El patrón de las bandas de la pasta de trigo control cocinada (**Figura 9, carril 4**) fue similar al de la mezcla de su harina, lo que podría indicar que el proceso por el que pasó la harina hasta la obtención de la pasta mantuvo la integridad de sus proteínas. No obstante, al evaluar el patrón electroforético de una pasta de trigo comercial cocinada (**Figura 9, carril 5**), las bandas características de las proteínas del trigo estuvieron ausentes casi por completo, lo que podría deberse a condiciones extremas durante su elaboración (temperaturas muy altas), como se explicó anteriormente (Montowska *et al.*, 2019).



**Figura 9.** Perfil electroforético de proteínas. M: marcador de peso molecular (kDa); 1: harina de grillo; 2: mezcla harina de trigo: sémola; 3: pasta de trigo sustituida con 20 % de harina de grillo cocinada; 4: pasta control de trigo cocinada; 5: pasta de trigo comercial cocinada.

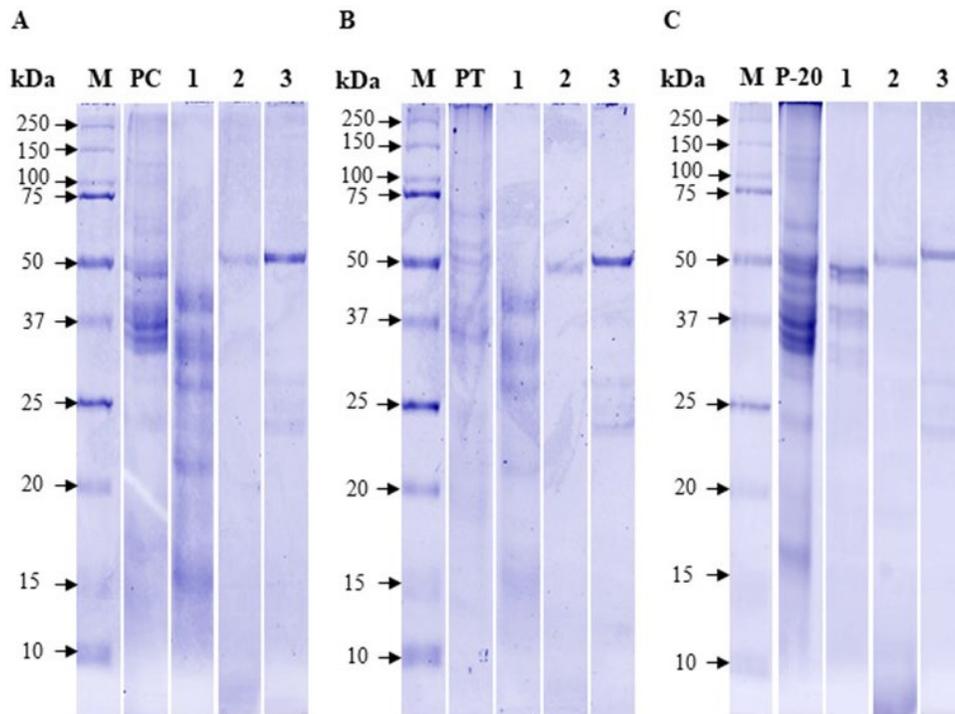
Los perfiles electroforéticos de proteínas de las pastas cocinadas a ebullición, antes y después de ser sometidas a una simulación de digestión gastrointestinal se muestran en la **Figura 10**. Al comparar los patrones de las bandas, se observa que las proteínas de las pastas fueron susceptibles a la degradación por las enzimas que participaron en el proceso ( $\alpha$ -amilasa, pepsina y pancreatina), tal como lo reportaron Bas y El (2022) en galletas elaboradas con harina de trigo sustituidas parcialmente con harina de *A. domesticus*. Por otra parte, para identificar a las enzimas que participaron en la simulación de digestión gastrointestinal, se corrieron blancos digestivos que contenían sólo  $\alpha$ -amilasa, pepsina y pancreatina (amilasa, lipasa, proteasa, quimotripsina, tripsina y ribonucleasa) en cada gel (**Figura 10, carriles 3**), las cuales generan bandas a 40-70, 35 y 10-50 kDa, respectivamente (Bas & El, 2022). Respecto a la pasta control de trigo (PC), antes del proceso de digestión simulada (**Figura 10A, PC**), se mostraron bandas bien definidas por arriba de los 30 kDa y bandas tenues entre los 15-20 kDa, como se describió anteriormente. Una vez que la muestra pasó por la fase oral y gástrica de la simulación de digestión gastrointestinal, permanecieron algunas bandas y aparecieron otras (**Figura 10A, 1**). Por ejemplo, se observó la presencia de bandas entre los 25-50 kDa, así como otras de alrededor de 22-15 kDa. Esta permanencia de bandas concuerda con lo mencionado por Bas y El (2022), quienes señalan que la harina de trigo, después de ser sometidas a digestión gástrica, es conocida por contener proteínas poco hidrolizables en esta fase. No obstante, una vez que la muestra pasó por la fase intestinal (**Figura 10A, 2**), la mayoría de las bandas desaparecieron, obteniendo sólo una banda alrededor de los 50 kDa posiblemente  $\alpha$ -amilasa y un sombreado por debajo de los 15 kDa, lo que podría indicar que la mayoría de las proteínas fueron hidrolizadas llevando a la formación de péptidos de bajo peso molecular y aminoácidos.

En el caso de la pasta de trigo comercial (PT) (**Figura 10B**), aunque las bandas de la muestra sin digerir (**Figura 10B, PT**) no fueron tan intensas como las de PC, se lograron distinguir las bandas características de las proteínas del trigo. Después, al pasar a la fase gástrica (**Figura 10B, 1**), permanecieron bandas alrededor de los ~40 kDa (posiblemente  $\alpha$ -amilasa), ~35 kDa (posiblemente pepsina), ~28 kDa, así como sombreados entre 20-25 kDa y < 20 kDa. Luego, en la fase intestinal (**Figura 10B, 2**), sólo se mostró una banda alrededor de los ~50 kDa, la cual podría deberse a la presencia de  $\alpha$ -amilasa, además de un sombreado < 15 kDa, indicando la formación de péptidos de bajo peso molecular y aminoácidos.

Por último, en el perfil electroforético de la pasta de trigo sustituida con 20 % de harina de grillo (P-20) (**Figura 10C**), se lograron apreciar patrones ligeramente diferentes al de las pastas de trigo (PC y PT). En P-20 sin digerir (**Figura 10B, P-20**), se observaron las distintas bandas de las proteínas de la mezcla de harina de trigo:sémola y del grillo, principalmente las que se distribuyen entre los 10 y 50 kDa, descritas anteriormente. Pasando a la fase gástrica (**Figura 10C, 1**), la mayoría de las bandas desaparecieron, permaneciendo sólo bandas alrededor de los ~50 kDa (posiblemente  $\alpha$ -amilasa), ~37 kDa (posiblemente pepsina), ~30 kDa y un sombreado < 15 kDa. Posteriormente, al evaluar el patrón de las proteínas resultantes de la fase intestinal (**Figura 10C, 2**), se observó sólo una banda alrededor de 50 kDa, la cual podría asociarse a la presencia de  $\alpha$ -amilasa, además de un sombreado más intenso < 10 kDa, indicando una vez más la formación de péptidos de bajo peso molecular y aminoácidos. Un comportamiento similar fue reportado por David-Birman y colaboradores (2018) en harina de grillo sometida a digestión gastrointestinal, y quienes observaron bandas de proteínas más claras después de la fase gástrica en comparación con las bandas de la fase intestinal. Asimismo, Calzada y colaboradores (2021) reportaron la formación de péptidos de bajo peso molecular (<4 kDa) y aminoácidos libres después de someter harina de grillo a hidrólisis enzimática (proteasas). De igual forma, Avilés-Gaxiola y colaboradores (2021) reportaron que, con base en los patrones electroforéticos de hojas de moringa sometidas a una simulación de digestión gastrointestinal, la mayoría de sus proteínas sufrieron hidrólisis debido a que las bandas características de sus proteínas desaparecieron.

Con base en los patrones observados de P-20 mediante la técnica de SDS-PAGE, particularmente del desvanecimiento de la mayoría de las bandas que presentó P-20 desde la fase gástrica, y la presencia de sombreados intensos < 15 kDa, se podría inferir que las proteínas de P-20 son más susceptibles a ser degradadas durante la simulación de la digestión, en comparación con las de PC y PT. Lo anterior podría ocasionar la formación de péptidos y aminoácidos en P-20 desde una etapa más temprana en el proceso de digestión en comparación con la pasta de trigo. Lo cual podría asociarse con una mayor digestibilidad de sus proteínas (Day *et al.*, 2022). Aunado a lo anterior, ha sido reportado que las proteínas contenidas en insectos, incluyendo las de grillos, son fuentes importantes de péptidos bioactivos, dentro de los cuales se encuentran aquellos con actividad antioxidante y actividad inhibitoria de enzimas asociadas al síndrome metabólico (enzima convertidora de angiotensina, lipasa, y  $\alpha$ -glucosidasa) (Hall *et al.*, 2018; Hall *et al.*, 2020; Zielińska

*et al.*, 2020). A partir de esto, la susceptibilidad a la degradación de las proteínas de P-20 podría estar favoreciendo la formación de péptidos potencialmente bioactivos, además de haber obtenido una pasta que es rica en proteína más digerible que la de trigo, y por lo tanto con mayor valor nutricional.



**Figura 10.** Perfil electroforético de proteínas de (A) PC, (B) PT y (C) P-20 cocinadas y sometidas a cocimiento y a simulación de digestión gastrointestinal. M: marcador de peso molecular (kDa); PC: pasta control de trigo sin someter a simulación de digestión gastrointestinal; PT: pasta comercial de trigo sin someter a simulación de digestión gastrointestinal; P-20: pasta de trigo sustituida con 20 % de harina de grillo sin someter a simulación de digestión gastrointestinal; 1: perfil de proteínas después de simulación de digestión gástrica; 2: perfil de proteínas después de simulación de digestión intestinal; 3: blanco de enzimas de simulación gastrointestinal ( $\alpha$ -amilasa, pepsina y pancreatina).

### 6.3.3. Digestibilidad de Proteína

Dentro de los principales factores que contribuyen a la calidad nutricional de una fuente proteica, además de la proporción de proteína en la materia y la abundancia de aminoácidos esenciales, es

su digestibilidad (Day *et al.*, 2022). En este sentido, se ha reportado que las proteínas de insectos son altamente digeribles, un poco menos que la de huevo y res (95 y 98 %, respectivamente), pero mayor que las vegetales como maíz, trigo y arroz (73, 81 y 66 %, respectivamente), por ejemplo, la proteína de *A. domesticus* presenta una digestibilidad del 83.9 % (Magara *et al.*, 2021; Ordoñez-Araque y Egas-Montenegro, 2021). No obstante, falta mucho por conocer sobre la digestibilidad de las proteínas de los alimentos que son enriquecidos con insectos comestibles.

Para que las proteínas puedan ser digeribles, los aminoácidos deben ser liberados en el intestino durante la digestión, ya sea en forma de aminoácidos libres u oligopéptidos, por la acción de las enzimas digestivas (Day *et al.*, 2022). Esta digestibilidad, o medida de que tan bien el cuerpo humano puede digerir las proteínas y absorber aminoácidos, puede medirse experimentalmente. En el **Cuadro 15** se muestra la digestibilidad de proteína de las pastas después de ser sometidas a la simulación de digestión gastrointestinal. La sustitución parcial del 20 % de la harina de trigo por harina de grillo resultó en un aumento en la digestibilidad de proteína, de 81.7 a 86.21 % para PC y P-20, respectivamente. Del mismo modo, P-20 presentó una mayor digestibilidad que PT ( $p<0.05$ ), lo que indica que la sustitución parcial del 20 % harina de trigo por harina de grillo en una pasta, no sólo resulta en un aumento en el contenido de proteína, sino que también resulta en una mayor digestibilidad. Estos resultados concuerdan con lo obtenido en el perfil de aminoácidos, en el que P-20 presentó mayor concentración de aminoácidos libres que PC y PT, tanto en las pastas antes de ser sometidas a la simulación de digestión gastrointestinal, como en los digestos obtenidos en las diferentes fases de la digestión (**Cuadro 11 y 12**), así como lo observado en los patrones electroforéticos (**Figura 10**).

**Cuadro 15.** Digestibilidad de proteína de pastas sometidas a simulación de digestión gastrointestinal.

Pasta	Digestibilidad (%)
PC	81.70 ± 0.36 <sup>a</sup>
PT	82.87 ± 0.61 <sup>b</sup>
P-20	86.21 ± 0.34 <sup>c</sup>

Media ± desviación estándar (n=3). PC: pasta control de trigo; PT: pasta de trigo comercial; P-20: pasta de trigo sustituida con 20 % de harina de grillo. Literales distintas indican diferencias significativas ( $p<0.05$ ) entre pastas.

Si bien la mayoría de los estudios de alimentos donde se incorporan insectos o sus harinas reportan la determinación del contenido de proteína, son muy pocos los que han evaluado su digestibilidad. Severini y colaboradores (2018) reportaron una disminución en la digestibilidad de proteína de snacks de trigo sustituidos hasta con 20 % de harina de gusano (*T. molitor*), de >85 a <80 % en el snack control y snack con gusano, respectivamente. Estos autores atribuyeron esta disminución de digestibilidad a que gran parte de los aminoácidos se encuentran enlazados a quitina y, por lo tanto, son difíciles de digerir. De forma similar, Azzollini y colaboradores (2018) reportaron la disminución en la digestibilidad de snacks de trigo sustituidos hasta con el 20 % de harina de gusano (*T. molitor*), de 90 % a 75 % en el snack control y snack sustituido con insecto, respectivamente. Los autores discutieron que esta disminución en la digestibilidad pudo deberse a una microestructura más compacta en el snack sustituido parcialmente con harina de insecto, llevando a una disminución en la accesibilidad de las enzimas. Un comportamiento opuesto se obtuvo en las pastas del presente trabajo, en las que la sustitución del mismo porcentaje de harina de insecto (20 %) resultó en una mayor digestibilidad, con respecto a una pasta sin sustitución. Por lo tanto, se podría inferir que la incorporación de harina de grillo en las pastas elaboradas no tuvo un efecto negativo sobre la microestructura que impidiera la accesibilidad de las enzimas digestivas, o bien, que hay una mayor proporción de aminoácidos libres que los que se encuentran enlazados a quitina.

Por otro lado, Bas y El (2022) reemplazaron el 20 % de harina de trigo por harina de grillo (*A. domesticus*) en galletas. Estos autores reportaron un aumento en la digestibilidad de las galletas sustituidas con grillo, de 26.47 a 45.19 % en la galleta control y la galleta con insecto, respectivamente. Aunque los valores de digestibilidad de las pastas del presente trabajo también aumentaron con la sustitución de grillo, los valores reportados por Bas y El (2022) son considerablemente menores, lo cual podría deberse a la presencia de aminoácidos enlazados a azúcares y quitina como resultado de reacciones de Maillard (glicación). Otros factores que podrían dificultar la comparación entre los resultados son las diferencias entre las metodologías de simulación de digestión gastrointestinal, como las enzimas utilizadas, los tiempos de digestión y el método para calcular la digestibilidad, como lo discuten estos autores.

### 6.3.4. Capacidad Antioxidante

Los resultados de la capacidad antioxidante de las materias primas y de las pastas elaboradas se muestran en el **Cuadro 16**. La harina de grillo presentó una mayor capacidad antioxidante medida por los métodos de TEAC, DPPH y ORAC, con respecto a la harina de trigo ( $p < 0.05$ ). Previamente se ha reportado que la capacidad antioxidante del trigo se debe a la presencia de compuestos fenólicos, como ácidos ferúlico, *p*-cumárico, cafeico y vanílico, entre otros, los cuales se encuentran principalmente en las fracciones más externas del grano (salvado y germen) (Van Hung, 2016). En el caso de la capacidad antioxidante de extractos de harina de insectos, incluyendo a la de *A. domesticus*, ésta se atribuye a la presencia de compuestos fenólicos y a las proteínas (Navarro *et al.*, 2020). Es por esto que, una mayor capacidad antioxidante de la harina de grillo se podría deber a su alto contenido de proteína y que, debido a que la harina de trigo se obtiene principalmente del endospermo, y no del salvado y germen, una gran proporción de los compuestos antioxidantes no se encuentra presente en ella.

**Cuadro 16.** Capacidad antioxidante de harinas y pastas (mg ET/g PS).

Muestra	TEAC	DPPH	ORAC
<b>Harina</b>			
Harina trigo-sémola (1:1)	0.26 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.40 ± 0.02 <sup>a</sup>	7.85 ± 0.11 <sup>a</sup>
Harina de grillo	2.01 ± 0.10 <sup>b</sup>	3.06 ± 0.29 <sup>b</sup>	19.35 ± 0.20 <sup>b</sup>
<b>Pastas</b>			
PC	0.34 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.42 ± 0.03 <sup>a</sup>	4.54 ± 0.08 <sup>a</sup>
PT	0.28 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.43 ± 0.03 <sup>a</sup>	6.83 ± 0.19 <sup>b</sup>
P-20	1.20 ± 0.19 <sup>b</sup>	0.83 ± 0.12 <sup>b</sup>	8.96 ± 0.07 <sup>c</sup>

Media ± desviación estándar (n=3). mg ET/g PS: mg equivalentes Trolox/g peso seco. PC: pasta control de trigo; PT: pasta de trigo comercial; P-20: pasta de trigo sustituida con 20 % de harina de grillo. Literales distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre muestras.

Se han realizado extractos acuosos de harina de *A. domesticus* reportándose valores de capacidad antioxidante mediante el método de DPPH de 2.82 mg ET/g (Lucas-González *et al.*, 2019) y por el de TEAC de 1.26 mg ET/g (Botella-Martínez *et al.*, 2020), los cuales fueron similares a los

obtenidos en el presente estudio, mientras que por el método de ORAC se han reportado valores de alrededor de 74 mg ET/g (David-Birman *et al.*, 2018), valor superior al obtenido en este trabajo. Esta diferencia podría deberse al tratamiento térmico aplicado en el procesamiento de las harinas, ya que se ha reportado que el calentamiento modifica las estructuras terciarias y cuaternarias de las proteínas, modificando así también su capacidad antioxidante (Botella-Martínez *et al.*, 2020). En el caso de la harina de trigo, se han reportado valores de capacidad antioxidante por el método de DPPH de 0.100 mg ET/g y por el de TEAC de 0.175 mg ET/g (Malunga & Beta, 2015), similares también a los obtenidos en este estudio, mientras que por ORAC se han reportado valores de 30 mg ET/g (Rocchetti *et al.*, 2017).

Al comparar los resultados de la capacidad antioxidante de las pastas elaboradas (**Cuadro 16**), P-20 presentó una mayor capacidad antioxidante, medida por los tres métodos, con respecto a PC y PT ( $p < 0.05$ ), indicando que la incorporación de harina de grillo en las pastas aumenta la capacidad antioxidante de los productos. Resultados similares han sido reportados en otros alimentos sustituidos parcialmente con harina de insectos. Nissen y colaboradores (2020) incorporaron harina de grillo (especie y cantidad no especificada) en panes de masa madre libre de gluten, y quienes reportaron que la harina de grillo incrementó significativamente la capacidad antioxidante de los productos, medidos por los métodos de DPPH y TEAC. De forma similar, Zielińska & Pankiewicz (2020) sustituyeron hasta el 10 % de harina de trigo por harina de gusano (*T. molitor*) en galletas, reportando un incremento significativo de la capacidad antioxidante, medida por el método de DPPH y TEAC, en las galletas con insecto. Estos autores atribuyeron este efecto a la alta presencia de proteína, la cual contiene aminoácidos o péptidos capaces de donar electrones y neutralizar radicales libres. Asimismo, Zielińska y colaboradores (2021) sustituyeron hasta el 10 % de harina de trigo por harina de gusano (*T. molitor*) y grillo (*G. sigillatus*) en panqués. Estos autores reportaron que, los panqués con insecto presentaron mayor capacidad antioxidante que el panqué control, al ser cuantificadas por los métodos de DPPH y TEAC, y que podría deberse a la presencia de compuestos fenólicos, ya que encontraron una correlación positiva entre el contenido de compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante de los productos. Posteriormente, se evaluó la capacidad antioxidante de los productos de digestión de las pastas, obtenidos tras la simulación de digestión gastrointestinal (**Cuadro 17**).

**Cuadro 17.** Capacidad antioxidante de productos de digestión de pastas sometidas a simulación de digestión gastrointestinal (mg ET/g PS).

Muestra	TEAC	DPPH	ORAC
Fase gástrica			
PC	0.75 ± 0.10 <sup>a</sup>	3.22 ± 0.33 <sup>b</sup>	5.19 ± 0.09 <sup>a</sup>
PT	1.15 ± 0.10 <sup>b</sup>	4.08 ± 0.34 <sup>c</sup>	5.79 ± 0.21 <sup>b</sup>
P-20	1.71 ± 0.10 <sup>c</sup>	2.30 ± 0.02 <sup>a</sup>	11.43 ± 0.20 <sup>c</sup>
Fase intestinal			
PC	3.72 ± 0.22 <sup>a</sup>	1.09 ± 0.12 <sup>ab</sup>	4.29 ± 0.29 <sup>a</sup>
PT	3.30 ± 0.22 <sup>a</sup>	1.35 ± 0.13 <sup>b</sup>	5.15 ± 0.39 <sup>b</sup>
P-20	5.57 ± 0.40 <sup>b</sup>	0.96 ± 0.05 <sup>a</sup>	5.89 ± 0.06 <sup>c</sup>
Fracción bioaccesible (absorbida)			
PC	0.50 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.24 ± 0.00 <sup>ab</sup>	6.06 ± 0.31 <sup>b</sup>
PT	0.35 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.21 ± 0.02 <sup>a</sup>	4.38 ± 0.00 <sup>a</sup>
P-20	1.38 ± 0.12 <sup>b</sup>	0.30 ± 0.04 <sup>b</sup>	12.34 ± 0.00 <sup>c</sup>
Fracción no bioaccesible (no absorbida)			
PC	1.18 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.52 ± 0.03 <sup>c</sup>	7.25 ± 0.07 <sup>b</sup>
PT	2.11 ± 0.12 <sup>b</sup>	0.12 ± 0.00 <sup>a</sup>	6.67 ± 0.09 <sup>a</sup>
P-20	3.34 ± 0.42 <sup>c</sup>	0.17 ± 0.01 <sup>b</sup>	7.90 ± 0.05 <sup>c</sup>

Media ± desviación estándar (n=3). mg ET/g PS: mg equivalentes Trolox/g peso seco. PC: pasta control de trigo; PT: pasta de trigo comercial; P-20: pasta de trigo sustituida con 20 % de harina de grillo. Literales distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre muestras.

La capacidad antioxidante de los productos de digestión de la fase gástrica e intestinal, así como de las fracciones bioaccesibles y no bioaccesibles de P-20, fue mayor que la de PC y PT ( $p < 0.05$ ) cuando fueron medidas por los métodos de TEAC y ORAC (**Cuadro 17**). Resultados similares fueron reportados por Gaglio y colaboradores (2021), quienes observaron que la capacidad antioxidante, medida por el método de TEAC, de panes de trigo sustituidos con 10 % de harina de gusano fue mayor que la de un pan control, después de ser sometidos a una simulación de digestión gastrointestinal. Además, estos autores mencionaron que la hidrólisis enzimática de las proteínas de insecto pudo haber llevado a la formación de péptidos con alta capacidad reductora, resultando en una mayor capacidad antioxidante. Si bien la información sobre capacidad antioxidante de productos de digestión de alimentos sustituidos con harinas de insectos es muy escasa, es reconocido que péptidos con capacidad antioxidante son liberados de las proteínas de harinas de

insectos durante procesos de digestión *in vitro* (Zielinska *et al.*, 2017), lo cual también se esperaría que ocurriera en los alimentos en los que son incorporadas estas harinas.

Por otro lado, los resultados obtenidos por el método de DPPH, mostraron que la capacidad antioxidante de P-20 fue igual o menor que las de PC y PT (**Cuadro 17**). Esto podría deberse a que, a pesar de que los métodos de TEAC y DPPH miden la capacidad de compuestos antioxidantes a donar H<sup>+</sup> a los radicales libres de ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup>, se ha reportado que el ensayo de TEAC es más sensible para la evaluación de la actividad antioxidante de péptidos y aminoácidos en comparación con el ensayo de DPPH (Anuduang *et al.*, 2020). Con base en esto se podría inferir que, la capacidad antioxidante de los productos de digestión de las pastas pudiera estar siendo subestimada cuando se utiliza el método de DPPH para su cuantificación.

### **6.3.5. Efecto sobre Enzimas Digestivas de Carbohidratos**

Las proteínas de insectos son fuente de péptidos bioactivos, los cuales son liberados por hidrólisis enzimática, y han mostrado diferentes actividades biológicas como antidiabéticas, antioxidantes, antihipertensivas y antiinflamatorias (Hall *et al.*, 2020; Zielinska *et al.*, 2017; Zielińska *et al.*, 2020). En este contexto, Hall y colaboradores (2020) identificaron péptidos bioactivos derivados de la digestión *in vitro* de hidrolizados proteicos de grillo (*G. sigillatus*). Los péptidos identificados demostraron actividad inhibitoria *in vitro* de la  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa. De manera similar, Zielińska y colaboradores (2020) evaluaron péptidos a partir de hidrolizados proteicos de harina de gusano (*T. molitor*), langosta (*S. gregaria*) y grillo (*G. sigillatus*). Estos autores reportaron que los péptidos obtenidos como resultado de la digestión de proteínas bajo condiciones gastrointestinales también presentaron la habilidad para inhibir a  $\alpha$ -glucosidasa, concluyendo que estos péptidos pueden tener un valor nutracéutico, y potencialmente ejercer un efecto benéfico en la salud de los consumidores cuando son incorporados como ingredientes. Por tal motivo, se evaluaron los productos de digestión de la pasta de trigo sustituida con 20 % de harina de grillo (P-20), y poder comprobar si estos tienen la habilidad de inhibir a  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa. Los resultados se muestran en el **Cuadro 18**.

**Cuadro 18.** Valores de IC<sub>50</sub> para inhibición de  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa por los productos de digestión de pasta de trigo sustituida con 20 % de harina de grillo (P-20).

Muestra	$\alpha$ -amilasa ( $\mu\text{g/mL}$ )	$\alpha$ -glucosidasa ( $\mu\text{g/mL}$ )
P-20	>3000	>3000

IC<sub>50</sub>: Concentración de muestra requerida para inhibir el 50 % de la actividad enzimática (n=3).

Los valores de IC<sub>50</sub> para la inhibición tanto de  $\alpha$ -amilasa como para  $\alpha$ -glucosidasa por los productos de digestión de P-20, fueron superiores a los 3000  $\mu\text{g/mL}$ , sugiriendo que no existió un efecto inhibitorio que fuera posible cuantificar. Hall y colaboradores (2020) reportaron que péptidos obtenidos de la digestión *in vitro* de hidrolizados proteicos de grillo (*G. sigillatus*), presentaron valores de IC<sub>50</sub> de 18.537 y <14  $\mu\text{g/mL}$  para  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa, respectivamente. Cabe resaltar que los valores reportados por estos autores son resultado de extractos de proteínas aisladas y purificadas, mientras los digestos que fueron evaluados en este estudio comprenden una mezcla de compuestos obtenidos de la digestión de una matriz alimentaria compleja. Esto podría haber dificultado que los péptidos obtenidos tras la simulación de digestión gastrointestinal ejercieran su potencial efecto sobre  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa. Para nuestro conocimiento, aún no se encuentran trabajos en la literatura que prueben la inhibición de enzimas digestivas de carbohidratos por los productos de digestión de alimentos sustituidos con harina de insectos, por lo que estos resultados sirven como base para futuros estudios.

## 7. CONCLUSIONES

Las pastas de trigo pueden ser sustituidas parcialmente con 20, 25 y 30 % de harina de grillo (*A. domesticus*) para obtener productos con mejor perfil nutricional, al aumentar el contenido de proteína, lípidos, minerales y fibra, mientras que se reduce el contenido de carbohidratos. Por otro lado, la incorporación de la harina de grillo en las pastas resultó en la disminución de la capacidad de hinchamiento y el aumento de la absorción de aceite. No obstante, sustituir hasta con un 20 % de harina de grillo permitió mantener la aceptabilidad sensorial de la pasta por parte de los consumidores, mantener una firmeza igual a la de una pasta comercial y de color oscuro similar al de una pasta integral. Asimismo, la sustitución con 20 % de harina de grillo en una pasta de trigo, permitió la obtención de un alimento con una mayor digestibilidad de proteína, con mayor aporte de aminoácidos esenciales y capacidad antioxidante antes y después de simular su digestión gastrointestinal.

Todos estos resultados en conjunto sugieren que la sustitución parcial con harina de grillo a una matriz alimentaria, como en la elaboración de pastas, permite mejorar significativamente distintos aspectos como las propiedades tecnofuncionales, responsables en gran parte de la calidad general de las pastas. Sin embargo, lo más importante es que la sustitución parcial con harina de grillo incrementa significativamente la bioaccesibilidad de ciertos nutrientes, en especial alguno péptidos con posible actividad biológica, los cuales permitirían conferir una mejor calidad biológica a la proteína de la harina de la pasta original, y así obtener pastas con una mejor calidad nutricional. Debido a lo anterior, existen elementos para sugerir el uso de harina de grillo para aditivar harinas de trigo utilizadas para la preparación de pastas. Es el primer trabajo de acuerdo con la revisión bibliográfica realizada, donde se lleva a cabo una digestión simulada en una pasta sustituida parcialmente con harina de grillo, obteniéndose buenos resultados en cuanto a mayor bioaccesibilidad y digestibilidad de proteína de las pastas estudiadas.

## 8. RECOMENDACIONES

Los resultados del presente estudio indican que la incorporación de harina de grillo en alimentos altamente consumidos, como las pastas, resulta en la mejora del perfil nutricional, sin embargo, mayores estudios se requieren para evaluar los potenciales efectos benéficos en la salud de los consumidores, como pruebas *in vivo*. Por ejemplo, aunque no fue posible identificar un efecto inhibitorio sobre las enzimas de digestión de carbohidratos mediante las metodologías empeladas, otras pruebas pueden ser implementadas, como la determinación del índice glicémico de las pastas, y poder brindar información a consumidores que padecen enfermedades como la diabetes u obesidad. Asimismo, la escasa información que se encuentra en la literatura sobre alimentos adicionados con harina de insectos y su evaluación tras la simulación de digestión gastrointestinal, limitó la comparación con los resultados del presente estudio, por lo que se alienta a que se realicen más trabajos de este tipo y que permitan hacer declaraciones en los aspectos evaluados.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta-Estrada, B., Reyes, A., Rosell, C., Rodrigo, D., y Ibarra-Herrera, C. 2021. Benefits and challenges in the incorporation of insects in food products. *Frontiers in Nutrition*. 8.
- Alviola, J. y Monterde, V. 2018. Physicochemical and functional properties of wheat (*Triticum aestivum*) and selected local flours in the Philippines. *Philippine Journal of Science*. 147(3): 419–430.
- Anuduang, A., Ying, Y., Jomduang, S., Lim, S., y Wan, W. 2020. Effect of thermal processing on physico-chemical and antioxidant properties in mulberry silkworm. *Foods*. 9(871).
- Avendaño, C., Sánchez, M. y Valenzuela, C. 2020. Insectos: son realmente una alternativa para la alimentación de animales y humanos. *Revista Chilena de Nutrición*. 47(6):1029–1037.
- Avilés-Gaxiola, S., León-Félix, J., Jiménez-Nevárez, Y., Angulo-Escalante, M., Ramos-Payán, R., Colado-Velázquez, J. y Heredia, J. 2021. Antioxidant and anti-inflammatory properties of novel peptides from *Moringa oleifera* Lam. leaves. *South African Journal of Botany*. 141.
- Azzollini, D., Derossi, A., Fogliano, V., Lakemond, C. y Severini, C. 2018. Effects of formulation and process conditions on microstructure, texture, and digestibility of extruded insect-riched snacks. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 45:344–353.
- Bas, A. y El, S. 2022. Nutritional evaluation of biscuits enriched with cricket flour (*Acheta domestica*). *International Journal of Gastronomy and Food Science*. 29.
- Biró, B., Fodor, R., Szedljak, I., Pásztor-Huszár, K. y Gere, A. 2019. Buckwheat-pasta enriched with silkworm powder: Technological analysis and sensory evaluation. *LWT - Food Science and Technology*. 116.
- Botella-Martínez, C., Lucas-González, R., Fernández-López, J. y Viuda-Martos, M. 2020. Assessment of chemical composition and antioxidant properties of defatted flours obtained from several edible insects. *Food Science and Technology International*. 27(5):383–391.
- Bresciani, A., Pagani, M. y Marti, A. 2022. Pasta-making process: a narrative review on the relation between process variables and pasta quality. *Foods*, 11(3).
- Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., ... Recio, I. 2019. INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*. 14(4):991–1014.
- Brogan, E., Park, Y., Matak, K. y Jaczynski, J. 2021. Characterization of protein in cricket (*Acheta domestica*), locust (*Locusta migratoria*), and silkworm pupae (*Bombyx mori*) insect powders. *LWT*. 152.
- Çabuk, B. y Yılmaz, B. 2020. Fortification of traditional egg pasta (erişte) with edible insects: nutritional quality, cooking properties and sensory characteristics evaluation. *Journal of Food Science and Technology*. 57(7):2750–2757.
- Calzada, G., Martin-Gonzalez, F., Mauer, L. y Liceaga, A. 2021. Cricket (*Acheta domestica*) protein hydrolysates impact on the physicochemical, structural, and sensory properties of

- tortillas and tortilla chips. *Journal of Insects as Food and Feed*. 7(1), 109–120.
- Candiano, G., Bruschi, M., Musante, L., Santucci, L., Ghiggeri, G., Carnemolla, B., Orecchia, P., Zardi, L. y Righetti, P. 2004. Blue silver: A very sensitive colloidal Coomassie G-250 staining for proteome analysis. *Electrophoresis*. 25:1327–1333.
- Cappelli, A., Oliva, N., Bonaccorsi, G., Lorini, C. y Cini, E. 2020. Assessment of the rheological properties and bread characteristics obtained by innovative protein sources (*Cicer arietinum*, *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor*): Novel food or potential improvers for wheat flour? *LWT - Food Science and Technology*. 118.
- Caspary, W. 1992. Physiology and pathophysiology of intestinal. *Am J Clin Nutr*. 55:299–308.
- Castro, M., Chambers, E., Carbonell-Barrachina, A., Noguera, L., Vidal, R. y Burgos, A. 2020. Consumer acceptability in the USA, Mexico, and Spain of chocolate chip cookies made with partial insect powder replacement. *Journal of Food Science*. 85(6):1621–1628.
- Chakravorty, J., Ghosh, S., Megu, K., Jung, C. y Meyer-Rochow, V. 2016. Nutritional and anti-nutritional composition of *Oecophylla smaragdina* (*Hymenoptera: Formicidae*) and *Odontotermes* sp. (*Isoptera: Termitidae*): Two preferred edible insects of Arunachal Pradesh, India. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 19(3):711–720.
- Chandra, S. y Samsher. 2013. Assessment of functional properties of composite flours. *African Journal of Food Agriculture Research*. 8(38):4849–4852.
- Chen, G., Ehmke, L., Miller, R., Faa, P., Smith, G. y Li, Y. 2018. Effect of sodium chloride and sodium bicarbonate on the physicochemical properties of soft wheat flour doughs and gluten polymerization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 66(26):6840–6850.
- Chinaza, A., Victory, I. y Chinelo, E. 2019. The functional properties of foods and flours. *International Journal of Advanced Academic Research Sciences*. 5(11):2488–9849.
- D’Antonio, V., Battista, N., Sacchetti, G., Di Mattia, C. y Serafini, M. 2021. Functional properties of edible insects: A systematic review. *Nutrition Research Reviews*.
- D’Antonio, Veronica, Serafini, M. y Battista, N. 2021. Dietary modulation of oxidative stress from edible insects: a mini review. *Frontiers in Nutrition*. 8:1–7.
- da Rosa, C. y Thys, R. 2019. Cricket powder (*Gryllus assimilis*) as a new alternative protein source for gluten-free breads. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 56.
- David-Birman, T., Raften, G. y Lesmes, U. 2018. Effects of thermal treatments on the colloidal properties, antioxidant capacity and *in-vitro* proteolytic degradation of cricket flour. *Food Hydrocolloids*. 79:48–54.
- Day, L., Cakebread, J. y Loveday, S. 2022. Food proteins from animals and plants: Differences in the nutritional and functional properties. *Trends in Food Science and Technology*. 119:428–442.
- del Rosario, R. y Flores, D. 1981. Functional properties of four types of mung bean flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 32:175–180.
- Di Mattia, C., Battista, N., Sacchetti, G. y Serafini, M. 2019. Antioxidant activities *in vitro* of water and liposoluble extracts obtained by different species of edible insects and invertebrates. *Frontiers in Nutrition*. 6:1–7.
- Duda, A., Adamczak, J., Chelminska, P., Juskiewicz, J. y Kowalczewski, P. 2019. Quality and

nutritional/textural properties of durum wheat pasta enriched with cricket powder. *Foods*. 8(2):1–10.

- European Commission. (2023). Nutrition claims. European Commission for Health and Food safety. Recuperado de [https://food.ec.europa.eu/safety/labelling-and-nutrition/nutrition-and-health-claims/nutrition-claims\\_en#:~:text=HIGH%20FIBRE,of%20fibre%20per%20100%20kcal](https://food.ec.europa.eu/safety/labelling-and-nutrition/nutrition-and-health-claims/nutrition-claims_en#:~:text=HIGH%20FIBRE,of%20fibre%20per%20100%20kcal).
- Faurobert, M., Pelpoir, E. y Chaïb, J. 2007. Phenol extraction of proteins for proteomic studies of recalcitrant plant tissues. En: H. Thiellement, M. Zivy, C. Damerval y V. Méchin (eds.), *Methods in molecular biology*. Humana Press Inc. 9–14 pp.
- Fernandez-Cassi, X., Supeanu, A., Vaga, M., Jansson, A., Boqvist, S. y Vagsholm, I. 2019. The house cricket (*Acheta domestica*) as a novel food: A risk profile. *Journal of Insects as Food and Feed*. 5(2):137–157.
- Foschi, M., D’Addario, A., Antonio D’Archivio, A. y Biancolillo, A. 2022. Future foods protection: Supervised chemometric approaches for the determination of adulterated insect’s flours for human consumption by means of ATR-FTIR spectroscopy. *Microchemical Journal*. 183.
- Gaglio, R., Barbera, M., Tesoriere, L., Osimani, A., Busetta, G., Matraxia, M., Attanzio, A., Restivo, I., Aquilanti, L. y Settanni, L. 2021. Sourdough “ciabatta” bread enriched with powdered insects: Physicochemical, microbiological, and simulated intestinal digesta functional properties. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 72.
- García-Gutiérrez, N., Mellado-Carretero, J., Bengoa, C., Salvador, A., Sanz, T., Wang, J., Ferrando, M., Güell, C. y de Lamo-Castellví, S. 2021. ATR-FTIR spectroscopy combined with multivariate analysis successfully discriminates raw doughs and baked 3D-printed snacks enriched with edible insect powder. *Foods*. 10(8).
- Gere, A., Radványi, D. y Héberger, K. 2019. Which insect species can best be proposed for human consumption? *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 52:358–367.
- Ghosh, S., Lee, S., Jung, C. y Meyer-Rochow, V. 2017. Nutritional composition of five commercial edible insects in South Korea. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 20(2):686–694.
- González, C, Garzón, R. y Rosell, C. 2019. Insects as ingredients for bakery goods. A comparison study of *H. illucens*, *A. domestica* and *T. molitor* flours. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 51:205–210.
- Govorushko, S. 2019. Global status of insects as food and feed source: A review. *Trends in Food Science and Technology*. 91:436–445.
- Gravel, A. y Doyen, A. 2020. The use of edible insect proteins in food: Challenges and issues related to their functional properties. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 59.
- Haber, M., Mishyna, M., Martinez, J. y Benjamin, O. 2019. The influence of grasshopper (*Schistocerca gregaria*) powder enrichment on bread nutritional and sensorial properties. *LWT - Food Science and Technology*, 115.
- Hall, F., Johnson, P. y Liceaga, A. 2018. Effect of enzymatic hydrolysis on bioactive properties and allergenicity of cricket (*Grylloides sigillatus*) protein. *Food Chemistry*. 262:39–47.
- Hall, F., Reddivari, L. y Liceaga, A. 2020. Peptides on hypertensive and glycemic in vitro.

Nutrients. 12.

- Herrera, P. 2015. Caracterización tecno-funcional del extracto proteico del salvado de arroz. Escuela Superior Politécnica del Litoral.
- Igual, M., García-Segovia, P. y Martínez-Monzó, J. 2020. Effect of *Acheta domesticus* (house cricket) addition on protein content, color, texture, and extrusion parameters of extruded products. *Journal of Food Engineering*. 282.
- Igual, M., García-Segovia, P. y Martínez-Monzó, J. 2021. Amino acids release from enriched bread with edible insect or pea protein during in vitro gastrointestinal digestion. *International Journal of Gastronomy and Food Science*. 24.
- Imathiu, S. 2020. Benefits and food safety concerns associated with consumption of edible insects. *NFS Journal*. 18:1–11.
- Indrayanto, G. y Rohman, A. 2020. The use of FTIR spectroscopy combined with multivariate analysis in food composition analysis. En A. Shukla (ed.). *Spectropic Techniques & Artificial Intelligence for Food*. Springer. 25–51 pp.
- Islas-Rubio, A., Calderón de la Barca, A., Cabrera-Chávez, F., Cota-Gastélum, A. y Beta, T. 2014. Effect of semolina replacement with a raw: popped amaranth flour blend on cooking quality and texture of pasta. *LWT - Food Science and Technology*. 57(1):217–222.
- Jakab, I., Tormási, J., Dhaygude, V., Mednyánszky, Z., Sipos, L. y Szedljak, I. 2020. Cricket flour-laden millet flour blends' physical and chemical composition and adaptation in dried pasta products. *Acta Alimentaria*. 49(1):4–12.
- Kim, H., Setyabrata, D., Lee, Y., Jones, O. y Kim, Y. 2017. Effect of house cricket (*Acheta domesticus*) flour addition on physicochemical and textural properties of meat emulsion under various formulations. *Journal of Food Science*. 82(12):2787–2793.
- Kowalski, S., Mikulec, A., Mickowska, B., Skotnicka, M. y Mazurek, A. 2022. Wheat bread supplementation with various edible insect flours. Influence of chemical composition on nutritional and technological aspects. *LWT*. 159.
- Laemmli, U. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature Publishing Group*. 227:680–685.
- Li, M. y Lee, T. 1996. Effect of extrusion temperature on solubility and molecular weight distribution of wheat flour proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44(3):763–768.
- Lonergan, S., Topel, D. y Marple, D. 2019. *The Science of Animal Growth and Meat Technology*. Elsevier Inc. (2da ed.).
- Lucas-González, R., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. y Viuda-Martos, M. 2019. Effect of drying processes in the chemical, physico-chemical, techno-functional and antioxidant properties of flours obtained from house cricket (*Acheta domesticus*). *European Food Research and Technology*. 245(7):1451–1458.
- Magara, H., Niassy, S., Ayieko, M., Mukundamago, M., Egonyu, J., Tanga, C., Kimathi, E., Ongere, J., Fiaboe, K., Hugel, S., Orinda, M., Roos, N. y Ekesi, S. 2021. Edible crickets (orthoptera) around the world: distribution, nutritional value, and other benefits - A review. *Frontiers in Nutrition*. 7.

- Malunga, L. y Beta, T. 2015. Antioxidant capacity of water-extractable arabinoxylan from commercial barley, wheat, and wheat fractions. *Cereal Chemistry*. 92(1):29–36.
- Montowska, M., Kowalczewski, P., Rybicka, I. y Fornal, E. 2019. Nutritional value, protein, and peptide composition of edible cricket powders. *Food Chemistry*. 289(2018):130–138.
- Navarro, J., Gutiérrez-Docio, A., Otero, P., Reglero, G. y Martín, D. 2020. Characterization, antioxidant activity, and inhibitory effect on pancreatic lipase of extracts from the edible insects *Acheta domesticus* and *Tenebrio molitor*. *Food Chemistry*. 309.
- Nissen, L., Parya, S., Babini, E. y Gianotti, A. 2020. Gluten free sourdough bread enriched with cricket flour for protein fortification: antioxidant improvement and volatilome characterization. *Food Chemistry*. 333.
- Nowak, V., Persijn, D., Rittenschober, D. y Charrondiere, U. 2016. Review of food composition data for edible insects. *Food Chemistry*. 193:39–46.
- Ojha, S., Bekhit, A., Grune, T. y Schlüter, O. 2021. Bioavailability of nutrients from edible insects. *Current Opinion in Food Science*. 41:240–248.
- Olatunde, G., Henshaw, F., Idowu, M. y Tomlins, K. 2015. Quality attributes of sweet potato flour as influenced by variety, pretreatment, and drying method. *Food Science & Nutrition*. 4(4): 623–635.
- Ordoñez-Araque, R. y Egas-Montenegro, E. 2021. Edible insects: A food alternative for the sustainable development of the planet. *International Journal of Gastronomy and Food Science*. 23.
- Osimani, A., Milanović, V., Cardinali, F., Roncolini, A., Garofalo, C., Clementi, F., Pasquini, M., Mozzon, M., Foligni, R., Raffaelli, N., Zamporlini, F. y Aquilanti, L. 2018. Bread enriched with cricket powder (*Acheta domesticus*): A technological, microbiological, and nutritional evaluation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 48:150–163.
- Pasini, G., Cullere, M., Vegro, M., Simonato, B. y Dalle Zotte, A. 2022. Potentiality of protein fractions from the house cricket (*Acheta domesticus*) and yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) for pasta formulation. *LWT - Food Science and Technology*.
- Paul, A., Frederich, M., Uyttenbroeck, R., Malik, P., Filocco, S., Richel, A., Heuskin, S., Caparros, R., Franck, T., Bindelle, J., Maesen, P., Francis, F., Lognay, G., Blecker, C., Haubruge, E. y Danthine, S. 2016. Journal of Asia-Pacific Entomology Nutritional composition and rearing potential of the meadow grasshopper (*Chorthippus parallelus Zetterstedt*). *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 19:1111–1116.
- Perez-Moral, N., Saha, S., Pinto, A., Bajka, B. y Edwards, C. 2023. *In vitro* protein bioaccessibility and human serum amino acid responses to white bread enriched with intact plant cells. *Food Chemistry*. 404.
- Prior, R., Hoang, H., Gu, L., Wu, X., Bacchiocca, M., Howard, L., Hampsch-Woodill, M., Huang, D., Ou, B. y Jacob, R. 2003. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC FL)) of plasma and other biological and food samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51:3273–3279.
- Raheem, D., Raposo, A., Oluwole, O., Nieuwland, M., Saraiva, A. y Carrascosa, C. 2019. Entomophagy: Nutritional, ecological, safety and legislation aspects. *Food Research International*. 126:1–19.

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. y Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant Activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26(10):1231–1237.
- Ribeiro, J., Lima, R., Maia, M., Almeida, A., Fonseca, A., Cabrita, A. y Cunha, L. 2019. Impact of defatting freeze-dried edible crickets (*Acheta domesticus* and *Grylloides sigillatus*) on the nutritive value, overall liking, and sensory profile of cereal bars. *LWT - Food Science and Technology*. 113.
- Rocchetti, G., Chiodelli, G., Giuberti, G., Masoero, F., Trevisan, M. y Lucini, L. 2017. Evaluation of phenolic profile and antioxidant capacity in gluten-free flours. *Food Chemistry*. 228:367–373.
- Romano, A., Ferranti, P., Gallo, V. y Masi, P. 2021. New ingredients and alternatives to durum wheat semolina for a high-quality dried pasta. *Current Opinion in Food Science*. 41:249–259.
- Serafini, M. 2022. Edible Insects: From farm to fork. *Frontiers in Nutrition*. 9.
- Severini, C., Azzollini, D., Albenzio, M. y Derossi, A. 2018. On printability, quality and nutritional properties of 3D printed cereal based snacks enriched with edible insects. *Food Research International*. 106:666–676.
- Shen, W. y Matsui, T. 2017. Current knowledge of intestinal absorption of bioactive peptides. *Food and Function*. 8(12):4306–4314.
- Sindhu, R. y Singh, B. 2016. Physicochemical and thermal properties of amaranth (*Amaranthus Hypochondriacus*) flour. *The Journal Of Science & Technoledge*. 4(6):104–109.
- Singh, Y., Cullere, M., Kovitvadhi, A., Chundang, P. y Dalle Zotte, A. 2020. Effect of different killing methods on physicochemical traits, nutritional characteristics, *in vitro* human digestibility, and oxidative stability during storage of the house cricket (*Acheta domesticus* L.). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 65.
- Smarzyński, K., Sarbak, P., Kowalczewski, P., Różańska, M., Rybicka, I., Polanowska, K., Fedko, M., Kmiecik, D., Masewicz, Ł., Nowicki, M., Lewandowicz, J., Jezowski, P., Kačániová, M., Ślachciński, M., Piechota, T. y Baranowska, H. 2021. Low-field NMR Study of shortcake biscuits with cricket powder, and their nutritional and physical characteristics. *Molecules*. 26(17).
- Smarzyński, K., Sarbak, P., Musiał, S., Jezowski, P., Piatek, M. y Kowalczewski, P. 2019. Nutritional analysis and evaluation of the consumer acceptance of pork pâté enriched with cricket powder-preliminary study. *Open Agriculture*. 4(1):159–163.
- Smith, D. (2001). Functional Properties of Muscle Proteins in Processed Poultry Products. En A. Sams (ed.). *Poultry Meat Processing*. Taylor & Francis. 181–194 pp.
- Son, Y., Hwang, I., Nho, C., Kim, S. y Kim, S. 2021. Determination of carbohydrate composition in mealworm. *Foods*. 10(640).
- Tan, H., Fischer, A., Tinchán, P., Stieger, M., Steenbekkers, L. y van Trijp, H. 2015. Insects as food: Exploring cultural exposure and individual experience as determinants of acceptance. *Food Quality and Preference*. 42:78–89.
- Van Huis, A. 2013. Potential of insects as food and feed in assuring food security. *Annual Review of Entomology*. 58:563–583.

- Van Hung, P. 2016. Phenolic compounds of cereals and their antioxidant capacity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 56(1).
- Vázquez-Ortiz, F., Caire, G., Higuera-Ciapara, I. y Hernández, G. 1995. High performance liquid chromatographic determination of free amino acids in shrimp. *Journal of Liquid Chromatographic*. 18(19):2059–2068.
- Vermeirssen, V., Van Camp, J. y Verstraete, W. 2004. Bioavailability of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides. *British Journal of Nutrition*. 92:357–366.
- Villaseñor, V., Enriquez-Vara, J., Urías-Silva, J. y Mojica, L. 2021. Edible Insects: Techno-functional properties food and feed applications and biological potential. *Food Reviews International*. 1–27.
- WHO/FAO/UNU. (2007). Protein and amino acid requirements in human nutrition. World Health Organization Technical Report Series, 935.
- Xie, Y., Cai, L., Zhao, D., Liu, H., Xu, X., Zhou, G. y Li, C. 2022. Real meat and plant-based meat analogues have different in vitro protein digestibility properties. *Food Chemistry*. 387.
- Yi, L., Lakemond, C., Sagis, L., Eisner-Schadler, V., van Huis, A. y Boekel, M. 2013. Extraction and characterization of protein fractions from five insect species. *Food Chemistry*. 141(4):3341–3348.
- Zafar, T., Aldughpassi, A., Al-Mussallam, A. y Al-Othman, A. 2020. Microstructure of whole wheat versus white flour and wheat-chickpea flour blends and dough: impact on the glycemic response of pan bread. *International Journal of Food Science*. 2020.
- Zielińska, E., Baraniak, B. y Karás, M. 2017. Antioxidant and anti-inflammatory activities of hydrolysates and peptide fractions obtained by enzymatic hydrolysis of selected heat-treated edible insects. *Nutrients*. 9(970).
- Zielińska, E., Baraniak, B., Karaś, M., Rybczyńska, K. y Jakubczyk, A. 2015. Selected species of edible insects as a source of nutrient composition. *Food Research International*. 77:460–466.
- Zielińska, E., Karaś, M. y Baraniak, B. 2018. Comparison of functional properties of edible insects and protein preparations thereof. *LWT - Food Science and Technology*, 91(January), 168–174.
- Zielińska, E., Karaś, M., Baraniak, B. y Jakubczyk, A. 2020. Evaluation of ACE,  $\alpha$ -glucosidase, and lipase inhibitory activities of peptides obtained by *in vitro* digestion of selected species of edible insects. *European Food Research and Technology*. 246(7):1361–1369.
- Zielińska, E. y Pankiewicz, U. 2020. Nutritional, physiochemical, and antioxidative characteristics of shortcake biscuits enriched with *Tenebrio molitor* flour. *Molecular Nutrition and Food Research*. 25.
- Zielińska, E., Pankiewicz, U. y Sujka, M. 2021. Nutritional, physiochemical, and biological value of muffins enriched with edible insect's flour. *Antioxidants*. 10(7).