



UNIVERSIDAD ARGENTINA DE LA EMPRESA
FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS EXACTAS

PROYECTO FINAL DE INGENIERIA
USO DE *Gryllus assimilis* PARA EL DESARROLLO DE
ALIMENTOS CON MATERIA PRIMA NO CONVENCIONAL

Alonso, Eugenia Belén 1026662
Lic. Biotecnología

Turati, Juan 1026641
Lic. Biotecnología

Tutor:
Ing. Rodríguez, Carlos- UADE

14/07/2015

Resumen

En el presente trabajo, se llevó a cabo el desarrollo de un producto alimenticio utilizando grillos de la especie *Gryllus assimilis* como materia prima. Esta materia prima es no convencional para el mercado nacional y, de hecho, no se encuentra estipulada en el Código Alimentario Argentino.

Para determinar qué tipo de producto se debía desarrollar, se efectuó un estudio de mercado y una encuesta anónima. Del resultado de la encuesta se determinó que el producto a desarrollar es del tipo rebozado para freír u hornear.

Posteriormente se llevó a cabo la formulación y el desarrollo del producto, se pusieron a punto y ejecutaron las metodologías analíticas para la determinación de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos. Por otro lado, se realizó el diseño del proceso industrial incluyendo faena, desarrollo de envases, cálculo de costos productivos y estudios de estabilidad.

Se determinó que la harina de grillo obtenida contiene 40% de proteínas y 10% de materia grasa, por lo cual podría considerársela, desde el punto de vista nutricional, como una materia prima valiosa para la elaboración de alimentos. Quedará para futuros trabajos, con el correspondiente aval de la autoridad sanitaria competente, la certificación de la inocuidad del producto para ser destinado al consumo humano.

Abstract

This project consists of the elaboration of meals using crickets (*Gryllus assimilis*) as raw material. This raw material is non conventional for the local market and it is not stipulated in the Argentine Food Code (Código Alimentario Argentino).

In order to determine what type of product will be elaborated, a market study and an electronic survey took place. Regarding what the survey results suggest, the product to be elaborated was a cricket medallion that is battered and breaded.

Afterwards, the formulation and development of the product took place, analyzing the physicochemical and microbiological aspects. On the other hand, the industrial process was planned out, including the killing of the crickets, the designing of packaging, production costs and stability studies.

The cricket flour obtained as raw material for the industrial process contains around 40% of pure protein and 10% of fat, which could be considered valuable for the elaboration of nutritious meals. For future advances regarding this project, it will be necessary to certify the safety of the product for human consumption by the corresponding sanitary authorities.

TABLA DE CONTENIDOS

Resumen	2
Abstract	3
1. Desarrollo del trabajo	7
2. Introducción	9
2.1. Objetivos	9
2.2. Descripción biológica	9
2.2.1. Descripción general	9
2.2.2. Ciclo de vida.....	10
2.3. Situación actual del consumo de <i>Gryllus assimilis</i>	11
2.4. Expansión demográfica mundial y aumento en la demanda de alimentos..	13
2.5. Necesidad de incorporar nuevas fuentes alimenticias	14
2.5.1. Malnutrición	14
2.5.2. Conservación ambiental.....	15
2.6. Potencial de <i>Gryllus assimilis</i> como nueva fuente alimenticia	16
2.6.1. Aspectos importantes del desarrollo del producto	16
2.6.2. Perfil aminoacídico.....	17
3. Estudio de mercado	21
3.1. Encuestas a consumidores	21
3.1.1. Estructura de la encuesta y método de desarrollo	21
3.1.2. Resultados obtenidos	23
3.2. Tipo de producto a desarrollar	26
3.3. Precio que el mercado está dispuesto a pagar	26
3.4. Segmentación y tamaño del mercado	27
3.5. Potenciales competidores y proveedores de producto a base de <i>Gryllus</i> <i>assimilis</i>	28
3.5.1. Competidores.....	28
3.5.2. Proveedores.....	28

4. Diseño de la formulación	30
4.1. Materias primas	30
4.2. Elaboración a escala laboratorio	30
4.3. Consideraciones generales del proceso productivo	33
5. Metodologías de las determinaciones analíticas.....	34
5.1. Análisis fisicoquímicos.....	34
5.1.1. Aspecto	34
5.1.2. Actividad acuosa.....	34
5.1.3. pH.....	36
5.1.4. Determinación de proteínas.....	37
5.1.5. Determinación de grasas	39
5.2. Análisis microbiológicos	40
5.2.1. Preparación de muestras para análisis microbiológicos	41
5.2.2. Recuento de bacterias aerobias mesófilas.....	41
5.2.3. Recuento <i>Enterobacteriaceae</i>	41
5.2.4. Recuento de coliformes totales.....	42
5.2.5. Recuento de <i>Escherichia coli</i>	42
5.2.6. Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa (+)	44
5.2.7. Recuento de anaerobios sulfito-reductores	45
5.2.8. Recuento de hongos y levaduras.....	45
5.2.9. Investigación de <i>Salmonella</i> en 25 g.....	46
6. Resultados de las determinaciones analíticas.....	48
6.1. Determinación de proteínas	51
6.2. Determinación de grasas.....	52
7. Envasado	53
7.1. Envasado primario	53
7.2. Presentación.....	54
8. Estudio de estabilidad	56
8.1. Lotes de producto elaborado	56
8.2. Duración de estudio y frecuencia de testeo	56

8.3. Condiciones de almacenamiento	56
8.4. Criterios de evaluación del producto	57
8.5. Resultados del estudio de estabilidad y vida útil.....	58
8.5.1. Tabla de resultados	58
8.5.2. Descripción de los resultados	59
8.6. Conclusiones del estudio de estabilidad	67
9. Industrialización	68
9.1. Volumen de producción deseado	68
9.2. Transición de la elaboración a escala laboratorio a un proceso de magnitud industrial	69
9.3. Proceso de producción.....	69
9.4. Instalaciones y recursos	77
9.4.1. Croquis de la planta industrial	77
9.4.2. Instalación	77
9.4.3. Recursos humanos.....	78
9.5. Costos industriales	79
10. Plan comercial – Estrategias de marketing.....	86
11. Discusión	88
12. Conclusión	90
13. Bibliografía	91
14. Agradecimientos	94
15. Anexos	95
15.1. Anexo A	95
15.2. Anexo B	96
15.3. Anexo C.....	97
15.5. Anexo D	102
15.6. Anexo E.....	105

1. Desarrollo del trabajo

El presente trabajo fue una propuesta de la Universidad Argentina de la Empresa, cuyas autoridades lograron el contacto con el Lic. Daniel Caporaletti, quien proveyó de la materia prima, grillos de la especie *Gryllus assimilis*. Se realizaron visitas al criadero en conjunto con consultas a los expertos que trabajan en el mismo. De manera paralela, se realizó el estudio de mercado con el objetivo de especificar qué tipo de producto se podría elaborar con la materia prima en cuestión. Como resultado del mismo, se optó por realizar un medallón rebozado y precocido a base de un procesado de grillos. En la **Figura 1 y 2** se muestran, respectivamente, un prototipo del producto final y la harina de grillo que es una fase intermedia del proceso de fabricación.



Figura 1: Prototipo del producto final



Figura 2: Harina de Grillo

Se tomó en cuenta el aspecto ético para lo cual se consultó formalmente (Ver **ANEXO A**) al comité de ética de la UADE por la faena de los grillos, paso indispensable en la elaboración del producto. Una vez aprobado el protocolo de faena, se procedió a elaborar el medallón y a realizar los procedimientos analíticos pertinentes. Posteriormente, se trasladó el proceso a escala industrial y se analizó en conjunto la proyección que conlleva dicho trabajo. Se finalizó el informe con conclusiones y trabajos pendientes respecto a la materialización del negocio.

2. Introducción

2.1. Objetivos

En el presente proyecto final se plantea como objetivo general fabricar un alimento a base de materia prima no convencional, usando grillos (*Gryllus assimilis*).

Se plantean una serie de objetivos secundarios, que incluyen:

- Determinar el valor nutritivo del alimento.
- Formular y estimar la vida útil del producto a fabricar.
- Desarrollar el proceso productivo, escalado y trasladado de la fórmula a una planta productiva.
- Establecer aceptación de los consumidores mediante paneles de degustación.
- Desarrollar el packaging primario y presentación.

2.2. Descripción biológica

2.2.1. Descripción general

Para la fabricación del medallón de grillo se utilizó la especie *Gryllus assimilis*, también conocidos como grillos campestre de Jamaica, grillos bicolor, o grillos silenciosos. Éste último nombre es atribuido debido a que no emiten un canto prolongado (Caporaletti, 2014). Estos insectos, pertenecientes al filo de los artrópodos, se caracterizan por poseer exoesqueletos centrales (Padilla Álvarez *et al*, 2003). Son grillos de tamaño mediano, entre 25 y 30 milímetros de largo, siendo las hembras mayores que los machos. El cuerpo es de color pardo oscuro, con alas doradas o marrón claro en los adultos. Los grillos que no han llegado a la madurez total suelen ser completamente negros. Se consideran grillos pesados en comparación con el resto, especialmente las hembras (Cricketcare.org, 2015).

Las hembras de esta especie presentan una estructura oscura, fina y delgada situada entre los dos pelos sensores al final de su abdomen, llamada ovopositor u oviscapto lo cual facilita la diferenciación de los sexos (Cricketcare.org, 2015). En la **Figura 3** se muestran un macho y en la **Figura 4** una hembra donde se puede apreciar su diferencia.



Figura 3: *Gryllus assimilis* macho sin la presencia de oviscapto

(Fuente: Kaloula, 2011)



Figura 4: *Gryllus assimilis* hembra con la presencia de oviscapto detrás del abdomen.

(Fuente: Kaloula, 2011)

2.2.2. Ciclo de vida

A partir de las ocho semanas de vida, los grillos son capaces de reproducirse. Cada macho puede fecundar a 25 hembras aproximadamente y éstas pueden llegar a poner entre 150 y 200 huevos a lo largo de su vida. Los *Gryllus assimilis*, al igual que todos los grillos, poseen 3 etapas de vida: larva, ninfa y grillo adulto (Caporaletti, 2014).

1. Las hembras tardan entre 2 a 3 días en enterrar los huevos, estos son blanquecinos y alargados (Caporaletti, 2014).
2. Los huevos, mantenidos a una temperatura entre 25°C y 30 °C, eclosionan alrededor de los 11 y 14 días (Caporaletti, 2014).
3. Una vez nacidas las larvas, se alimentan del mismo modo que los grillos adultos (Caporaletti, 2014).
4. Entre los 30 y 40 días desde la eclosión. la larva realiza una metamorfosis incompleta, hasta la etapa de ninfa, es decir crece y toma un aspecto similar al grillo adulto, pero posee un tamaño menor (Caporaletti, 2014).
5. A los 2 meses de eclosión y luego de realizar entre 5 y 10 mudas, finalmente el grillo llega a la etapa de adulto (Caporaletti, 2014).
6. El grillo adulto puede vivir alrededor de 1 mes y posteriormente muere (Caporaletti, 2014).

Los tiempos de incubación, eclosión y crecimiento pueden variar dependiendo de la temperatura a la cual se los encuentre y de los recursos con los que cuente, tanto alimentos como tipo de materiales para su incubación.

2.3. Situación actual del consumo de *Gryllus assimilis*

Se denomina entomofagia al consumo dietario de insectos (huevos, larva, pupa y adultos) llevado a cabo por los seres humanos (Halloran y Vantomme, 2013). El consumo de insectos se practica hace muchos años y continúa llevándose a cabo en la actualidad. El uso de insectos para consumo humano varía según las preferencias locales, socioculturales y regiones del mundo (FAO, 2008). Es una costumbre que se puede encontrar en distintas proporciones a lo largo del planeta Tierra como se ve reflejado en la **Figura 5** (Van Huis *et al*, 2013).



Figura 5: Registro de la cantidad de especies de insectos consumidos por humanos en cada país

(Fuente: Van Huis *et al*, 2013)

La entomofagía provee beneficios nutricionales, económicos y ecológicos significativos. Se practica en diversas partes del mundo como Centro América, Sudamérica, África, Asia, Australia y Nueva Zelanda. Grupo étnicos en 130 países y muchas de las poblaciones más pobres del mundo utilizan insectos como elementos esenciales en la dieta (Shockley y Dosey, 2014). Sin embargo, en numerosos países europeos, en Estados Unidos y Argentina siguen siendo alimentos poco consumidos ya que se considera una costumbre exótica (Shockley y Dosey, 2014).

Para lograr aceptación social del producto propuesto, se debe combatir el posible rechazo de la entomofagía y los temores de que el alimento sea dañino o tóxico para su salud. Para lograrlo, hay que profundizar los análisis toxicológicos. Considerando la escasa aceptación que tienen los insectos como alimento para humanos en la sociedad argentina, es imprescindible la comunicación de su inocuidad como también de los beneficios nutricionales

que poseen. Se debe presentar un producto agradable frente a los sentidos del consumidor. Si se logra cumplir con estas pautas se posibilita que el consumo de insectos, en especial, de grillos, sea posible a nivel masivo.

2.4. Expansión demográfica mundial y aumento en la demanda de alimentos

El crecimiento de la población y la urbanización está avanzando cada vez más rápido, en comparación con el desarrollo de las materias primas necesarias para la alimentación cotidiana de las personas. Por ende es importante buscar o crear fuentes de alimentación alternativas que puedan complementar las existentes y conocidas. Debido a esto, la elaboración de un alimento a base de una materia prima innovadora, como por ejemplo los grillos, es deseable (Shockley y Dossey, 2014).

La población mundial aumenta anualmente, aproximadamente, en una cantidad de setenta millones de personas. Aproximadamente 70% del suelo terrestre es utilizado únicamente para la cría de ganado (Shockley y Dossey, 2014). Se espera un incremento en la demanda de alimentos de un 50% para el año 2030, consecuentemente un aumento en la demanda de carne (Shockley y Dossey, 2014). Un incremento en la demanda de carne conlleva a un aumento en la demanda de granos, o proteínas vegetales, para la alimentación del ganado y a un incremento del precio de estos productos. Por otro lado, para obtener un kilogramo de carne vacuna se necesitan aproximadamente, según la especie, 10 kilogramos de proteína vegetal (Van Huis, 2013). En cambio, según se consigna en la **Tabla I**, los grillos convierten de manera mucho más eficiente la proteína vegetal que consumen, en biomasa (Van Huis, 2013).

Tabla I: Eficiencia de producción de carnes convencionales y grillos				
	Grillos	Avícola	Porcina	Bovina
Valores de conversión de alimento a peso total (kg alimento: kilogramo de biomasa)	1,7	2,5	5,0	10,0
Porción comestible (%)	80,0	55,0	55,0	40,0
Valores de conversión de alimento a peso comestible (kg alimento: kilogramos peso comestible)	2,1	4,5	9,1	25,0

Tabla I: Valores de conversión de alimentos a biomasa de grillos y diferentes carnes
(Fuente: Van Huis, 2013)

Según se observa en la **Tabla I**, la carne de grillos tiene una conversión de alimento a biomasa muchísimo más eficiente que la carne avícola, porcina y bovina, ya que produce la misma cantidad de kilogramos de biomasa con un menor consumo de kilogramos de alimento. Por otro lado, la porción comestible de las carnes que se evalúan, es mucho más elevada en los grillos que en las otras tres especies animales, por lo cual también es más eficiente en la conversión de kilogramos de alimento a kilogramos de peso comestible.

Por consiguiente, se considera que optar por recursos nutricionales alternativos puede ayudar a satisfacer la demanda creciente de alimentos.

2.5. Necesidad de incorporar nuevas fuentes alimenticias

2.5.1. Malnutrición

La malnutrición y el incremento acelerado de la población son problemas a tener en cuenta a nivel mundial. La malnutrición afecta entre 178 y 195 millones de niños en el mundo y es uno de los problemas que acarrearán mayores niveles de mortalidad (Shockley y Dossey, 2014). Esta condición termina en una pobre y reducida habilidad para combatir enfermedades, y atrae desórdenes cognitivos y de desarrollo, que pueden llegar a ser permanentes si no se tratan (Shockley y Dossey, 2014). En numerosos de países, se presenta la malnutrición como uno de los problemas más sufridos por su población, mayoritariamente por falta de proteínas y calorías (Shockley y Dossey, 2014). Con el presente proyecto se

plantea una posibilidad para aportar a la solución de dicho problema con opciones sustentables y nutritivas.

Los grillos son una excelente fuente de proteína animal. Además, presentan un nivel moderado de grasas, que se consideran valorables para la dieta humana. Constituyen uno de los recursos para aminorar este problema, ya que su crianza es simple, rápida y requiere poco espacio para su realización, en comparación con los requeridos para criar otras fuentes de proteína animal. Hay diversas posibilidades de consumo, tanto grillos enteros como procesados, en productos comercializables o platos elaborados.

2.5.2. Conservación ambiental.

Incrementar la eficiencia con la cual se utilizan las tierras para generar alimentos sería la mejor manera de reducir los impactos al ecosistema. La cría de ganado contribuye a la emisión de gases a la atmósfera que incrementan el efecto invernadero (metano, dióxido de carbono y óxido de nitrógeno) lo cual acarrea consecuencias como el aumento de la temperatura del planeta Tierra, precipitaciones, vientos y humedad. El metano (CH₄) es producido por la fermentación entérica, que se da en los rumiantes principalmente, como así también liberado por las excretas ganaderas (Steinfeld *et al*, 2006). El óxido de nitrógeno (N₂O) es a su vez producto de los fertilizantes utilizados para el cultivo de alimentos, como también del estiércol (Fernández Cirelli, s.f). A su vez, se ha demostrado que la crianza de ganado vacuno tiene el mayor impacto medioambiental, siendo éste medido en equivalentes de dióxido de carbono (CO₂), siguiéndola la porcicultura y finalmente la avicultura (Van Huis, 2013). Estudios recientes muestran, por medio de rigurosos experimentos, que los grillos, como todos los insectos, producen bajos niveles de estos gases (Van Huis, 2013).

A su vez la producción de insectos usa significativamente menor cantidad de agua en comparación con la producción de ganado vertebrado, ya que los insectos en estado adulto, obtienen el agua que necesitan para vivir directamente de los alimentos sin necesidad de un aporte de agua adicional (Shockley y Dossey, 2014). Por otra parte los grillos pueden ser alimentados con alimento balanceado y además con descartes de vegetales, por ejemplo frutas

y hortalizas, que no estén en condiciones para la venta al público. Por consiguiente, la cría de los grillos se caracteriza por su bajo costo, simplicidad y escaso consumo de agua y espacio.

2.6. Potencial de *Gryllus assimilis* como nueva fuente alimenticia

2.6.1. Aspectos importantes del desarrollo del producto

Para el desarrollo de un alimento a base de materia prima no convencional se deben considerar dos aspectos importantes: mantener los niveles de higiene y salubridad para lograr elaborar un producto apto para el consumo humano y de agradable percepción, y por otro lado, producir la suficiente cantidad de materia prima para abastecer la demanda (Shockley y Dossey, 2014).

Los niveles de higiene y salubridad óptimos deberán cautelarse tanto, durante la crianza de los insectos como en la elaboración del producto alimenticio. Para ello, se debe preservar la limpieza en el área de crianza y todos los elementos utilizados. Por otro lado, la comida que se le brinda a los grillos, tal como frutas, verduras o alimento balanceado, debe estar fresca y en buenas condiciones, ya que ésta será metabolizada por el insecto en cuestión y posteriormente consumido por humanos. En cuanto a los procedimientos a ser tenidos en cuenta en la elaboración del producto alimenticio, se deberá trabajar siempre con materiales y mesada en las mejores condiciones higiénicas posibles.

Para producir la suficiente cantidad de materia prima, se deberá contar con un criadero de grillos dedicado únicamente a la producción de insectos para consumo humano en escala adecuada al mercado al cual se planea distribuir. La principal ventaja que presenta trabajar con este tipo de insectos es que tienen una gran capacidad de transformar el material orgánico consumido en biomasa y proteína, de manera mucho más rápida y eficiente que los animales vertebrados (**Tabla I**). Al ser animales de sangre fría, necesitan menor cantidad de alimento que el ganado para producir la misma cantidad de proteína, ya que utilizan menor cantidad de energía para mantener su temperatura corporal elevada (Shockley y Dossey, 2014). Además, presentan tiempos de crecimientos rápidos, progenie numerosa y producen gran cantidad de biomasa. Tomando en cuenta los aspectos mencionados, se considera que este proyecto constituye una oportunidad para resolver algunos problemas presentes en la sociedad.

2.6.2. Perfil aminoacídico

Bednárová y colaboradores (2013), realizaron un análisis de contenido de aminoácidos y determinación de derivados de purinas en tres especies de insectos comestibles, incluido *Gryllus assimilis*, comparando los resultados con los de clara de huevo y pechuga de pollo. Según la FAO, (Food and Agriculture Organization, Naciones Unidas) la digestión de proteína de insecto es comparable con la proteína de carne (Bednárová *et al*, 2013).

Según los resultados obtenidos por estos investigadores (**Tablas II y III**) en cuanto a los aminoácidos no esenciales, los grillos presentan significativamente mayor cantidad de tirosina que la pechuga de pollo y la clara de huevo. Por otro lado, con referencia a los aminoácidos esenciales, tienen significativamente mayor cantidad de lisina que el huevo, aproximadamente igual cantidad de treonina y triptófano que el huevo y similar cantidad de treonina y valina que la pechuga de pollo. De los tres insectos analizados por los autores, *Tenebrio molitor*, *Zophobas atratus* y *Gryllus assimilis*, el último es el que mayor contenido de proteína tiene, con un total de 564,9 g kg⁻¹ DM (DM= materia seca). La misma especie, contiene la mayor cantidad de aminoácidos indispensables de las tres comparadas, con un total de 253,9 g kg⁻¹ DM (Bednárová *et al*, 2013).

Tabla II: Contenido de aminoácidos no esenciales (g kg⁻¹ DM) en *Tenebrio molitor*, *Zophobas atratus*, *Gryllus assimilis*, clara de huevo de gallina y pechuga de pollo

Aminoácidos no esenciales	<i>Tenebrio molitor</i> (n=11)		<i>Zophobas atratus</i> (n=11)		<i>Gryllus assimilis</i> (n=11)		Clara de huevo (n=11)		Pechuga de pollo (n=11)	
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Media	SD
Alanina	50,1 b	3,8	46,8 c	3,7	40,2 c	6,3	51,5 b	4,7	62,1 a	4,2
Arginina	30,3 b	2,8	28,3 b	2,0	30,2 b	13,6	49,0 a	3,9	53,2 a	3,7
Acido aspártico	46,6 c	4,2	45,2 c	4,1	86,4 a	6,3	94,9 a	7,7	77,6 b	5,9
Cisteina	4,8 d	1,1	4,8 d	1,1	7,4 c	1,4	20,4 a	1,9	13,4 b	0,8
Acido glutámico	65,1 b	5,8	60,1 b	4,9	24,1 c	1,4	118,6 a	8,9	130,1 a	8,9
Glicina	50,7 a	4,4	30,4 b	2,7	36,4 b	7,3	29,8 b	2,7	51,1 a	3,9
Histidina	18,6 b	1,4	17,3 b	1,4	13,2 c	3,7	18,4 b	2,1	25,9 a	2,0
Prolina	39,2 a	3,1	37,7 a	3,7	12,6 b	7,3	34,7 a	3,1	40,1 a	3,1
Serina	28,3 b	2,0	28,3 b	2,0	6,1 c	2,0	60,3 a	4,1	30,9 b	2,8
Tirosina	30,4 c	2,7	40,7 b	3,4	54,4 a	6,6	34,7 b	3,1	28,9 c	2,0
Total	364,1	-	339,6	-	311	-	512,3	-	513,3	-

Análisis de ANOVA unidireccional, incluyendo análisis de Tukey. Medias con letras diferentes en una misma fila difieren en $p < 0,05$; SD: desvío estándar.

Tabla II: Aminoácidos no esenciales (g kg⁻¹ DM) para las tres especies estudiadas y referencias utilizadas

(Fuente: Bednárová *et al*, 2013)

Tabla III: Contenido de aminoácidos esenciales (g kg⁻¹ DM) en *Tenebrio molitor*, *Zophobas atratus*, *Gryllus assimilis*, clara de huevo de gallina y pechuga de pollo

Aminoácidos esenciales	<i>Tenebrio molitor</i> (n=11)		<i>Zophobas atratus</i> (n=11)		<i>Gryllus assimilis</i> (n=11)		Clara de huevo (n=11)		Pechuga de pollo (n=11)	
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Media	SD
Isoleucina	30,3 c	2,8	26,4 c	2,1	21,2 c	7,3	61,3 a	4,6	50,8 b	4,4
Leucina	54,7 b	4,6	57,7 b	4,7	49,0 b	6,4	77,4 a	6,4	72,2 a	5,7
Lisina	30,4 c	2,7	33,2 c	2,8	79,0 a	6,4	59,5 b	5,9	81,8 a	4,8
Metionina	9,9 c	1,2	7,2 d	1,0	6,3 d	2,0	30,2 a	2,7	26,6 b	1,9
Fenilalanina	8,9 d	1,0	19,8 c	1,4	7,2 d	2,0	51,7 a	4,7	38,2 b	2,7
Treonina	23,0 b	1,9	22,3 b	2,1	35,5 a	6,3	41,2 a	3,7	40,6 a	3,7
Triptofano	7,2 c	1,0	4,8 d	1,1	9,5 b	2,0	9,0 b	1,4	11,3 a	1,0
Valina	34,2 c	2,7	31,8 c	2,8	46,2 b	5,9	58,9 a	5,8	47,7 b	3,1
Total	198,6	-	203,2	-	253,9	-	389,2	-	369,2	-

Análisis de ANOVA unidireccional, incluyendo análisis de Tukey. Medias con letras diferentes en una misma fila difieren en $p < 0,05$; SD: desvío estándar.

Tabla III: Aminoácidos esenciales (g kg⁻¹ DM) para las tres especies estudiadas y referencias utilizadas

(Fuente: Bednárová *et al*, 2013)

Sin embargo, el contenido de purinas que determinaron los autores también fue encontrado en abundancia, con un total de 31,4193 g kg⁻¹ DM. Con respecto a éste último, cuando se encuentra en proporciones elevadas, puede perjudicar la salud de personas con hiperuricemia ya que los mismos no pueden eliminar los derivados de purinas, como ácido úrico, que se acumula en la sangre. En la **Figura 6**, se compara los derivados de purinas contenidos en las tres especies analizadas, pechuga de pollo y clara de huevo. El contenido de purinas es sensiblemente mayor en *Gryllus assimilis* que en las otras muestras comparadas (Bednárová *et al*, 2013).

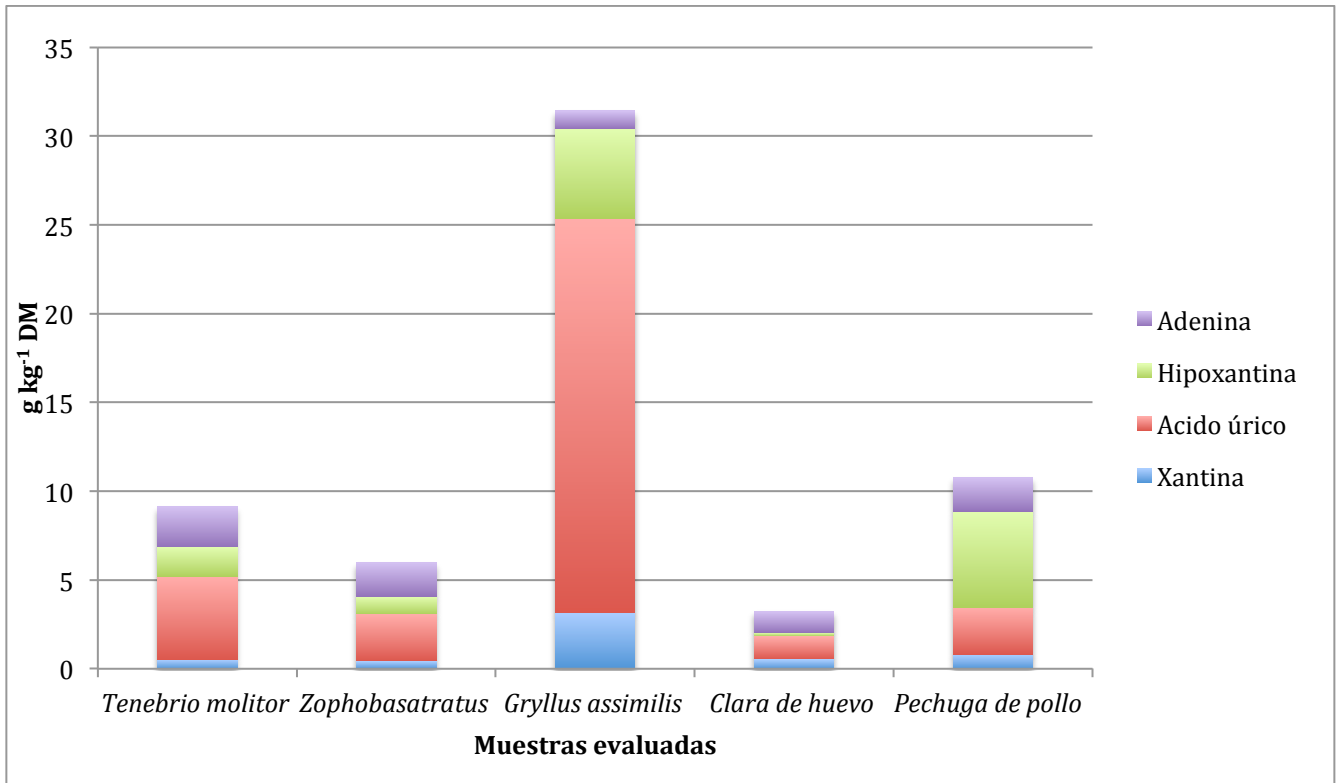


Figura 6: Contenido de purinas (g kg⁻¹ DM) en *Tenebrio molitor*, *Zophobas atratus*, *Gryllus assimilis*, clara de huevo y pechuga de pollo.

(Fuente: Bednárová, Borkovcová y Komprda, 2013)

Se puede visualizar en la **Figura 6** que el contenido de purinas en la carne de grillos es mucho más elevada que en las otras dos especies de insectos y que en la clara de huevo y pechuga de pollo. Este elevado contenido de purinas es una desventaja que se presenta, principalmente porque, como se mencionó anteriormente, las personas con hiperuricemia no pueden consumirlo. Además, se debe evaluar la posibilidad de que el consumo de esta cantidad de purinas influya en la capacidad de eliminar el ácido úrico en personas que no presenten hiperuricemia.

3. Estudio de mercado

En la siguiente sección se presenta el análisis de mercado elaborado para el cual se tomó en cuenta la encuesta realizada, tipo de producto a desarrollar, precio que el mercado está dispuesto a pagar, segmentación y tamaño de mercado, potenciales competidores y proveedores.

3.1. Encuestas a consumidores

3.1.1. Estructura de la encuesta y método de desarrollo

Se realizó una encuesta anónima y electrónica dirigida principalmente a ciudadanos de Capital Federal y provincia de Buenos Aires, para determinar los gustos y preferencias de los potenciales consumidores del producto en cuestión. Para dicho fin se utilizó el servidor Google Docs. La encuesta es estructurada conteniendo preguntas de múltiples opciones, de las cuales se puede seleccionar solo una como respuesta. Se detallan las preguntas realizadas con las respectivas opciones de respuestas.

1. ¿Sexo?
 - a. Femenino
 - b. Masculino
2. ¿Qué edad tienes?
 - a. Menor de 20 años
 - b. Entre 21 y 30 años
 - c. Entre 31 y 40 años
 - d. Mayor de 40 años
 - e. Otro (opción de escribir)
3. En tu opinión, ¿te consideras una persona dispuesta a probar comidas nuevas?
 - a. Si
 - b. Dependiendo de la comida
 - c. No
 - d. Otro (opción de escribir)

4. ¿Qué tan importante es para ti el valor nutricional de las comidas?
 - a. Muy importante
 - b. Importante
 - c. No me importa
 - d. Otro (opción de escribir)
5. ¿Sabías que en algunas partes del mundo consumen insectos?
 - a. Si
 - b. No
6. En general, ¿qué tan dispuesto estarías a comer un alimento a base de grillos?
 - a. Muy dispuesto
 - b. Dependiendo del alimento
 - c. No estaría dispuesto
 - d. Otro (opción de escribir)
7. ¿En qué situación piensas que probarías un alimento no convencional (como grillos)?
 - a. Comprando en un supermercado
 - b. En un restaurant
 - c. En un país extranjero
 - d. Nunca
 - e. Otro (opción de escribir)
8. ¿Cómo te gustaría que sea el alimento a base de grillos?
 - a. Como snack/comida rápida
 - b. Un plato elaborado
 - c. Como un producto empanizado
 - d. Postre
 - e. Bebida
 - f. Otro (opción de escribir)

3.1.2. Resultados obtenidos

La encuesta ha sido contestada por 197 personas localizados en Capital Federal y provincia de Buenos Aires. Los encuestados fueron en su mayoría mujeres. Respondieron la encuesta principalmente personas entre 21 y 30 años, en general dispuestos a probar comidas nuevas. Se observan los resultados en las **Figuras 7, 8 y 9**.

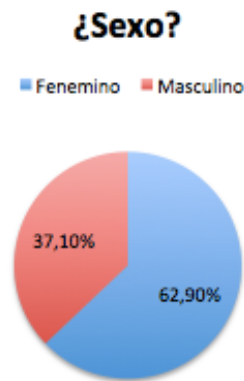


Figura 7: Respuestas de los encuestados a parámetro “sexo”



Figura 8: Respuestas de los encuestados a parámetro “edad”

En tu opinión, ¿te consideras una persona dispuesta a probar comidas nuevas?



Figura 9: Respuestas de los encuestados a parámetro “disposición al consumo de nuevas comidas”

La mayoría de los encuestados le brinda gran importancia al valor nutricional de sus comidas. Un total de 57,4% que lo considera importante y un 29,4% lo considera muy importante (Figura 10). Todos los encuestados tienen conocimiento sobre el consumo de grillos en el mundo. Más del 60% de los encuestados resalta que estaría dispuesto a consumir un alimento a base de grillos (Figura 11).

¿Qué tan importante es para vos el valor nutricional de las comidas?



Figura 10: Respuestas de los encuestados a parámetro “valor nutricional de las comidas”

En general, ¿qué tan dispuesto estarias a comer un alimento a base de grillos?



Figura 11: Respuestas de los encuestados a parámetro “disposición a consumir alimentos a base de grillos”

Si bien un 11,7% de los encuestados compraría el producto en supermercados, la mayoría de los encuestados consumiría alimentos con grillos en países extranjeros (**Figura 12**). De esto se desprende la importancia de realizar un trabajo de marketing para imponer el consumo diario de un producto de las características propuestas.

¿En qué situación piensas que probarias un alimento no convencional (como grillos)?



Figura 12: Respuestas de los encuestados a parámetro “probar alimento no convencional”

Sobre la base a las respuestas al parámetro “tipo de alimento a base de grillos” (**Figura 13**), se optó por desarrollar un alimento empanizado ya que satisface las primeras dos respuestas más elegidas: Snack/Comida rápida 40,6%; Producto empanizado 23,4%.

¿Cómo te gustaría que sea el alimento a base de grillos?

■ Como un snack/comida rapida ■ Un plato elaborado
■ Como un producto empanizado ■ Postre
■ Bebida ■ Otro

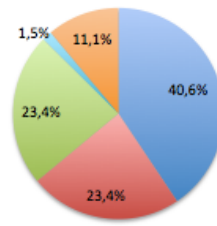


Figura 13: Respuestas de los encuestados a parámetro “tipo de alimento a base de grillos”

3.2. Tipo de producto a desarrollar

Considerando los resultados obtenidos en la encuesta, se optó por la fabricación de un medallón de grillos rebozado. Para lograr dicho producto se requiere obtener un procesado de la materia prima para la posterior elaboración del producto final.

3.3. Precio que el mercado está dispuesto a pagar

Para determinar el precio que el mercado está dispuesto a pagar, se debe considerar, el precio y características de los posibles competidores y el tamaño de producción inicial, tomando en cuenta que se trata de un producto inexistente en el mercado de interés.

A causa de las características físicas y nutricionales del producto, se toma en cuenta como un producto similar a los medallones de pollo rebozados de la marca Granja del Sol. A lo largo del presente informe, se lo considera como un posible competidor por las mencionadas razones. El mismo se presenta en paquetes de 4 unidades, con un peso de 330 gramos a un precio promedio de \$52,80. Los medallones de pollo están rebozados, precocidos y congelados de manera similar al producto de interés que se desea presentar en el mercado. Se desea, en un principio, que el producto sea percibido como uno de alta calidad y exclusividad, especialmente debido a que será comercializado en barrios donde, en su gran mayoría, las personas tienen alto poder adquisitivo.

3.4. Segmentación y tamaño del mercado

A continuación se detallan las variables relevantes que se utilizan para segmentar el mercado de consumidores finales.

- Estilo de vida
 - Estudiantes: Jóvenes que suelen consumir productos envasados, precocidos y/o de fácil cocción.
 - Adultos con poca disponibilidad de tiempo: Personas que trabajan muchas horas al día y cuentan con poco tiempo para cocinar, suelen recurrir a productos de rápida cocción.
 - Personas con interés en la calidad nutricional de los alimentos: Individuos que necesiten o quieran consumir productos con alto contenido proteico.
 - Personas inexperimentadas en la cocina: Sujetos que no sepan cocinar y consuman productos precocidos, envasados y de fácil cocción.
- Nivel adquisitivo
 - Medio
 - Alto
- Zona geográfica
 - Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. Barrios:
 - Recoleta
 - Palermo
 - Belgrano

El producto presentado en este proyecto no es apto para celíacos ni para hiperuricémicos.

Los clientes que comprarán el producto propuesto en el presente proyecto son los supermercados y comercios localizados en a los barrios de Recoleta, Palermo y Belgrano en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Actualmente en las mencionadas áreas se vende un promedio de 11828 paquetes de medallones de pollo de Granja del Sol, por mes. Dicho valor fue obtenido consultando los volúmenes de venta en las localidades y los puntos de venta de

interés, siendo estos supermercados Carrefour Market, Carrefour Express, Coto, Disco, Día. Considerando la disponibilidad de materia prima y que se ofrece un producto desconocido para el mercado, se planifica abarcar un 10% de las ventas. Se eligieron los sectores mencionados ya que dichas zonas tienen gran densidad poblacional y gran parte está compuesta por estudiantes. El mercado es acotado debido a que dicho proyecto se plantea como una etapa inicial. Para una expansión mayor se necesitaría mayor disponibilidad de materia prima al igual que la aceptación de los consumidores.

3.5. Potenciales competidores y proveedores de producto a base de *Gryllus assimilis*

3.5.1. Competidores

El producto que se presenta en este proyecto no es un competidor directo de ningún producto en especial, debido a que es nuevo en el mercado y para considerarlo como tal debería haber un cambio social y cultural. Sin embargo, considerando la similitud de presentación y características de los productos, en el presente trabajo se va a mencionar como posibles competidores a aquellas empresas que producen medallones o “patitas” de pollo procesados, tal como Molino Rio de la Plata-Granja del Sol, JBS-Swift. Estas empresas ofrecen productos de características similares a las del producto propuesto en cuanto a los aspectos y texturas físicas, métodos de cocción y consumo, presentación y valores nutricionales.

3.5.2. Proveedores

Los proveedores necesarios para la producción del medallón de grillo brindarán:

- Materia prima, grillos: Grillos Cappo, Daniel Caporaletti; Contacto- grilloscapos@gmail.com , teléfono: 11-4-925-3088
- Harina: Molino Cañuelas S.A.C.I.F.I.A, teléfono: 0810-333-9547
- Sal: Dos Anclas. Contacto- Pablo Maroto, marotop@dosanclas.com.ar, teléfono: 0223-156852631

- Pan rallado: Molino cañuelas S.A.C.I.F.I.A. Contacto- teléfono: 0810-333-9547
- Aceite: Todoaceite. Contacto- teléfono: 11-4-601-8407
- Huevo líquido pasteurizado: Ovoprot. Contacto- office@ovoprot.com, teléfono: 11-5-217-1900
- Packaging primario: MG descartables. Contacto- teléfono: 4724-0343

4. Diseño de la formulación

4.1. Materias primas

Para la elaboración del producto elegido se requieren las siguientes materias primas:

1. Grillos (*Gryllus assimilis*)
2. Harina leudante
3. Aceite
4. Agua
5. Sal (Cloruro de sodio, NaCl)
6. Pan rallado
7. Huevo de gallina pasteurizado (*Gallus gallus*)

4.2. Elaboración a escala laboratorio

Para el desarrollo del producto, se comenzó realizando búsquedas bibliográficas para determinar el método de faena del grillo. Se encontró que a las langostas (*Homarus americanus*), artrópodos, como los grillos, se las lleva a temperaturas bajo cero para faenarlas y posteriormente se hierven.

Con respecto al tipo de producto a elaborar, se decidió en función de las encuestas mencionadas, el alimento de mayor aceptación por el consumidor sería el medallón de grillos, dado que el insecto en sí no puede ser visualizado y se mantienen los beneficios del mismo. Por consiguiente, se optó por realizar una harina de grillos como materia prima para la fabricación del producto final. La metodología empleada para realizar la harina de grillos consiste en un paso inicial donde se colocan los grillos en el freezer, por al menos una hora, momento en el cual ocurre la faena de los mismos. De esta manera, se reduce su metabolismo e induce un estado de hipotermia letal. Posteriormente se procede a hervir los grillos en agua durante dos minutos para ablandar los exoesqueletos y eliminar los microorganismos que puedan estar presentes. Posteriormente, se procede a colocar los grillos en horno a 180°C, durante 25 minutos para su desecación y luego se los tritura, obteniendo así una harina homogénea.

Una vez obtenida la materia prima, se procede a formular una mezcla de polvos que tiene la siguiente composición cuali-cuantitativa:

Cada 100 gramos de mezcla contiene:

- Harina de grillo 50 g
- Harina de trigo 50 g

Una vez realizada esta mezcla, se le agrega 6%, de su peso en aceite, 60% de agua y 0,05% de sal, diluida en agua, para obtener una pasta. La pasta es moldeada y precocida durante 4 minutos en horno a 180°C. Una vez precocida la mezcla, se reboza con huevo y pan rallado. Para evitar riesgos para los consumidores se realiza una precocción de 3 minutos en horno a 150°C. Finalmente, se coloca el producto final en el freezer para su posterior distribución y venta. El consumidor debe realizar una cocción del producto llevándolo a un horno a 180°C durante 7 minutos, de cada lado, previo a la ingesta del mismo.

En la **Figura 14**, se detalla el flujograma del proceso productivo, listando los diferentes pasos implicados desde la recepción de la materia prima hasta llegar al producto final.

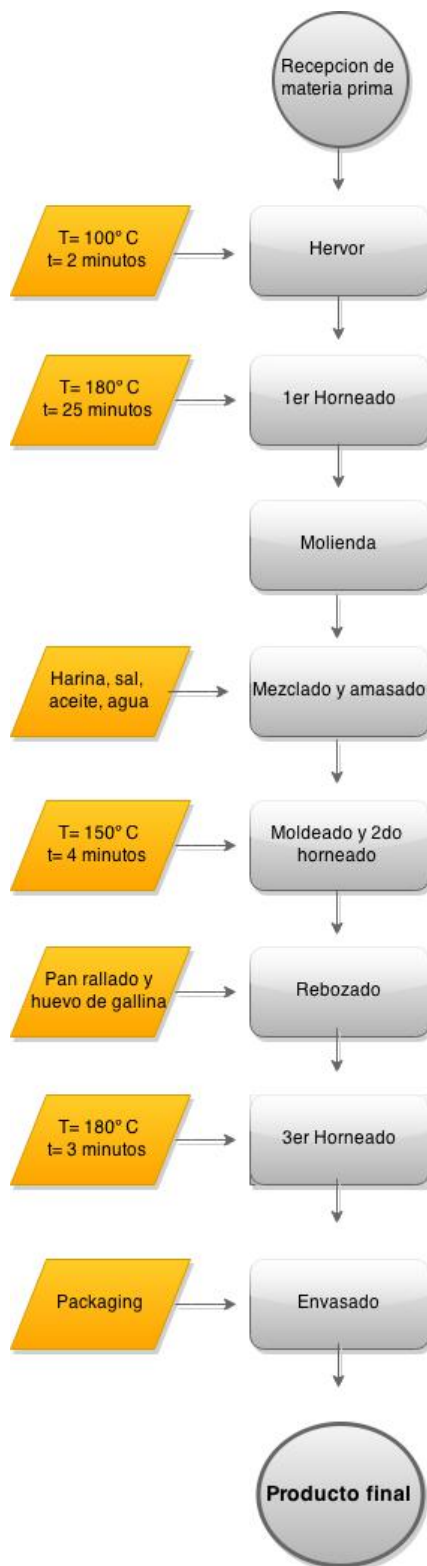


Figura 14: Flujograma del proceso productivo

4.3. Consideraciones generales del proceso productivo

Los aspectos a tener en cuenta para la elaboración del producto a escala laboratorio son:

- Los grillos deben estar crujientes luego del primer horneado, sin exceder el tiempo de cocción ya que el sabor puede tornarse amargo.
- En el segundo horneado, no deben excederse los 4 minutos de cocción a temperatura baja, ya que el medallón puede secarse demasiado.
- Las personas que ejecutan los distintos pasos del proceso productivo, deben tomar medidas de seguridad ya que se trabaja con agua hirviendo y horno a altas temperaturas.

5. Metodologías de las determinaciones analíticas

En esta sección se detallan los distintos análisis, mediciones y experimentos que se le hicieron al producto recién elaborado. Se explican los parámetros, especificaciones y metodologías empleadas para realizar distintos análisis cuantitativos. Dentro de los análisis fisicoquímicos, se encuentran los de aspecto, actividad acuosa, pH, proteínas y grasas. Por otra parte se realizaron los análisis microbiológicos, tomando como producto de referencia a los subproductos de pollo congelado y rebozado en planta (Sobol *et al*, 1995). El análisis de anaerobios sulfito reductores requirió especial atención ya que los grillos están en constante contacto con la tierra, lugar donde se encuentra una gran población de dichos microorganismos tal como *Clostridium botulinum*.

5.1. Análisis fisicoquímicos

5.1.1. Aspecto

El producto corresponde a un medallón de grillo rebozado, congelado y precocido. El mismo, luego de su elaboración, posee un color marrón claro y opaco, de textura blanda al momento del corte. Se analizó si ocurrieron cambios en el aspecto de los medallones en cuanto al color de los mismos y su textura al momento del corte.

5.1.2. Actividad acuosa

El análisis de la actividad acuosa se realizó para determinar la cantidad de moléculas de agua disponibles en estado libre. *La actividad acuosa (a_w) está definida por el descenso de la presión parcial del vapor de agua, representada por la formula (1) (a una temperatura determinada y en el equilibrio):*

$$a_w = \frac{P_w}{P_w^0} \quad (1)$$

Donde P_w es la presión parcial de vapor de agua de una solución o alimento y P_w^0 es la presión parcial de vapor de agua pura a la misma temperatura. (Cheftel y Cheftel, 1992, vol 1)

La oxidación de lípidos, el pardeamiento no enzimático, las reacciones enzimáticas y el desarrollo de microorganismos son factores que deterioran los alimentos y se ven afectados por la actividad acuosa. La importancia del mencionado análisis se presenta debido a que los microorganismos suelen proliferar de manera óptima a una actividad acuosa entre 0,92 y 0,99. En la **Tabla IV** se muestran las actividades acuosas mínimas aproximadas para el crecimiento de microorganismos (Cheftel y Cheftel, 1992, vol 1).

Tabla IV: Actividad acuosa mínima para el crecimiento de microorganismos	
Bacterias	0,91
Levaduras	0,88
Mohos	0,8
Bacterias halófilas	0,75
Mohos xerófilos	0,65
Levaduras osmófilas	0,6

Tabla IV: valores de actividad acuosa mínima para el crecimiento de microorganismos

(Fuente: Cheftel y Cheftel, 1992, vol 1)

El producto elaborado fue analizado mediante el equipo AquaLab Lite (**Figura 15**) cuya precisión es de $\pm 0,015$.

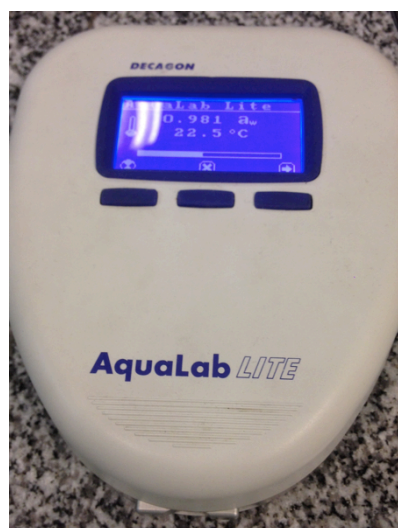


Figura 15: Equipo utilizado para determinar la actividad acuosa

Metodología:

Cada muestra fue triturada ya que los productos sólidos son heterogéneos y la actividad acuosa puede variar en distintos puntos del mismo. Antes de realizar las mediciones, se calibró el equipo con agua destilada, siendo éste el estándar utilizado ya que su actividad acuosa siempre debe ser 1,000. Se colocó en el equipo la muestra, luego de 5 minutos se registró el valor de actividad acuosa indicado en la pantalla.

5.1.3. pH

El pH de lo alimentos puede tener efecto inhibitor del desarrollo de microorganismos y de la actividad enzimática (Pearson *et al*, 1993). La mayoría de los microorganismos se desarrollan de manera óptima en un rango de pH específico, sin embargo las bacterias son más sensibles a la presencia de iones de hidrógeno que las levaduras y hongos (Pearson *et al*, 1993). Además, el pH puede alterar las propiedades físicas de los alimentos como la textura y la estabilidad. Para la medición de pH del producto elaborado se utilizó el pH-metro Hanna, modelo HI 9126 (**Figura 16**).



Figura 16: Imagen de equipo utilizado para determinar el pH del producto de interés

Metodología:

Se calibró el equipo utilizado buffers de pH 4 y 7. Se realizó un corte en el producto a analizar, suficientemente profundo como para cubrir por completo el electrodo y así registrar el valor de pH. La medición se realizó por duplicado, analizando distintas zonas de la muestra y limpiando el electrodo entre cada medición (Braña Valera *et al*, 2011).

5.1.4. Determinación de proteínas

La determinación de proteínas se realizó mediante el método Kjeldahl. Éste consiste en la mineralización y disgregación de la materia orgánica por acción del ácido sulfúrico concentrado, seguido de la alcalinización y destilación debido al arrastre de vapor, posteriormente recogiendo el destilado en ácido bórico. Cada uno de los análisis se ejecutó por triplicado, tanto para la harina de grillo como el medallón.

Metodología:

Se pesó 1,00 gramo de muestra, 10,00 gramos de catalizador (95,5% sulfato de potasio y 0,5% sulfato de cobre) y se midieron 20 ml de ácido sulfúrico concentrado, los cuales se colocaron en un tubo del equipo Buchi (**Figura 17**).

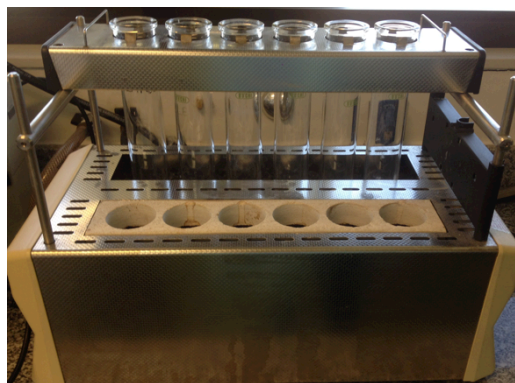


Figura 17: Equipo para mineralización y disgregación del producto

Una vez ocurrida la digestión, visualizada de color verde cristalino, se continuó con el paso de destilación donde se alcalinizó la muestra en el destilador de la **Figura 18**.



Figura 18: Destilador de equipo Buchi

Se procedió a titular con ácido sulfúrico 0,1 N utilizando como indicador rojo de metilo, el cual vira de color verde a rosado claro. El volumen de titulación utilizado fue registrado y se aplicó la fórmula (2) para determinar el porcentaje de proteínas (JP Selecta, 2012):

$$\% \text{Proteínas} = \frac{V \times N \times W}{M} \times 100 \times F \quad (2)$$

Donde:

- V= volumen de ácido utilizado en la titulación de muestra – Volumen de ácido utilizado en la titulación del blanco
- N= normalidad de ácido utilizado en la titulación
- W= peso molecular de nitrógeno (14 g/mol)
- M= peso de muestra
- F= factor de corrección (6,25 por *default*)

5.1.5. Determinación de grasas

Para la determinación del porcentaje de grasas se utilizó el equipo Soxhlet automático. Cada uno de los análisis se ejecutó por triplicado, tanto para la harina de grillo como el medallón.

Metodología:

Se pesó el cartucho de celulosa, el vaso de vidrio y 3,00 gramos de muestra, y se registraron los pesos. Se colocaron las muestras pesadas en los cartuchos de celulosa (**Figura 19**).



Figura 19: Cartucho de celulosa dentro de vaso contenedor

Se agregó el solvente (éter de petróleo) en el vaso de vidrio, se lo colocó sobre la manta calefactora del equipo Soxhlet automático (**Figura 20**) y se lo ajustó al cuerpo superior.



Figura 20: Equipo Soxhlet “Velp Scientifica” utilizado para extracción de grasas

Se abrió la llave de circulación de vapores para permitir el calentamiento. Se dejó durante 30 minutos el cartucho en contacto con el solvente y luego se elevó el cartucho para continuar con el calentamiento a reflujo del solvente durante 60 minutos. Se cerró la llave de vapores para recuperar el solvente sin que se seque la muestra. Posteriormente se enjuagó el vaso con pequeñas porciones del solvente y se las colocó en un cristalizador previamente tarado y fue llevado a baño maría para su total evaporación. Para finalizar, se llevó el cristalizador por 10 minutos a estufa y luego a pesar. La diferencia con el peso inicial serán los gramos de grasa en 3,00 gramos de muestra.

5.2. Análisis microbiológicos

Dado que el grillo no es un alimento comúnmente consumido por humanos, no existen especificaciones microbiológicas en el Código Alimentario Argentino para determinar la inocuidad del producto. Por consiguiente, para comprobar la aptitud del alimento desarrollado, se aplicaron las especificaciones microbiológicas recomendadas por SENASA para los productos avícolas, ya que en la producción de aves se emplean alimentos balanceados similares a los utilizados para la cría de grillos, y además las carnes poseen concentraciones de aminoácidos similares. Las determinaciones analíticas efectuadas han sido: recuento de bacterias aerobias mesófilas, recuento de *Enterobacteriaceae*, recuento de

coliformes totales, recuento de *Escherichia coli*, recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa (+), recuento de anaerobios sulfito-reductores, recuento de hongos y levaduras e investigación de *Salmonella* en 25 gramos (Sobol *et al*, 1995).

5.2.1. Preparación de muestras para análisis microbiológicos

Para este paso se trabajó bajo flujo laminar. Se pesaron 10 gramos de cada muestra, tomando porciones de distintos lugares de la misma, y colocándolos dentro de una bolsa para stomacher estéril. Junto con la muestra se colocaron 90 ml de agua peptonada al 0,1%, previamente esterilizada en autoclave. A la bolsa se la cerró y luego se llevó al stomacher durante 4-5 minutos para homogenizar y finalmente poder obtener un homogenato, equivalente a dilución 10^{-1} . A partir de esta dilución, se hicieron las diluciones 10^{-2} y 10^{-3} en tubos con 9 ml de agua peptonada 0,1%. Estas diluciones han sido utilizadas para los recuentos.

5.2.2. Recuento de bacterias aerobias mesófilas.

Metodología:

A partir de las diluciones 10^{-1} y 10^{-2} , se sembraron 0,1 ml en superficie en placas con medio de cultivo Plate Count Agar (PCA). Los recuentos se hicieron por quintuplicado.

Se incubaron las placas en estufa a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas. Terminada la incubación se realizó el conteo de las colonias crecidas en cada placa. El resultado se expresó como bacterias aerobias mesófilas en u.f.c/g. Dicho resultado se obtuvo realizando un promedio de los crecimiento de las 5 réplicas, considerando el factor de dilución y el volumétrico. En caso de no obtenerse ningún crecimiento el resultado se expresa como <100 u.f.c/g.

5.2.3. Recuento *Enterobacteriaceae*

Metodología:

A partir de las diluciones 10^{-1} y 10^{-2} , se sembraron 0,1 ml en superficie en placas con medio de cultivo agar Violeta Rojo Bilis Glucosa (VRBG). Una vez distribuido el inoculo con

espátula de Drigalsky, se agregó una sobrecapa de agar y se dejó solidificar. Los recuentos se hicieron por quintuplicado.

Se incubaron en estufa a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 2 horas. Terminada la incubación se realizó el conteo de las colonias crecidas en cada placa. Las colonias que presentaron color rojo purpura, rodeadas por un halo de precipitación rojizo son características de enterobacterias. Para confirmar el recuento, se sembraron colonias características en agar nutritivo inclinado en tubos que se incubaron en estufas a $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 2 horas.

A cada colonia sembrada en agar nutritivo, en tubos, se les realizó la prueba de oxidasa y la coloración de Gram, para confirmar la presencia de *Enterobacteriaceae*. Las mismas son bacilos Gram negativo no esporulados y oxidasa negativos. Se expresó el resultado como *Enterobacteriaceae* en u.f.c/g. En caso de no obtenerse ningún crecimiento el resultado se expresa como <100 u.f.c/g.

5.2.4. Recuento de coliformes totales

Metodología:

A partir de las diluciones 10^{-1} y 10^{-2} , se sembraron 0,1 ml en superficie en placas con medio de cultivo agar Violeta Rojo Bilis Lactosa (VRBL). Una vez distribuido el inóculo con espátula de Drigalsky, se agregó una sobrecapa de agar y se dejó solidificar. Los recuentos se hicieron por quintuplicado.

Se incubaron las placas en estufa a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 2 horas. Terminada la incubación se realizó el conteo de las colonias crecidas en cada placa. Las colonias que presentaron color rojo oscuro, con un diámetro de, por lo menos, 0,5 mm son características de coliformes totales. Se expresó el resultado como coliformes totales en u.f.c/g. En caso de no obtenerse ningún crecimiento el resultado se expresa como <100 u.f.c/g.

5.2.5. Recuento de Escherichia coli

Metodología:

A partir de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} , se sembró 1 ml de cada una de ellas en 3 tubos con 10 ml de caldo Lactosa Bilis Verde Brillante (LBVB) simple concentración con

campanita de Durham (3 tubos por cada dilución). Los tubos se incubaron a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas.

Terminada la incubación, se observaron si las campanitas de Durham presentaron gas en su interior. Las muestras positivas fueron sembradas en agar Endo en superficie por agotamiento, y se incubaron a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas.

En caso de obtener colonias rojas con o sin brillo metálico, se tomaron de 3 a 5 colonias y fueron sembradas en tubos de agar Nutritivo (AN) inclinado. Se llevó a incubación a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 18 a 24 horas. Para realizar una confirmación, se realizó a cada colonia sembrada en AN, las pruebas de IMViC; producción de indol, Rojo de Metilo, Voges-Proskauer y Citrato de Simmons.

Se confirma la presencia de *Escherichia coli* cuando se obtiene resultados de IMViC +++ (*E. coli* típica) ó +--+ (*E. coli* atípica). Se expresaron los resultados como Número Mas Probable (NMP) de *Escherichia coli* en 1 gramo. En el caso de no observar presencia típica de *Escherichia coli*, el resultado se expresó como <3 nmp/g según la Tabla de Número Más Probable (Sobol *et al*, 1995).

El protocolo para la ejecución de las pruebas de IMViC ha sido el siguiente:

1. Prueba de Indol: A partir de un cultivo puro, se inoculó con ansa un tubo de agua peptonada 1%. Se incubó a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Al finalizar el periodo de incubación se añadieron al tubo 3 a 5 gotas del reactivo de Kovacs y se agitó suavemente. Se esperó 10 minutos y se observaron los resultados. La prueba se considera positiva cuando existe la presencia de un anillo rojo en la superficie y negativa cuando se mantiene el color original.
2. Prueba de rojo de metilo: A partir de un cultivo puro, se inoculó con un ansa un tubo con caldo MRVP. Se incubaron a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas. Una vez finalizado el tiempo de incubación, se retiró una alícuota de 2,5 ml y se colocó en un tubo de ensayo chico. Se añadieron al tubo 3 a 5 gotas de la solución rojo de metilo y se observó inmediatamente el resultado, siendo la prueba positiva cuando el reactivo mantiene su color rojo original y negativa cuando vira a color amarillo.

3. Prueba de Voges-Proskauer: A partir de un cultivo puro, se inoculó con un ansa un tubo con caldo MRVP. Se incubaron a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas. Una vez finalizado el tiempo de incubación, se retiró una alícuota de 1 ml y se colocó en un tubo de ensayo chico. Se añadió al tubo 0,6 ml de la solución alfa naftol y 0,2 ml de solución de hidróxido de potasio (KOH). Se agitó suavemente durante 15 minutos hasta obtener los resultados. Una prueba positiva se identifica con la presencia de un color rojo a rosado en la superficie y una negativa mantiene el color original.
4. Prueba de Citrato: A partir de un cultivo puro, se inoculó, con un ansa, un tubo con agar citrato de Simmons y se incubó a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas. La prueba es positiva cuando se evidencia viraje de color verde a color azul, y es negativa cuando no se producen cambios en el color del medio de cultivo.

5.2.6. Recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa (+)

Metodología:

A partir de las diluciones 10^{-1} y 10^{-2} , se sembraron 0,5 ml en superficie en dos placas con medio de cultivo agar Baird Parker (BP), por cada dilución. Los recuentos se hicieron por quintuplicado.

Se incubaron las placas en estufa a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas. Terminada la incubación se identificaron todas las colonias típicas y atípicas presentes. Las colonias típicas son negras, brillantes y convexas de 1 mm a 2,5 mm de diámetro, rodeadas por una zona translúcida que presenta un anillo opalescente en contacto con las colonias. Las colonias atípicas pueden tener una o varios de las siguientes características: color menos oscuro, zona translúcida y/o anillo opaco ausente.

Se sembraron las colonias típicas en caldo de infusión cerebro corazón (BHI) y se incubaron a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas, al cabo de las cuales se realizó la prueba de la coagulasa en cada una de las colonias aisladas. Para esto, se colocó 0,3 ml de plasma de conejo con EDTA en un tubo de ensayo estéril y se transfirió 0,1 ml de cultivo a dicho tubo. Se incubó en estufa a 37°C durante 4 horas. Luego se examinaron los tubos con el fin de detectar la presencia de coágulos. De no observarse, se mantuvo el tubo a temperatura

ambiente y se leyó a las 24 horas. La formación de un coagulo organizado y claramente perceptible o la formación de un coagulo en todo el contenido del tubo, que no se desplaza al invertirlo, se considera característica de *Staphylococcus aureus* coagulasa (+).

Se expresó el resultado como *Staphylococcus aureus* coagulasa (+) en u.f.c/g si las colonias son confirmadas como coagulasa (+). En caso de no obtenerse dichos resultados, expresar el resultado como <10 u.f.c/g.

5.2.7. Recuento de anaerobios sulfito-reductores

Metodología:

Para la realización de este recuento, se calentaron tubos con 10 ml con Sulfito Polimixina Sulfadiazina (SPS) en agua hirviendo durante 10 minutos y luego fueron enfriados rápidamente a 45 °C en baño termostático. A partir de las diluciones 10^{-1} y 10^{-2} , se sembró lentamente 1 ml de cada dilución en cada uno de los tubos mencionados. Para realizar esto se debió introducir la pipeta hasta el fondo del tubo y comenzando desde el fondo hacia la superficie. Luego se mezcló por rotación suave entre las palmas de las manos y enfrió rápidamente en agua fría hasta solidificar el agar. Una vez solidificado el agar se agregó un tapón adicional de SPS para asegurar las condiciones de anaerobiosis. Los recuentos se hicieron por quintuplicado.

Se incubaron los tubos en estufa a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas. Terminada la incubación, se contaron las colonias negras presentes. Expresar el resultado como anaerobios sulfito-reductores en u.f.c/g. Dicho resultado se obtuvo realizando un promedio de los crecimiento de las 5 réplicas, considerando el factor de dilución y el volumétrico. En caso de no obtenerse ningún crecimiento el resultado se expresa como <10 u.f.c/g.

5.2.8. Recuento de hongos y levaduras

Metodología:

A partir de las diluciones 10^{-1} y 10^{-2} , se sembraron 0,1 ml en superficie en placas con medio de cultivo agar Levadura Glucosa Cloranfenicol (YGC). Los recuentos se hicieron por quintuplicado.

Se incubó en estufa a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 5 días. Terminada la incubación se seleccionaron las placas que contenían hongos y/o levaduras. El resultado se expresó como hongos y/o levaduras en u.f.c/g. Dicho resultado se obtuvo realizando un promedio de los crecimiento de las 5 réplicas, considerando el factor de dilución y el volumétrico. En caso de no obtenerse ningún crecimiento el resultado se expresa como <100 u.f.c/g.

5.2.9. Investigación de *Salmonella* en 25 g

Metodología:

Como etapa de pre-enriquecimiento, se sembraron 25 gramos de muestra en 225 ml de agua de peptona bufferada (APB). Se homogenizó en stomacher y se incubó a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas.

Una vez finalizada la incubación, a partir del pre-enriquecimiento se sembró 1 ml en 10 ml de Caldo Tetrationato Verde Brillante (TVB) y 1 ml en 10 ml de Caldo Selenito-Cistina (SC). Se incubaron ambos caldos a $43^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante 18 a 24 horas.

De los caldos de enriquecimiento, se sembraron ansadas por agotamiento en superficie de agar Verde Brillante (VB) y en agar Bismuto Sulfito (BS). Se incubó el agar VB a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas y el agar BS a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas.

Luego de los periodos de incubación se examinaron las placas para verificar si contenían colonias típicas de *Salmonella*. Las mismas se caracterizan por ser en el agar VB, colonias rosas con halo rojo brillante y en el agar BS, colonias marrones a negras con brillo metálico. En el caso de encontrar colonias características, se sembraron en placas de agar nutritivo y se incubaron a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas.

Las colonias crecidas en agar Nutritivo se sembraron en un tubo con agar Hierro Triple Azúcar (TSI) y en otro tubo con agar Lisina Hierro (LIA). Dichos medios de cultivo se sembraron primero en superficie inclinada y luego por picadura en la columna de agar. Se inoculó primero el TSI, y luego, sin flamear la aguja, se inoculó el LIA y se incubó a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas.

Los cultivos característicos de *Salmonella* muestran en TSI la superficie inclinada de color rojo y la columna de color amarillo y/o negro, debido a la producción de sulfuro de

hidrogeno (SH₂). En LIA se presenta una coloración purpura en todo el medio con o sin ennegrecimiento.

Las colonias características se confirmaron serológicamente mediante la prueba de aglutinación en placa con antisueros somáticos polivalentes. Para ello, se tomó con un ansa una pequeña cantidad de cultivo en TSI y se depositó en tres porciones separadas sobre un portaobjetos. Se colocó una gota de solución fisiológica (SF) sobre cada porción de cultivo y se emulsionó con un palillo de madera. Se depositó una gota de cada antígeno somático (antígeno A-S y A-G, ya que estos son los disponibles en UADE) sobre cada porción de cultivo emulsionado. Se mezcló cada porción con un palillo de madera, cambiando de palillo entre porciones.

La reacción es positiva cuando se produce una aglutinación rápida e intensa en una sola de las porciones. Es negativa cuando no se produce aglutinación. Es inespecífica cuando se produce aglutinación en mas de una porción. En este último caso se deben repetir las reacciones bioquímicas.

Se expresaron los resultados como *Se detecta* o *No se detecta* la presencia de *Salmonella* en 25 gramos.

6. Resultados de las determinaciones analíticas

En la **Tabla V** se presentan los resultados obtenidos de las determinaciones analíticas para el producto recién elaborado. Se detallan las especificaciones encontradas que posteriormente se utilizan en la determinación de estabilidad del producto. Las especificaciones de actividad acuosa y pH fueron establecidas luego de consultar con expertos en el tema cuyo criterio dictó que si el producto mantiene estabilidad no debe variar demasiado el valor con respecto a una medición inicial.

Los resultados de determinación de proteínas y grasas se encuentran detallados en las siguientes secciones.

Tabla V: Resultados de las determinaciones analíticas para el producto recién elaborado

	Ensayo	Valor encontrado	Especificación
<i>Análisis fisicoquímicos</i>	Aspecto	Marrón opaco/blando	Marrón opaco/blando
	Actividad acuosa (± 0.015)	0,96	> 0,96
	pH	7,0	Entre 6,5 y 7,5
<i>Análisis microbiológicos</i>	Recuento de bacterias Aerobias Mesófilas en u.f.c/g	550	< 100000
	Recuento de Enterobacterias en u.f.c/g	< 100	< 3000
	Recuento de Coliformes totales en u.f.c/g	< 100	< 500
	Recuento de <i>Escherichia coli</i> en nmp/g	< 3	< 50
	Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa (+) en u.f.c/g	< 10	< 100
	Recuento de Anaerobios sulfito-reductores en u.f.c/g	4	< 50
	Recuento de hongos y levadura en u.f.c/g	< 100	< 5000
Presencia de <i>Salmonella</i> en 25 g	No se detecta	No se detecta	

Tabla V: Resultados de determinaciones analíticas

Las especificaciones para los análisis microbiológicos se detallan en la **Tabla VI**.

Tabla VI: Límites microbiológicos para subproductos de pollo congelado rebozado en planta				
	n	c	m	M
Recuento de bacterias Aerobias Mesófilas en u.f.c/g	5	2	50000	100000
Recuento de Enterobacterias en u.f.c/g	5	2	1000	3000
Recuento de Coliformes totales en u.f.c/g	5	2	100	500
Recuento de <i>Escherichia coli</i> en nmp/g	5	2	10	50
Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa (+) en u.f.c/g	5	2	50	100
Recuento de Anaerobios sulfito-reductores en u.f.c/g	5	2	10	50
Recuento de hongos y levadura en u.f.c/g	5	2	3000	5000
Presencia de <i>Salmonella</i> en 25 g	5	0	NEGATIVO	-
n: Número de muestras que deben examinarse ; c: número máximo de muestras para aceptar el lote, que pueden contener un número de microorganismos comprendido entre m y M ; m: Valor límite por debajo del cual se puede admitir el lote ; M: Valor límite por encima el cual se rechaza el lote.				

Tabla VI: Límites microbiológicos para subproductos de pollo congelado, rebozado en planta
(Fuente: Sobol *et al*, 1995)

Según lo que especifica el Código Alimentario Argentino (art 156 tris, 2012) para lotes inferiores a 100 unidades, como es el caso en este trabajo, en lugar de analizar 5 unidades analíticas, de acuerdo a lo que establecen las especificaciones microbiológicas de SENASA, se procedió a la toma de una muestra indicativa y los criterios para la aceptación de la misma fueron:

1. Para parámetros que presentan un plan de 3 clases (todos los recuentos) pasar a uno de 2 clases donde ningún valor deberá sobrepasar el M propuesto. Dicho de otra

manera, aceptación si el recuento de microorganismos en la muestra indicativa es $\leq M$ y rechazo si el recuento de microorganismos en la muestra indicativa es $> M$.

2. Para parámetros que presentan un plan de 2 clases (investigación de *Salmonella*) mantener el plan y la alícuota de muestra analizada en gramos para cada parámetro. Dicho de otra manera, aceptación o rechazo, en función de la presencia o ausencia de microorganismos investigados en la muestra indicativa.

6.1. Determinación de proteínas

Los resultados obtenidos en la determinación del contenido de proteína en la harina de grillo y medallón de grillo han sido:

- Harina de grillos:
 - Muestra 1: 43,7%
 - Muestra 2: 43,7%
 - Muestra 3: 42,3%
 - Promedio: 43,3%
 - Coeficiente de variación porcentual: 1,9%
- Medallón de grillos
 - Muestra 1: 12,9%
 - Muestra 2: 13,0%
 - Muestra 3: 14,6%
 - Promedio: 13,5%
 - Coeficiente de variación porcentual: 7,1%

Los datos obtenidos en el presente análisis y utilizados para determinar el promedio final de proteínas se encuentran en el **ANEXO B**. El coeficiente de variación porcentual de 2,0 % se lo considera como máximo admisible para una validación de métodos analíticos en el parámetro precisión (Cels Castro *et al*, s.f). Tomando en cuenta que se trata de un producto biológico, no debería ser tan rigurosa la exigencia. Sin embargo, la variación porcentual está

cerca del valor citado, lo cual indica la gran homogeneidad de la harina de grillo. Dicha homogeneidad se pierde sensiblemente en la preparación del medallón.

6.2. Determinación de grasas

Los resultados obtenidos en la determinación del contenido de proteína en la harina de grillo y medallón de grillo han sido:

Harina de grillos:

- Muestra 1: 14,2%
- Muestra 2: 14,8%
- Muestra 3: 14,3%
- Promedio: 14,4%
- Coeficiente de variación porcentual: 2,2%
- Medallón de grillos
 - Muestra 1: 6,4%
 - Muestra 2: 7,5%
 - Muestra 3: 5,0%
 - Promedio: 6,3%
 - Coeficiente de variación porcentual: 19,9%

Los datos obtenidos en el presente análisis y utilizados para determinar el promedio final de grasas se encuentran en el **ANEXO B**. El coeficiente de variación porcentual de 2,0 % se lo considera como máximo admisible para una validación de métodos analíticos en el parámetro precisión (Cels Castro *et al*, s.f). Tomando en cuenta que se trata de un producto biológico, no debería ser tan rigurosa la exigencia. Sin embargo, la variación porcentual está cerca del valor citado, lo cual indica la gran homogeneidad de la harina de grillo. Dicha homogeneidad se pierde sensiblemente en la preparación del medallón.

7. Envasado

7.1. Envasado primario

El producto será envasado, en primera instancia, en bolsas de plástico, específicamente del tipo polietileno de baja densidad, de manera similar a lo utilizado en el estudio de vida útil. Las bolsas serán selladas y cada una contendrá 4 medallones de grillo.

Los plásticos, son polímeros que contienen interacciones débiles entre moléculas, sin embargo en una cantidad tal que se consigue una cohesión molecular muy fuerte. Por otro lado, esta cohesión se aumenta por la existencia de zonas de cristalinidad entre cadenas macromoleculares. Estos fenómenos son de gran interés debido a su *correlación positiva con la resistencia mecánica, la resistencia al calor, la resistencia a la disolución en determinados disolventes y la impermeabilidad a los gases de varias materias plásticas* (Cheftel y Cheftel, 1992, vol. 2).

Los factores que modifican la permeabilidad de un polímero son (Cheftel y Cheftel, 1992, vol. 2):

1. La naturaleza de un gas y su masa molecular: a mayor masa molecular del gas, disminuye la permeabilidad.
2. Estructura química del material, tanto el grado de cristalinidad como la energía de cohesión: mayor grado de cristalinidad y energía de cohesión, disminuye la permeabilidad.
3. Afinidades químicas entre el gas y el polímero plástico: afinidades químicas directas aumentan la permeabilidad.
4. Temperatura: a mayor temperatura, mayor permeabilidad del gas.
5. La presión de los gases (no aplica para oxígeno, nitrógeno y dióxido de carbono): a mayor presión del gas, mayor es la permeabilidad.
6. Espesor de la película: a mayor espesor de película, menor es la permeabilidad.

Las propiedades específicas del polietileno de baja densidad utilizado incluyen (Lefaux y Truhaut, 1972):

1. Resistencia mecánica moderada.

2. Adecuada resistencia a la congelación.
3. Baja resistencia al calor.
4. Permeabilidad al vapor de agua de 28g/m².
5. Resistencia química, excepto a hidrocarburos y disolvente clorados.

Tomando en cuenta las características del polietileno de baja densidad, el costo del material y su uso frecuente en productos similares, se eligió utilizarlo como material para el envase primario.

7.2. Presentación

Como envasado secundario, o presentación, se colocan las bolsas en paquetes conteniendo el logotipo del producto, los datos nutricionales e indicando el peso total. Se diseñó un packaging (**Figura 21**) tomando como referencia el producto al cual se compara, medallones de pollo de Granja del Sol.



Figura 21: Prototipo del packaging

El color verde se eligió ya que se percibe como un producto natural y saludable. Por otro lado, se optó por paquetes de papel rígido reciclables, brindando un aspecto “*green friendly*”, para nuevamente resaltar los beneficios del producto.

8. Estudio de estabilidad

Para determinar el tiempo de vida útil del producto se consideran los resultados de los análisis fisicoquímicos, microbiológicos, el tiempo de almacenamiento y tipo de envasado.

8.1. Lotes de producto elaborado

En la **Tabla VII**, se detallan las cantidades de medallones y peso promedio, elaborados en cada lote.

Tabla VII: Descripción de lotes de medallón		
Lote número	Cantidad de medallones elaborados	Peso promedio por medallón (g)
1	6	82
2	4	83
3	4	80
4	4	84

Tabla VII: Lotes de producción

8.2. Duración de estudio y frecuencia de testeo

El estudio de estabilidad se realizó durante un total de 4 meses y la frecuencia de testeo fue de 2 meses. Se realizaron análisis de aspecto, actividad acuosa, pH y microbiológicos para el producto recién elaborado, T_0 , el producto con 2 meses de almacenamiento, T_1 y el producto con 4 meses de almacenamiento, T_2 .

8.3. Condiciones de almacenamiento

Los lotes se almacenaron en un freezer a temperatura de -18°C , conservando cada medallón o porción de harina de grillo en bolsas de polietileno de baja densidad. Previo a cada análisis, se removió el producto del freezer y se procedió a completo descongelamiento.

8.4. Criterios de evaluación del producto

Los criterios de evaluación para determinar la estabilidad del producto durante el almacenamiento han sido:

1. Aspecto: Se considera que el producto debe tener un color marrón claro, opaco y textura blanda al momento de corte.
2. Actividad acuosa: A un mayor valor de actividad acuosa se considera que el producto tiene mayor riesgo de deterioro, ya que cuenta con una mayor cantidad de moléculas de agua libres, disponibles para ser utilizadas por microorganismos (Cheftel y Cheftel, 1992, vol 1). Sin embargo, la actividad acuosa del alimento no debe ser menor a 0,9 para mantener la reología estable.
3. pH: El valor de pH del alimento debe encontrarse entre 6,5 y 7,5 debido a que la primer medición, cuando el producto está recién elaborado, se encuentra entre estos valores. Al mantener estable los niveles de pH a lo largo del tiempo de almacenamiento se asume que se mantiene la estabilidad del producto.
4. Análisis microbiológicos: Como criterio de evaluación para los análisis microbiológicos se utilizaron los ya indicados para subproductos pollo congelado y rebozado en planta en la **Tabla VI**, apartado 6.

8.5. Resultados del estudio de estabilidad y vida útil

8.5.1. Tabla de resultados

En la **Tabla VIII** se presentan los resultados analíticos, utilizados para la determinación de la vida útil del producto y las especificaciones de cada análisis:

Tabla VIII: Estudios de estabilidad					
Condiciones de almacenamiento		-18 ° C			
Packaging primario		Medallones en bolsas de polietileno de baja densidad individuales			
Ensayo		Especificación	T ₀	T ₁	T ₂
<i>Análisis fisicoquímicos</i>	Aspecto	Marrón opaco/blando	Cumple	Cumple	Cumple
	Actividad acuosa ($\pm 0,015$)	> 0,96	0,96	0,99	1,00
	pH	Entre 6,5 y 7,5	7,0	6,9	6,5
<i>Análisis microbiológicos</i>	Recuento de bacterias Aerobias Mesófilas (u.f.c/g)	< 100000	550	110	340
	Recuento de Enterobacterias (u.f.c/g)	< 3000	< 100	< 100	< 100
	Recuento de Coliformes totales (u.f.c/g)	< 500	< 100	< 100	< 100
	Recuento de <i>Escherichia coli</i> (nmp/g)	< 50	< 3	< 3	< 3
	Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa (+) (u.f.c/g)	< 100	< 10	< 10	< 10
	Recuento de Anaerobios sulfito-reductores (u.f.c/g)	< 50	4	8	12
	Recuento de hongos y levadura (u.f.c/g)	< 5000	< 100	< 100	< 100
Presencia de <i>Salmonella</i> en 25 g		No se detecta	No se detecta	No se detecta	No se detecta

Tabla VIII: Resultados de estudio de estabilidad

8.5.2. Descripción de los resultados

Todos los análisis se realizaron utilizando los protocolos mencionados en el apartado “5. Metodologías de las determinaciones analíticas”. El estudio de estabilidad se implementó en el producto recién elaborado, T₀, el producto con dos meses de almacenamiento, T₁ y el producto con cuatro meses de almacenamiento, T₂.

- **Aspecto**

A medida que transcurrían los meses, en el producto no se observaron cambios importantes, siendo el mismo de un color marrón claro y opaco, de textura blanda al momento del corte. El aspecto del producto se mantiene estable a lo largo del tiempo evaluado.

- **Actividad acuosa**

La determinación de la actividad acuosa del producto con diferentes tiempos de almacenamiento ha arrojado los siguiente resultados.

1. Producto en T₀: $0,964 \pm 0,015$ a 23,9 °C
2. Producto en T₁: $0,991 \pm 0,015$ a 22,8 °C
3. Producto en T₂: $1,004 \pm 0,015$ 22,6 °C

Los resultados obtenidos muestran una actividad acuosa elevada. En cuanto a la estabilidad del producto, esto puede implicar un mayor desarrollo microbiológico, lo que puede afectar la vida útil del mismo.

- **pH**

La **Tabla IX** muestra los resultados de la medición de pH para el producto con distintos meses de almacenamiento.

Tabla IX: Resultados de pH medido a temperatura ambiente (23,9°C)			
Muestra	pH 1	pH 2	Promedio
Producto recién elaborado (T₀)	7,0	7,0	7,0
Producto de 2 meses (T₁)	6,9	6,9	6,9
Producto de 4 meses (T₂)	6,5	6,5	6,5

Tabla IX: Resultados de pH medido a temperatura ambiente (23,9°C)

El pH del alimento, al transcurrir los meses, se mantuvo en el rango de 6,5 a 7,5. Se observó una disminución gradual del pH en los distintos tiempos analizados.

- **Análisis microbiológicos**

A. Recuento de bacterias aerobias mesófilas

Resultados T₀:

Se obtuvo un recuento promedio de 550 u.f.c/g considerando la cantidad de colonias que se han contado en cada dilución, los correspondientes factores de dilución y el factor volumétrico. Las fotografías de placas con y sin crecimiento de colonias se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados de recuentos se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**.

Resultados T₁:

Se obtuvo un recuento promedio de 110 u.f.c/g considerando la cantidad de colonias que se han contado en cada dilución, los correspondientes factores de dilución y el factor volumétrico. Las fotografías de placas con y sin crecimiento de colonias se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados de recuentos se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**.

Resultados T₂:

Se obtuvo un recuento promedio de 340 u.f.c/g considerando la cantidad de colonias que se han contado en cada dilución, los correspondientes factores de dilución y el factor

volumétrico. Las fotografías de placas con y sin crecimiento de colonias se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados de recuentos se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**.

B. Recuento de *Enterobacteriaceae*

Resultados T₀:

Se obtuvo un recuento promedio de <100 u.f.c/g considerando la cantidad de colonias que se han contado en cada dilución, los correspondientes factores de dilución y el factor volumétrico. Las fotografías de placas con y sin crecimiento de colonias se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados de recuentos se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**. Al no obtener resultados no se realizaron análisis posteriores tal como la prueba de oxidasa y coloración de Gram.

Resultados T₁:

Se obtuvo un recuento promedio de <100 u.f.c/g considerando la cantidad de colonias que se han contado en cada dilución, los correspondientes factores de dilución y el factor volumétrico. Las fotografías de placas con y sin crecimiento de colonias se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados de recuentos se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**. Al no obtener resultados no se realizaron análisis posteriores tal como la prueba de oxidasa y coloración de Gram.

Resultados T₂:

Se obtuvo un recuento promedio de <100 u.f.c/g considerando la cantidad de colonias que se han contado en cada dilución, los correspondientes factores de dilución y el factor volumétrico. Las fotografías de placas con y sin crecimiento de colonias se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados de recuentos se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**. Al no obtener resultados no se realizaron análisis posteriores tal como la prueba de oxidasa y coloración de Gram.

C. Recuento de coliformes totales

Resultados T₀:

Se obtuvo un recuento promedio de <100 u.f.c/g considerando la cantidad de colonias que se han contado en cada dilución, los correspondientes factores de dilución y el factor volumétrico. Las fotografías de placas con y sin crecimiento de colonias se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados de recuentos se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**.

Resultados T₁:

Se obtuvo un recuento promedio de <100 u.f.c/g considerando la cantidad de colonias que se han contado en cada dilución, los correspondientes factores de dilución y el factor volumétrico. Las fotografías de placas con y sin crecimiento de colonias se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados de recuentos se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**.

Resultados T₂:

Se obtuvo un recuento promedio de <100 u.f.c/g considerando la cantidad de colonias que se han contado en cada dilución, los correspondientes factores de dilución y el factor volumétrico. Las fotografías de placas con y sin crecimiento de colonias se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados de recuentos se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**.

D. Recuento de *Escherichia coli*

Resultados T₀:

En el recuento se obtuvo un total de <3 NMP/g, considerando que no se obtuvieron crecimientos en ninguna de las tres diluciones. Las fotografías de los tubos se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados se observan en la tabla de datos presentes en el

ANEXO D. Ya que no se obtuvieron resultados positivos, no se realizaron pruebas posteriores tales como IMViC.

Resultados T₁:

En el recuento se obtuvo un total de <3 NMP/g, considerando que no se obtuvieron crecimientos en ninguna de las tres diluciones. Las fotografías de los tubos se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**. Ya que no se obtuvieron resultados positivos, no se realizaron pruebas posteriores tales como IMViC.

Resultados T₂:

- Dilución 10⁻¹: Se observó presencia de burbuja de gas en la campanita de Durham en los tres tubos sembrados.
- Dilución 10⁻²: Se observó presencia de burbuja de gas en la campanita de Durham solo en dos tubos sembrados.
- Dilución 10⁻³: No se observó presencia de burbuja de gas en la campanita de Durham en ninguno de los 3 tubos sembrados.

Todos los tubos que resultaron positivos para el análisis se sembraron en agar Endo, en las cuales se observó crecimiento de colonias rojas con brillo metálico. Las fotografías de los tubos con resultado positivo y negativo se encuentran en el **ANEXO C**. Posteriormente se sembraron las colonias desarrolladas en agar Endo a partir de los tubos positivos de las diluciones 10⁻¹ y 10⁻², en agar Nutritivo. Sobre los cultivos desarrollados en agar Nutritivo, se realizaron pruebas de IMViC. Los resultados mencionados a continuación, corresponden a las pruebas en el siguiente orden: Indol, Rojo de metilo, Voges-Proskauer, Citrato.

- Dilución 10⁻¹
 - Tubo 1: -+++
 - Tubo 2: -+-+
 - Tubo 3: -+++

- Dilución 10^{-2}
 - Tubo 2: ---+
 - Tubo 3: -+++

Ninguno de los resultados de IMViC se corresponden con los esperados en *Escherichia coli* típica ni atípica, por lo cual se determinó que el recuento de *Escherichia coli* es de <3 NMP/g. Los resultados se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**.

E. Recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa (+)

Resultados T_0 :

Se obtuvo un recuento promedio de <10 u.f.c/g considerando la cantidad de colonias que se han contado en cada dilución, los correspondientes factores de dilución y el factor volumétrico. No se obtuvo crecimiento típicos de *Staphylococcus aureus* coagulasa (+) para ninguna de las dos diluciones. A los crecimientos obtenidos se les realizó la prueba de coagulasa, siendo en todos los casos negativa. Las fotografías de placas con y sin crecimiento se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**.

Resultados T_1 :

Se obtuvo un recuento promedio de <10 u.f.c/g considerando la cantidad de colonias que se han contado en cada dilución, los correspondientes factores de dilución y el factor volumétrico. No se obtuvo crecimiento típicos de *Staphylococcus aureus* coagulasa (+) para ninguna de las dos diluciones. A los crecimientos obtenidos se les realizó la prueba de coagulasa, siendo en todos los casos negativa. Las fotografías de placas con y sin crecimiento se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**.

Resultados T₂:

Se obtuvo un recuento promedio de <10 u.f.c/g considerando la cantidad de colonias que se han contado en cada dilución, los correspondientes factores de dilución y el factor volumétrico. No se obtuvo crecimiento típicos de *Staphylococcus aureus* coagulasa (+) para ninguna de las dos diluciones. A los crecimientos obtenidos se les realizó la prueba de coagulasa, siendo en todos los casos negativa. Las fotografías de placas con y sin crecimiento se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**.

F. Recuento de anaerobios sulfito reductores

Resultados T₀:

Se obtuvo un recuento promedio de 4 u.f.c/g considerando la cantidad de colonias que se han contado en cada dilución, los correspondientes factores de dilución y el factor volumétrico. Las fotografías de placas con y sin crecimiento se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**.

Resultados T₁:

Se obtuvo un recuento promedio de 8 u.f.c/g considerando la cantidad de colonias que se han contado en cada dilución, los correspondientes factores de dilución y el factor volumétrico. Las fotografías de placas con y sin crecimiento se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**.

Resultados T₂:

Se obtuvo un recuento promedio de 12 u.f.c/g considerando la cantidad de colonias que se han contado en cada dilución, los correspondientes factores de dilución y el factor volumétrico. Las fotografías de placas con y sin crecimiento se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**.

G. Recuento de hongos y levaduras

Resultados T₀:

Se obtuvo un recuento promedio de <100 u.f.c/g considerando la cantidad de colonias que se han contado en cada dilución, los correspondientes factores de dilución y el factor volumétrico. Las fotografías de placas con y sin crecimiento de colonias se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados de recuentos se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**.

Resultados T₁:

Se obtuvo un recuento promedio de <100 u.f.c/g considerando la cantidad de colonias que se han contado en cada dilución, los correspondientes factores de dilución y el factor volumétrico. Las fotografías de placas con y sin crecimiento de colonias se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados de recuentos se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**.

Resultados T₂:

Se obtuvo un recuento promedio de <100 u.f.c/g considerando la cantidad de colonias que se han contado en cada dilución, los correspondientes factores de dilución y el factor volumétrico. Las fotografías de placas con y sin crecimiento de colonias se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados de recuentos se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**.

H. Investigación de *Salmonella* en 25 g

Resultados T₀:

No se detecta presencia de *Salmonella* en ninguna de las 5 réplicas

Las fotografías de las placas se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados de la investigación se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**.

Resultados T₁:

No se detecta presencia de *Salmonella* en ninguna de las 5 réplicas

Las fotografías de las placas se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados de la investigación se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**.

Resultados T₂:

No se detecta presencia de *Salmonella* en ninguna de las 5 réplicas

Las fotografías de las placas se pueden visualizar en el **ANEXO C**. Los resultados de la investigación se observan en la tabla de datos presentes en el **ANEXO D**.

8.6. Conclusiones del estudio de estabilidad

El estudio preliminar de estabilidad se realizó sobre muestras a escala laboratorio. Se presume que el producto tendrá un tiempo de vida útil de al menos 4 meses, bajo las condiciones consideradas: almacenamiento en un freezer a temperatura de -18°C, envasados en bolsas de polietileno de baja densidad.

La vida útil se ha determinado sobre la base de que el producto mantiene durante 4 meses la estabilidad dentro de las especificaciones establecidas en todos los criterios evaluados (parámetros microbiológicos y fisicoquímicos, aspecto, actividad acuosa y pH).

9. Industrialización

9.1. Volumen de producción deseado

En las zonas estratégicas elegidas como puntos de venta, Recoleta, Palermo y Belgrano, se cuenta con un total de 107 locales donde se comercializa los medallones Granja del Sol. Se realizaron entrevistas a los gerentes de venta de las cadenas de Coto, Día, Disco, Carrefour Market y Carrefour Express sobre ventas aproximadas por mes. En estos locales se vende un promedio de 11.800 paquetes por mes. En la **Tabla X** se detallan los datos de ventas de medallones de pollo Granja del Sol en las zonas de interés. Se desea acaparar un 10% del mercado en el primer año, siendo la producción inicial aproximadamente de 1.180 paquetes por mes. En la **Tabla XI** se determina el volumen de venta mensual y anual para el primer año de producción.

Tabla X: Datos de ventas Granja del Sol	
Cantidad de locales	107
Paquetes totales vendidos en la zona por mes	11828
Paquetes vendidos por mercado por mes	111
Cantidad de kilos vendidos por mes	3903,24
Precio por paquete	\$52,80
Ventas totales de la zona por mes	\$624.518,40

Tabla X: Ventas de medallones de pollo Granja del Sol

Tabla XI: Volumen de venta para primer año		
Año 1	10%	
Cantidad de kilos a producir por mes	390	kg
Cantidad de gramos por caja	330	g
Cantidad de paquetes por mes	1183	Unidades
Precio por paquete	\$59,86	
Ventas totales en un mes	\$70.799,03	
Ventas en el año	\$849.588,34	

Tabla XI: Estimación del volumen de producción para el primer año

El nivel de producción necesita un volumen de materia prima de 200 kg de grillo crudo por mes, en el primer año. Actualmente, el proveedor de la materia prima mencionada no

consta con la capacidad de producción de esta cantidad. Considerando esto, se asume que sería necesaria una expansión del volumen de producción del proveedor. Del mismo modo, una reestructuración del precio, ya que está basado en un volumen de ventas mucho menor. Actualmente, el proveedor tiene disponible un bioterio de 180 m², con una posible expansión a una planta o biofabrica de 1000 m², donde el salto de escala permitiría una reducción del precio/kg de grillo de 10 a 100 veces.

9.2. Transición de la elaboración a escala laboratorio a un proceso de magnitud industrial

Considerando el volumen de producción que se planifica elaborar en el primer año, es necesario el traslado de la fabricación desde escala laboratorio a escala industrial. Para ello se debe calcular una mayor cantidad de materia prima, como así también maquinarias aptas para la producción deseada. Los pasos de elaboración son los mismos, con tiempos iguales de cocción, únicamente variando el último paso del proceso productivo que involucra el envasado del producto final.

9.3. Proceso de producción

Se detallan los pasos y maquinaria necesaria para la elaboración a escala piloto del medallón de grillo procesado.

- Hervor de grillos: Se colocan los grillos en canastos de acero inoxidable de poros de 0,5 centímetros de diámetro, los cuales son sumergidos en un tanque contenedor de agua, de acero inoxidable con 40 litros de capacidad máxima, por 2 minutos. Este tanque se lleva a altas temperaturas por la acción de calentadores localizados en el extremo inferior. Se debe mantener la temperatura del agua a 100°C durante este proceso. Se remueven los canastos de acero inoxidable permitiendo escurrir el agua y se coloca el producto en bandejas de 1,070x0,301 m² para horno. La **Figura 22** muestra el equipo ha ser utilizado para este proceso.



Figura 22: Maquinaria a utilizar para el hervor de grillos.

- Horneado: Se colocan las bandejas dentro del horno manteniendo la temperatura entre 180°C y 200°C durante 25 minutos. El horno consiste en seis quemadores de caño redondo, con medidas externas de 1,205×0,509×0,750 metros y medidas internas de 1,070×0,301×0,705 metros. Dentro del mismo se pueden colocar hasta 3 bandejas con superficie de 0,322 m² en las cuales entran aproximadamente 3 kg de grillo. La **Figura 23** muestra las características físicas del horno a utilizar.



Figura 23: Horno a utilizar para la cocción de los grillos.

- Molienda: Una vez que los grillos tienen consistencia crocante, se procede a retirarlos del horno y colocarlos en una molienda o trituradora (**Figura 24**), con capacidad máxima de 16 litros, hasta obtener un procesado uniforme. Este volumen tiene una capacidad total de 14 kg de grillo aproximadamente.



Figura 24: Multiprocesadora Kuter

- Mezclado y amasado: Para este paso se debe utilizar una amasadora con un tanque de 20 kilogramos de capacidad máxima. Aquí se colocan iguales cantidades del procesado de grillos, descrito en el paso anterior, y harina leudante y se realiza un mezcla de componentes secos. Luego, se debe colocar 6% del peso de la mezcla anterior de aceite, 60% de agua y 0,05% de sal diluida en el agua. Estos ingredientes se deben amasar hasta formar una pasta homogénea que será utilizada en el siguiente paso. La **Figura 25** muestra la amasadora necesaria para llevar a cabo este paso. Para una futura planta de producción de mayor nivel, se podrá utilizar una mezcladora en V o una de doble cono.



Figura 25: Maquina amasadora

Para proyectar la capacidad de carga de la maquina amasadora, se determinaron las densidades aparentes *bulk* y *taped* para la harina de grillo, harina de trigo y la mezcla de componentes secos.

Metodología:

Para la determinación de las densidades, se colocaron los polvos evaluados, por separado, en una probeta utilizando un embudo. Se registró el peso de la muestra (p) y el volumen (V_0). Luego, tapando la boca de la probeta, para no perder muestra, se golpeó contra la mesada repetidas veces (40 aproximadamente) para compactar el polvo y se registró el nuevo volumen (V_f).

Con los datos obtenidos, se procedió a obtener las densidades aparentes tanto *bulk* como *taped*, utilizando las fórmulas (3) y (4), y posteriormente, el índice de Carr, utilizando la fórmula (5), para cada muestra.

$$DAB = p/V_0 \tag{3}$$

$$DAT = p/V_f \tag{4}$$

$$ICarr = \frac{DAT-DAB}{DAT} * 100 \tag{5}$$

- DAB = densidad aparente *bulk*
- DAT = densidad aparente *taped*
- iCarr = índice de Carr
- V_0 = volumen inicial (ml)
- V_f = volumen final (ml)
- p = peso (g)

En la **Tabla XII** se pueden observar los resultados obtenidos, en conjunto con los correspondientes índices de Carr. Se pueden visualizar las diferencias entre densidades de los componentes evaluados en la **Figura 26**.

Tabla XII: Determinación de Índice de Carr			
Componentes analizados	Densidad aparente bulk (g/cm³)	Densidad aparente taped (g/cm³)	Índice de Carr (%)
Harina de grillo	0,35	0,45	22,8
Harina de trigo	0,70	0,85	17,6
Mezcla de harinas	0,55	0,61	9,8

Tabla XII: Índices de Carr

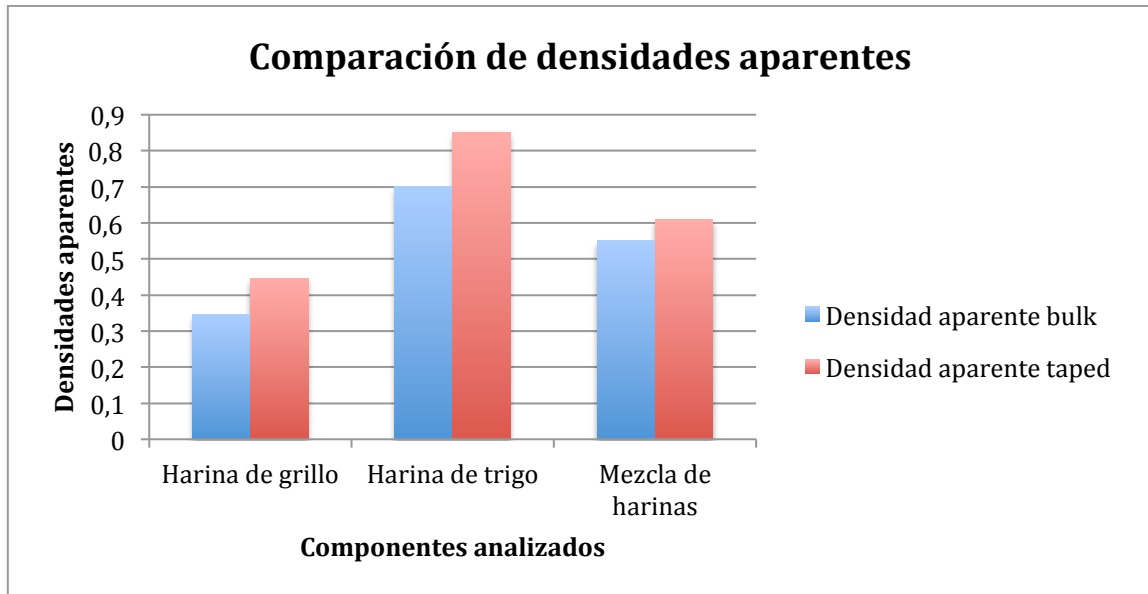


Figura 26: Comparación entre densidades aparentes

Los índices de Carr obtenidos para la harina de grillo y la harina de trigo son similares. Con ello, no se anticipan problemas de mezcla entre los componentes. Para comprobar la robustez de la mezcla, se elaboró una pequeña cantidad de la misma y se forzó la segregación de polvos mediante movimientos del tipo zarandeo, y no se observó segregación. Se concluye que la mezcla en esa etapa del proceso será homogénea y puede llevarse a cabo con facilidad. Finalmente, con el dato de la densidad aparente *bulk* de la mezcla de componentes secos, siendo la misma 0,55, se puede determinar que la capacidad de carga de la maquina amasadora corresponde al 55%.

- Moldeado y cocción: En una bandeja con moldes de 8 centímetros de ancho y 1,5 centímetros de alto (**Figura 27**), se coloca la pasta proveniente del paso anterior. En las tres bandejas de horno, de 0,322 m² de superficie, se pueden colocar un total de 192 moldes. Una vez obtenidos los medallones moldeados, se procede a llevar al horno durante 4 minutos, 2 minutos de cada lado, a una temperatura de 150 °C.



Figura 27: Moldes en placa para horno

- Rebozado y precocción: Se colocan los medallones cocidos en contenedores de plástico donde se sumergen en huevo pasteurizado hasta cubrir por completo todos los medallones. Se los lleva a empanizar en bandejas conteniendo pan rallado. La precocción se realiza durante 3 minutos a una temperatura de 180°C, en placas para horno de acero inoxidable.
- Envasado: Los medallones se agrupan de a 4 unidades y se envasan en paquetes de polietileno de baja densidad sellados. Se conservan en el freezer hasta la posterior distribución de los mismos. En el momento de la distribución se empaquetan en cajas de a 10 paquetes. La **Figura 28** muestra el equipo sellador que será utilizado.



Figura 28: Selladora utilizada para envasar el producto final.

9.4. Instalaciones y recursos

9.4.1. Croquis de la planta industrial

En la **Figura 29** se muestra el croquis de la planta industrial, necesaria para llevar a cabo la producción del alimento en la medida planteada. El mismo se propone como instancia inicial y tiene mínimos requerimientos de calidad. Si se proyecta una mayor producción se debe asegurar que se cumplan las normas GMP (*Good Manufacturing Practice*).

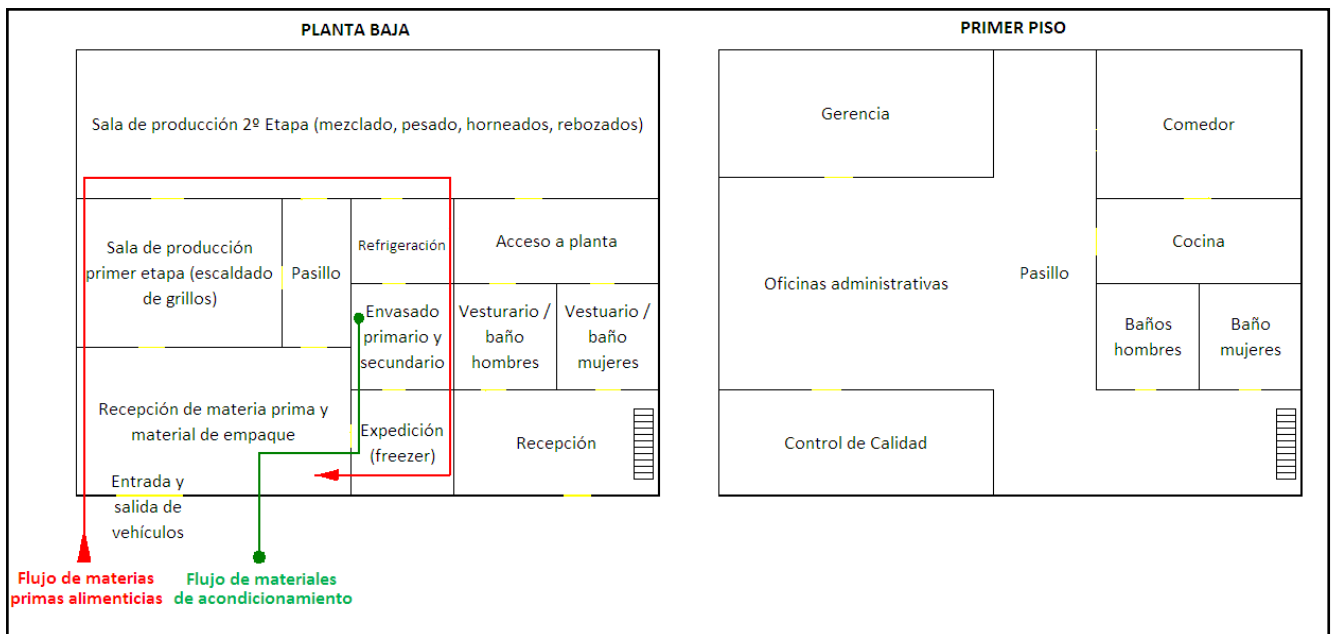


Figura 29: Croquis de la planta de producción

Además, se realizó un croquis esquemático de una planta modelo a gran escala, la cual cumple con la normativa GMP, mostrado en el **ANEXO E**.

9.4.2. Instalación

Se planifica alquilar un galpón donde se realizará tanto el proceso productivo como las tareas administrativas. El mismo se encuentra en el barrio de Floresta, ubicado en la zona sudoeste de Capital Federal. La planta de producción está localizada a pocos kilómetros de los puntos de distribución, a 6 km del barrio de Palermo, 8 km del barrio de Recoleta y 11 km del barrio de Belgrano. Considerando la cercanía a los puntos de venta y el bajo precio de

alquiler se optó por situar la planta de producción allí. Cuenta con una superficie de 170 m² totales.

9.4.3. Recursos humanos

Se contará con personal para el área de proceso productivo y para la administración. En cuanto al primero, se tendrá un total de 5 personas que trabajarán un total de 6 horas por día cada una. Una de ellas estará a cargo de las tareas de hervor, horneado, molienda, mezclado, amasado y envasado, y cuatro de ellas para las actividades de moldeado, rebozado y precocción del producto final. Por otro lado, la administración será llevada a cabo por una persona encargada de la reposición de los materiales, logística de la distribución, contacto con clientes y los aspectos contables de la organización. En la **Tabla XIII** se muestran los cálculos de remuneración para los empleados.

Tabla XIII: Remuneración		
H hombre prod/mes	Precio/h hombre	Precio/mes
4	\$35,00	\$146,28
45	\$35,00	\$1.568,07
5	\$35,00	\$163,64
8	\$35,00	\$282,23
283	\$35,00	\$9.915,32
290	\$35,00	\$10.136,29
9	\$35,00	\$309,85
51	\$35,00	\$1.788,76
TOTAL		\$24.310,44
H hombre adm/mes	Precio/h hombre	Precio/mes
200	\$80,00	\$16.000,00
TOTAL		\$40.310,44

Tabla XIII: Remuneración para personal de planta de producción

9.5. Costos industriales

Para estimar los costos de producción se tomó como referencia los medallones de pollo de Granja del Sol. Se presentan en paquetes de a 4 unidades de 330 gramos con un precio promedio de \$52,80. Se optó por dicho producto para realizar el análisis de costos, ya que es un producto empanizado, precocido y congelado y posee una presentación similar. El total de proteína de los medallones de pollo es del 11,5%, menor al 13,5% encontrado en los medallones de grillo, con lo cual se obtiene una ventaja competitiva.

En las **Tablas XIV, XV y XVI**, se detallan los costos variables, fijos y la inversión inicial necesaria para determinar el precio final del producto. Los gastos mensuales de contingencia corresponden al 10% de la inversión inicial. El detallado de la amortización de la inversión inicial se detalla a continuación en la **Tabla XVII**.

Tabla XIV: Costos variables de producción						
Costos variables	Precio/prod final	Cantidad (kg)/prod final	Precio/unidad	Cantidad(kg)/unidad	Unidades/mes	Precio total por mes
Harina	\$0,72	0,069	\$10,49	1,000	1183	\$856,12
Aceite	\$0,09	0,008	\$10,42	0,925	1183	\$110,32
Sal	\$0,00	0,000069	\$14,58	1,000	1183	\$1,19
Huevo	\$1,67	0,1	\$10,00	0,600	1183	\$1.971,33
Pan rallado	\$0,12	0,005	\$24,00	1,000	1183	\$141,94
Bolsas	\$0,16	-	16	100	1183	\$189,25
Grillos	\$6,88	0,172	\$40,00	1,000	1183	\$8.137,66
Total de costos variables						\$11.407,82
Costo variable/prod final						\$9,64
Referencias:						
Producto final: 1 paquete de 4 medallones de grillo.						

Tabla XIV: Costos variables de producción para el primer año

Tabla XV: Costos fijos de producción	
Costos fijos	Precio mensual
Alquiler	\$6.000,00
Luz	\$180,00
Gas	\$60,00
Agua	\$83,46
Telefono	\$50,00
Seguridad	\$300,00
Gastos de contingencia	\$4.668,90
Gastos de oficina	\$500,00
Remuneracion	\$40.310,44
Amortizacion mensual	\$402,14
Flete	\$400,00
TOTAL	52954,94
Costo fijo unitario	44,77

Tabla XV: Costos fijos de producción para el primer año

Tabla XVI: Inversión inicial			
Equipamiento	Precio/unidad	Cantidad	Precio total
Freezer	\$4.359,00	2	\$8.718,00
Contenedor para hervor	\$5.000,00	1	\$5.000,00
Horno	\$8.099,00	1	\$8.099,00
Moledora	\$8.999,00	1	\$8.999,00
Amasadora	\$2.650,00	1	\$2.650,00
Selladora	\$349,00	1	\$349,00
Bandejas para horno	\$150,00	6	\$900,00
Mesas	\$1.950,00	2	\$3.900,00
Moldes	\$15,00	200	\$3.000,00
Contenedor de plástico	\$90,00	4	\$360,00
Computadora	\$3.200,00	1	\$3.200,00
Escritorio	\$900,00	1	\$900,00
Silla de oficina	\$400,00	1	\$400,00
Manopla	\$77,00	2	\$154,00
Espátula	\$30,00	2	\$60,00
Matafuego	\$400,00	1	\$400,00
TOTAL			\$46.689,00

Tabla XVI: Inversión inicial necesaria para la producción en el primer año

Tabla XVII: Amortización de inversión inicial				
Recursos Amortizables	Precio total	Vida útil (años)	Amortización anual	Amortización mensual
Freezer	\$8.718,00	10	\$871,80	\$72,65
Contenedor para hervor	\$5.000,00	20	\$250,00	\$20,83
Horno	\$8.099,00	15	\$539,93	\$44,99
Moledora	\$8.999,00	10	\$899,90	\$74,99
Amasadora	\$2.650,00	5	\$530,00	\$44,17
Selladora	\$349,00	15	\$23,27	\$1,94
Bandejas para horno	\$900,00	10	\$90,00	\$7,50
Mesas	\$3.900,00	20	\$195,00	\$16,25
Moldes	\$3.000,00	5	\$600,00	\$50,00
Contenedor de plástico	\$360,00	15	\$24,00	\$2,00
Computadora	\$3.200,00	5	\$640,00	\$53,33
Escritorio	\$900,00	20	\$45,00	\$3,75
Silla de oficina	\$400,00	5	\$80,00	\$6,67
Manopla	\$154,00	5	\$30,80	\$2,57
Espátula	\$60,00	10	\$6,00	\$0,50
Total			\$4.825,70	\$402,14

Tabla XVII: Amortización de la inversión inicial

Una vez obtenidos los costos variables y fijos unitarios de \$9,64 y \$44,70 respectivamente, en conjunto con los volúmenes de venta esperados, se procedió a determinar el precio de venta unitario del producto y el punto de equilibrio de venta en paquetes por mes y en ventas totales por mes. La **Tabla XVIII** detalla dichos valores.

Tabla XVII: Determinación de precio de venta y punto de equilibrio	
Costo Variable unitario	\$9,64
Costo fijo unitario	\$44,77
Costo total unitario	\$54,42
Margen	10%
Precio de venta unitario	\$59,86
Costo por kilo	\$162,92
Costo fijo total	\$52.954,94
Punto de Equilibrio en unidades	1055
Punto de Equilibrio en \$	\$63.126,48

Tabla XVII: Precio de venta y punto de equilibrio

El punto de equilibrio en unidades se determinó utilizando la fórmula (6), siendo el mismo 1055 unidades de producto que se deben vender por mes para no presentar ni pérdidas ni ganancias.

$$PE(\text{unidades}) = \frac{CF}{PV_{\text{unitario}} - CV_{\text{unitario}}} \quad (6)$$

$$PE(\text{unidades}) = \frac{52.954,94}{59,86 - 9,64}$$

$$PE(\text{unidades}) = 1055 \text{ unidades}$$

- PE (unidades) = punto de equilibrio en unidades
- CF = Costos fijos totales
- PV = precio de venta
- CV = costo variable

El punto de equilibrio en pesos se determinó utilizando la fórmula (7), siendo el mismo \$63.126,48 el cual representa el valor que se debe vender por mes para no presentar ni pérdidas ni ganancias.

$$PE(\$) = \frac{CF}{1 - \left(\frac{CV_{unitario}}{PV_{unitario}}\right)} \quad (7)$$

$$PE(\$) = \frac{52.954,94}{1 - \left(\frac{9,64}{59,86}\right)}$$

$$PE(\$) = 63.126,48$$

- PE (\$) = punto de equilibrio en pesos
- CF = Costos fijos totales
- PV = precio de venta
- CV = costo variable

Dado que en el primer año se planifica una venta mayor al punto de equilibrio, se considera que se cuenta con un buen inicio para este proyecto. Como resumen de los costos para el primer año de producción y proyección a los próximos cuatro años, se plantea el estado de resultados en la **Tabla XIX**.

Tabla XIX: Estado de resultados					
	Año 1	Ano 2	Ano 3	Ano 4	Ano 5
Ventas por año	\$849.588,34	\$892.067,76	\$936.671,15	\$983.504,70	\$1.032.679,94
Costos	\$136.893,81	\$143.738,50	\$150.925,42	\$158.471,69	\$166.395,28
Resultado bruto	\$712.694,53	\$748.329,26	\$785.745,72	\$825.033,01	\$866.284,66
Gastos de adm y comer	\$670.943,97	\$670.943,97	\$670.943,97	\$670.943,97	\$670.943,97
Resultado operativo	\$41.750,56	\$77.385,29	\$114.801,75	\$154.089,04	\$195.340,69
Amortizaciones	\$4.825,70	\$4.825,70	\$4.825,70	\$4.825,70	\$4.825,70
Resultado imponible	\$36.924,86	\$72.559,59	\$109.976,05	\$149.263,34	\$190.514,99
Impuestos	\$12.923,70	\$25.395,86	\$38.491,62	\$52.242,17	\$66.680,25
Resultado neto	\$24.001,16	\$47.163,73	\$71.484,44	\$97.021,17	\$123.834,74

Tabla XIX: Estado de resultados para los primeros 5 años del proyecto

En la **Tabla XX**, se muestran los valores obtenidos de los indicadores de rentabilidad, siendo estos VAN (valor actualizado neto), TIR (tasa interna de retorno o tasa de corte más alta que soportaría el proyecto) y Payback (tiempo de devolución de inversión).

Tabla XX: Indicadores de rentabilidad		
Tasa	20%	
Inversión inicial	-\$46.689,00	
Año 1	\$24.001,16	
Año 2	\$47.163,73	
Año 3	\$71.484,44	
Año 4	\$97.021,17	
Año 5	\$123.834,74	
VAN	\$143.988,03	
TIR	93%	
Payback	1,5	Años
Referencias:		
<ul style="list-style-type: none"> - VAN: Valor Actualizado Neto - TIR: Tasa Interna de Retorno - Payback: tiempo de devolución de inversión 		

Tabla XX: Indicadores de rentabilidad

Se obtuvo un VAN de \$143.988,03 con una tasa de corte, r , del 20%. La tasa de corte es la rentabilidad mínima que los inversores pretenden recibir por el dinero que aportan. Considerando lo mencionado, los inversores recibirán en el quinto año un monto correspondiente a lo que hoy en día equivalen \$143.988,03. Por otro lado, se calculó un TIR, del 93% siendo el valor de la tasa de corte cuando VAN es igual a cero. El plazo de pago es de un año y 6 meses aproximadamente, indicando el tiempo en el cual el inversor recuperaría su inversión inicial.

10. Plan comercial – Estrategias de marketing

Se describen los cuatro elementos centrales para que el cliente perciba el valor del producto y quiera comprarlo.

- **Producto:** El producto se expende en paquetes de 330 gramos conteniendo 4 medallones de grillo rebozados, precocidos y congelados, envueltos en bolsas de polietileno de baja densidad selladas. Se entregan a los supermercados en cajas de 10 paquetes. El nombre comercial del mismo es Crick. Dentro de los principales beneficios para el consumidor se cuenta con una rápida cocción e ingesta de un alto porcentaje proteico. La **Figura 30** muestra la imagen del logotipo del producto.



Figura 30: Logotipo del producto Crick

- **Precio:** El precio de venta es de \$59,86, el cual es mayor que el precio de los medallones de pollo Granja del Sol. Esto se debe a que al ser un producto nuevo, no se puede asegurar un volumen de venta muy grande, por lo cual se debe aumentar el precio para cubrir los costos. Se proyecta utilizar esto como un beneficio ya que se apunta la venta del producto a personas con alto nivel adquisitivo, en un principio, y se desea que se aprecie como un producto exclusivo. Se estima que con un volumen de venta mayor, se podrá disminuir el precio.
- **Plaza:** Crick se encontrará a la venta en los 107 comercios de los barrios Recoleta, Palermo y Belgrano en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Se

planifica vender el producto en dichas zonas debido al alto porcentaje poblacional. La distribución del producto hacia los locales se realizará de manera tercerizada.

- Promoción: El plan de comunicación será desarrollado internamente, por lo cual no se contactará a una agencia publicitaria. Se buscará transmitir al público información acerca del producto, una descripción del contenido nutricional, beneficios y posibles usos del mismo. Se prevé publicitar en radios, revistas o diarios locales.

11. Discusión

En el presente trabajo, se desarrolló un producto innovador y se realizaron pruebas analíticas y de estudio de mercado. Para comenzar, se realizaron encuestas anónimas y electrónicas para posteriormente decidir qué tipo de producto se realizaría. Utilizando los resultados de la encuesta, se combinaron las respuestas que obtuvieron el mayor porcentaje, siendo los mismos un “*Snack/Comida rápida*” y “producto empanizado”. Se optó por un medallón de grillo rebozado, precocido y congelado. Este producto se eligió debido a que se trata de un producto fácilmente comercializable, de sencilla producción, bajos costos industriales y de fácil alcance a los compradores.

Dentro de los objetivos específicos planteados, se encuentra la determinación del valor nutritivo del producto en cuestión. Para dicho fin, se realizaron determinaciones analíticas de proteínas y grasas. El análisis cuantitativo de proteínas se realizó mediante el método Kjeldhal. En primer lugar se evaluó la materia prima del proceso productivo, harina de grillos, que contuvo un total de, aproximadamente, 43% de proteína pura. El alto porcentaje de proteínas se consideró un gran beneficio para continuar con el proyecto, ya que se lo puede utilizar como una fuente de alimentos alternativa. Una vez realizado el producto final se llevó a cabo el mismo análisis dando en promedio aproximadamente 13% de proteína. En cuanto a la evaluación del contenido de grasas, se realizó tanto para la harina de grillos como para el producto final, utilizando el equipo Soxhlet automático, siendo los valores de aproximadamente 12% y 6% respectivamente.

Una vez finalizada la determinación del valor nutritivo, se prosiguió a calcular la estabilidad y vida útil del producto. Para lograrlo se llevaron a cabo tanto estudios fisicoquímicos como análisis microbiológicos. En cuanto a estos últimos, se compararon los resultados con los límites recomendados por SENASA para subproductos de pollo congelados y rebozado en planta. La duración del estudio fue de cuatro meses, en los cuales el producto mantuvo su estabilidad durante todo el periodo analizado. Con esto se puede concluir que el alimento tiene una vida útil asegurada, bajo las condiciones en las cuales se evaluó, de 4 meses. Debido al alcance, tanto de recursos, tiempo y cantidad de producto elaborado, no se pudo determinar el tiempo máximo de estabilidad del alimento.

Luego de la formulación del producto a escala laboratorio, se trasladó el mismo a escala industrial. En conjunto, se elaboraron los costos de producción considerando que se trata un producto innovador, lo que implica una limitación en el nivel de producción inicial. En el primer año se proyecta una venta aproximada de 1183 unidades por mes, siendo las mismas paquetes de 4 medallones cada una, con un monto de ventas totales de \$849.588,34 anual. Para comenzar el proyecto se necesita una inversión de \$46.689,00. Considerando una proyección de 5 años de producción, el plazo de pago de la inversión inicial es de 1,5 años, el valor actualizado neto (VAN) es de \$143.988,03, con una tasa de corte del 20%. Por otro lado la tasa interna de retorno es de 93%. Con estos datos obtenidos y herramientas utilizadas, se puede asumir que el proyecto planteado sugiere una buena rentabilidad.

Es de gran importancia lograr determinar, con el correspondiente aval de la autoridad sanitaria competente, si el producto elaborado es apto para el consumo humano ya que el mismo no está homologado como un alimento para humanos en Argentina. Considerando esto, una prueba de degustación del producto en cuestión excede el ámbito de la tesis académica para ser parte de un plan de negocios. Una vez elaborados los análisis específicos para dicho producto, se podrá realizar una degustación formal, en el caso de no obtener resultados que perjudiquen al consumidor.

Como última instancia se diseñó un posible modelo del packaging. El mismo consta de un paquete presentando la marca, el contenido y valores nutricionales.

Queda pendiente para futuros trabajos de mayor alcance, la determinación del tipo de grasas y cantidades correspondientes. Además, se debe determinar las cantidades y tipos de minerales presentes en el medallón de grillo. Datos bibliográficos indican altos contenidos de aminoácidos esenciales, dentro del alto porcentaje de proteínas. Por otro lado, para realizar posteriores análisis, se podría adicionar al producto algún tipo de conservante, como por ejemplo, sorbato de potasio, al igual que disminuir el pH con acidulantes, para aumentar la vida útil del mismo. Una vez realizados los trabajos pendientes sugeridos, se podrá obtener en mayor detalle la calidad del producto elaborado.

12. Conclusión

En el presente trabajo se fabricó un medallón de grillos rebozado, precocido y congelado, el cual consta con ciertas ventajas y desventajas. Se ha logrado un avance en la posible futura comercialización de los grillos como materia prima para alimentación humana. La ventaja principal es el gran valor nutritivo a nivel proteico, y la gran capacidad de conversión de alimento a biomasa de los grillos, que es acorde a lo deseado en el contexto de una demanda creciente de alimentos. Como característica adicional, la producción de grillos podría considerarse como “*green friendly*” ya que las emisiones gaseosas son menores que en otros tipos de crianzas.

Como desventaja se resalta que, al ser un producto innovador y no conocido en el mercado, los proveedores de materia prima disponibles son escasos, generando una limitación. Esto lleva a una dificultad con respecto a la imposibilidad de producir a escalas mayores el producto. A su vez, por la restricción de escala de producción, se eleva el precio, acotando el rango de posibles compradores.

En conclusión se presenta un producto a base de materia prima no convencional, como son los grillos de la especie *Gryllus assimilis*, contemplando su valor nutritivo, tiempo de vida útil, proceso productivo, elaboración de packaging primario y costos iniciales de elaboración.

13. Bibliografía

- Bednárová, Martina, Borkovcová, Marie y Komprda, Tomas, 2013, Purine derivative content and aminoacid profile in larval stages of three edible insects. *Society of Chemical Industry*. 2013. P. 71-76.
- Braña Varela, Diego, Ramirez Rodriguez, Ericka, Rubio Lozano, Maria de la Salud, Sanchez Escalante, Armida, Torrescano Urrutia, Gaston, Arenas de Moreno, Maria Lilia, Partida de la Peña, Jose Armando, Ponce Alquicira, Edith y Rios Rincon, Francisco Gerardo, 2011, *Manual de Análisis de Calidad en Muestras de Carne*. Ajuchitlan : Sagarpa.
- Caporaletti, Daniel, 2014, Cuidados Básicos del Grillo común. *Grilloscapos.com.ar* [En línea]. 2014. [Accedido: 14 de Mayo 2015]. Disponible en: <http://www.grilloscapos.com.ar/cuidados.htm>
- Cels Castro, Marta, Gascón Fora, Sebastian, Pujol Forn, Marti, Sans Roca, Maria Josep y Vicente Pla, Luis, [Sin fecha], *Validación de métodos analíticos A.E.F.I Sección Catalana*. Comisión de Normas de Buena Fabricación y Control de Calidad.
- Cheftel, Jean Claude y Cheftel, Henri, 1992, *Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos*. Zaragoza: Acribia. Vol. 1
- Cheftel, Jean Claude y Cheftel, Henri, 1992, *Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos*. Zaragoza: Acribia. Vol. 2
- Cricketcare.org, 2015, Raising & Breeding Crickets. [En línea]. 2015. [Accedido: 12 de Julio 2015]. Disponible en: <http://cricketcare.org/breeding/>
- FAO, 2008, *Forest Insects as food: humans bite back* [En línea]. Chiang Mai. [Accedido: 4 de Abril 2015]. Asia-Pacific resources and their potential for development. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/012/i1380e/i1380e00.pdf>
- Fernandez Cirelli, Alicia, [Sin fecha], La actividad ganadera: Vacas peligrosas. *Encrucijadas*. Vol. 41.

- Halloran, Afton y Vantomme, Paul, 2013, *La contribución de los alimentos a la seguridad alimentaria, los medios de vida y el medio ambiente* [En línea]. Roma : FAO: Food and Agriculture Organization. [Accedido: 12 de Julio 2015]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/018/i3264s/i3264s00.pdf>
- ICMSF, 2015, *Microbiología de los alimentos - Métodos de muestreo para análisis microbiológico: principios y aplicaciones específicas*. Zaragoza : Acribia.
- JP Selecta, 2012, METODO KJELDAHL / KJELDAHL METHOD « Notas de Aplicaciones. Grupo-selecta.com [En línea]. 2012. [Accedido: 12 de Abril 2015]. Disponible en: <http://www.grupo-selecta.com/notasdeaplicaciones/sin-categoria/metodo-kjeldahl/>
- Kaloula, 2011, Cría y mantenimiento de grillos (paso a paso). [En línea]. 2011. [Accedido: 12 de Julio 2015]. Disponible en: <http://kaloula-drpez.blogspot.com.ar/2011/09/cria-y-mantenimiento-de-cultivo-de.html>
- Lefaux, René y Truhaut, René, 1972, *Les matières plastiques dans l'industrie alimentaire*. Paris : Compagnie Française d'éditions.
- Padilla Álvarez, Francisco y Cuesta, Antonio E., 2003, Capítulo 9. In : *Zoología Aplicada*. 1. Madrid: Diaz De Santos. p. 133-135.
- Pearson, D, Romero, C, Miranda, J. L y Suso, J. L, 1993, *Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos*. Zaragoza : Acribia.
- RAMOS-ELORDUY, Julieta, 2009, Anthro-po-entomophagy: Cultures, evolution and sustainability. *Entomological Research*. 2009. Vol. 39, no. 5, p. 271-288. Wiley-Blackwell
- Shockley, Marianne y Dosey, Aaron, 2014, Chapter 18- Insects for Human Consumption. In : *Mass Production of Beneficial Organisms*. 1. Elsevier.
- Smil, Vaclav, 2002, Worldwide transformation of diets, burdens of meat production and opportunities for novel food proteins. *Enzyme and Microbial Technology*. 2002. Vol. 30, no. 3, p. 305-311. Elsevier BV

- Sobol, Ricardo A., Ruscica, Maria Gabriel y Fourcade, Luciana, 1995, *Cuadernos UADE 118- Manual de procedimientos para análisis microbiológicos de alimentos*. Buenos Aires.
- Steinfeld, Henning, Gerber, Pierre, Wassenaar, Tom, Castel, Vincent, Rosales, Mauricio y De Haan, Cees, 2006, *Livestock's long shadow: enviromental issues and options*. Roma : Food and Agriculture Organization.
- van Huis, Arnold, 2013, Potential of Insects as Food and Feed in Assuring Food Security. *Annu. Rev. Entomol.*. 2013. Vol. 58, no. 1, p. 563-583. Annual Reviews
- Van Huis, Arnold, Van Itterbeeck, Joost, Klunder, Harmke, Mertens, Esther, Halloran, Afton, Muir, Giulia and Vantomme, Paul, 2013, *Edible insects: future prospects for food and feed security*. Roma : FAO Forestry Paper.

14. Agradecimientos

Quisiéramos agradecer a todos aquellos que formaron parte del proyecto, colaborando y aportando desde su lugar. A nuestras familias, por ser nuestro sostén y apoyo moral en todo aquello que emprendemos día a día. A los técnicos de laboratorio, Fernando Mendoliccio, Mg. Lic. José Ignacio Fernández e Ing. Pablo Rosito, por habernos instruido en cómo manejarnos diariamente dentro de los laboratorios. A la profesora Silvia Raffellini, por su colaboración en los análisis microbiológicos del proyecto. A Daniel Caporaletti, por brindarnos la materia prima utilizada para realizar el producto final, como así también enseñarnos el manejo y característica de la misma. A Juan Francisco Gutiérrez por su colaboración en la elaboración del packaging.

Por último, quisiéramos agradecer, especialmente, a nuestro tutor Ing. José Carlos Rodríguez, por haber respaldado el proyecto desde un comienzo, habernos guiado a lo largo de su desarrollo, y habernos permitido contar con su tutela y aprender de su experiencia y conocimientos en el área.

15. Anexos

15.1. Anexo A

Buenos Aires, 15/08/2014

Estimados representantes del comité de bioética de la Universidad,

Nos dirigimos hacia ustedes con el objetivo de suministrarles información que consideramos será necesaria para avanzar con nuestra propuesta de tesis.

La información de referencia hace relación a un posible protocolo de faena de grillos para el Proyecto Final de Ingeniería, siendo el mismo la elaboración de alimentos a base de materia prima no convencional. A continuación detallamos el protocolo mencionado, con las especificaciones necesarias:

Protocolo de faena de grillos

Para reducir el metabolismo de los grillos, se los pone en el freezer por aproximadamente una hora, de esta manera se induce un estado de hipotermia. (Esta etapa tiene por objeto mitigar o eliminar el sufrimiento de los animales a faenar).

Una vez reducido el metabolismo, colocar los grillos en un recipiente con agua hirviendo por dos minutos aproximadamente. Esta etapa corresponde a la faena y ablandamiento de tejidos. Posteriormente, retiramos los grillos del agua hirviendo y dejamos atemperar de acuerdo con lo que indique nuestra teoría en el avance de la tesis. Un antecedente de método de faena similar al que planteamos es el utilizado con las langostas para consumo humano, tratándose así mismo de artrópodos para consumo.

Por lo expuesto, quedamos atentos a vuestra evaluación para continuar con el proyecto de investigación.

Un cordial saludo y desde ya muchas gracias

Juan Turati

Eugenia Alonso

Ing. Carlos Rodriguez

15.2. Anexo B

En la **Tabla XXI** se pueden observar los resultados de porcentajes de proteínas, obtenidos tanto en las muestras de la harina como el medallón de grillo.

Tabla XXI: Resultados de porcentaje de proteínas					
		Peso de muestra (g)	Volumen de titulación (ml)	Porcentaje de proteínas (%)	Blanco
Harina de grillo	Muestra 1	1,005	54,1	43,7	3,9
	Muestra 2	1,023	44,8	43,7	0,2
	Muestra 3	1,009	42,8	42,3	
Promedio				43,3	-
Medallón de grillo	Muestra 1	0,987	14,8	12,9	0,2
	Muestra 2	1,172	17,6	13,0	
	Muestra 3	1,046	17,7	14,6	
Promedio				13,5	-

Tabla XXI: Datos obtenidos en la determinación de proteínas

En la **Tabla XXII** se pueden observar los resultados de porcentajes de proteínas, obtenidos tanto en las muestras del polvo como el medallón de grillo.

Tabla XXII: Resultados de porcentaje de grasas					
		Peso frasco (g)	Peso de muestra (g)	Peso frasco + grasa (g)	Porcentaje de grasa (%)
Harina de grillo	Muestra 1	75,415	3,032	75,846	14,2
	Muestra 2	74,937	3,000	75,381	14,8
	Muestra 3	75,112	3,024	75,545	14,3
Promedio					14,4
Medallón de grillo	Muestra 1	73,871	2,947	74,059	6,4
	Muestra 2	74,902	2,948	75,124	7,5
	Muestra 3	75,382	3,005	75,533	5,0
Promedio					6,3

Tabla XXII: Datos obtenidos en la determinación de proteínas

15.3. Anexo C

En las **Tablas XXIII - XXX** se muestran las fotos de resultados positivos y negativos de los análisis microbiológicos realizados.


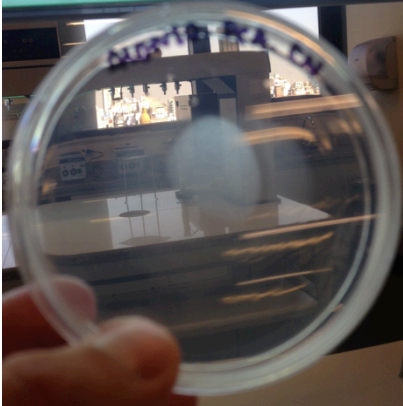
Tabla XXIII: Recuento de bacterias aerobias mesófilas	
Resultado positivo	Resultado negativo
	

Tabla XXIII: Recuento de bacterias aerobias mesófilas

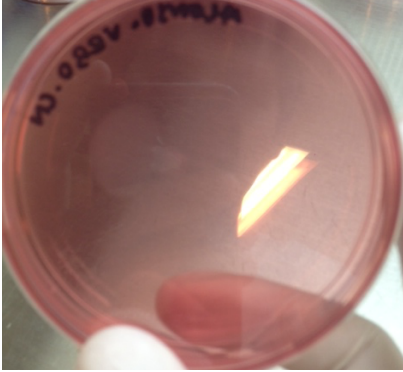
Tabla XXIV: Recuento <i>Enterobacteriaceae</i>	
Resultado positivo	Resultado negativo
No se presentó resultado positivo	

Tabla XXIV: Recuento *Enterobacteriaceae*

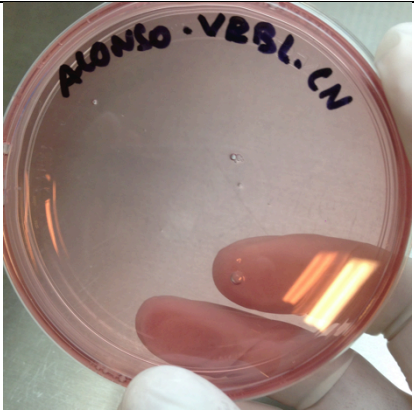
Tabla XXV: Recuento de coliformes totales	
Resultado positivo	Resultado negativo
No se presentó resultado positivo	

Tabla XXV: Recuento de coliformes totales

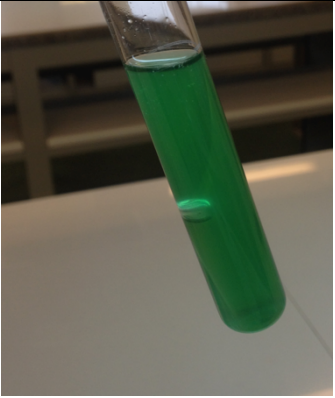
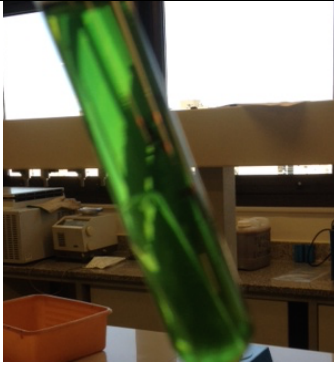
Tabla XXVI: Investigación de <i>Escherichia coli</i>	
Resultado positivo	Resultado negativo
	

Tabla XXVI: Investigación de *Escherichia coli*


Tabla XXVII: Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa (+)	
Resultado positivo	Resultado negativo
	

Tabla XXVII: Recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa (+)

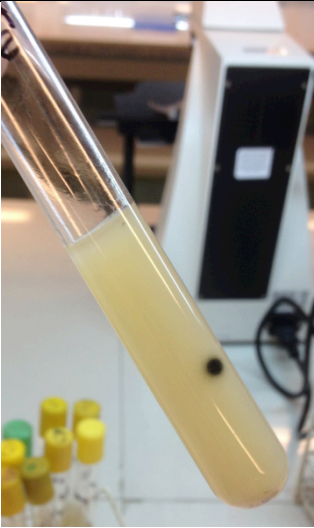
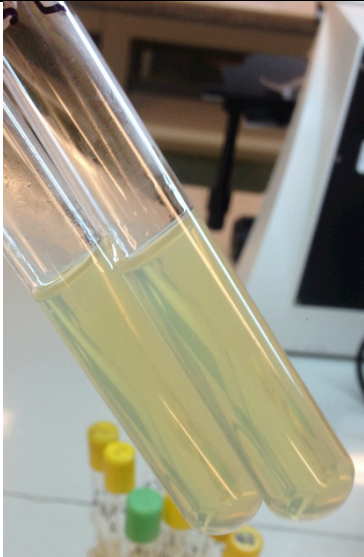
Tabla XXVIII: Recuento de anaerobios sulfito-reductores	
Resultado positivo	Resultado negativo
	

Tabla XXVIII: Recuento de anaerobios sulfito-reductores

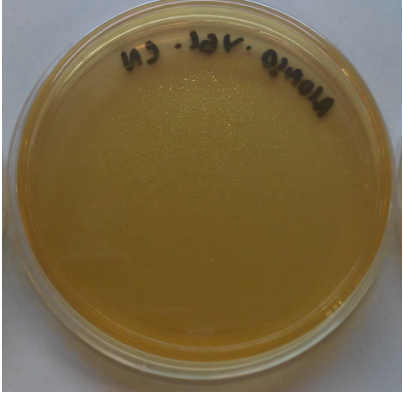
Tabla XXIX: Recuento de hongos y levaduras	
Resultado positivo	Resultado negativo
No se presentó resultado positivo	

Tabla XXIX: Recuento de hongos y levaduras

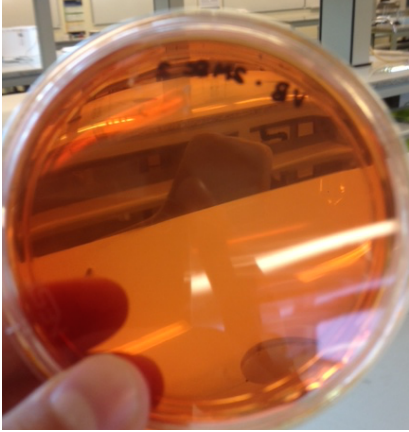
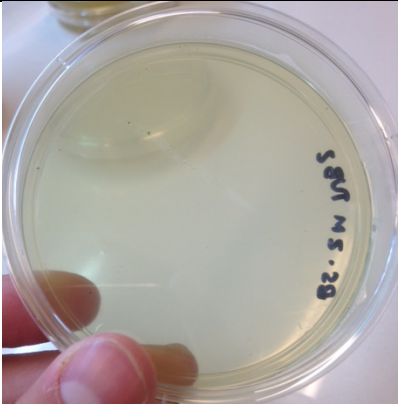
Tabla XXX: Investigación de <i>Salmonella</i>	
Agar verde brillante	
Resultado positivo	Resultado negativo
No se presentó resultado positivo	
Agar bismuto sulfito	
Resultado positivo	Resultado negativo
No se presentó resultado positivo	

Tabla XXX: Investigación de *Salmonella*

15.5. Anexo D

En la **Tabla XXXI** se detallan todos los crecimientos obtenidos durante los análisis microbiológicos.

Tabla XXXI : Tabla de datos microbiológicos con resultados							
Análisis microbiológico	Dilución	Tiempo 0		Tiempo 1		Tiempo 2	
		Número de colonias	Resultado	Número de colonias	Resultado	Número de colonias	Resultado
Recuento de aerobias mesofilas (u.f.c/g)	-1	8	550	0	110	0	340
		4		1		1	
		1		0		1	
		1		0		1	
		1		0		1	
	-2	0		0		0	
		1		0		1	
		1		0		1	
		1		1		0	
		1		0		1	
Recuento de <i>Enterobacteriaceae</i> (u.f.c/g)	-1	0	< 100	0	< 100	0	< 100
		0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
	-2	0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
Recuento de coliformes totales (u.f.c/g)	-1	0	< 100	0	< 100	0	< 100
		0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
	-2	0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	

		0		0		0	
		0		0		0	
Recuento de <i>Escherichia coli</i> (nmp/g)	-1	0	< 3	0	< 3	0	< 3
		0		0		0	
		0		0		0	
	-2	0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
	-3	0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa (+) (u.f.c/g)	-1	0	< 10	0	< 10	0	< 10
		0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
	-2	0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
Recuento de anaerobios sulfitos reductores (u.f.c/g)	-1	0	4	0	8	2	12
		0		1		2	
		1		0		0	
		1		2		0	
		0		1		0	
	-2	0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
Recuento de hongos y/o levaduras (u.f.c/g)	-1	0	< 100	0	< 100	0	< 100
		0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
	-2	0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	
		0		0		0	

		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
Recuento de <i>Salmonella</i> en 25 g	-1	No se detecta	No se detecta	No se detecta

Tabla XXXI: Tabla de datos de los análisis microbiológicos

15.6. Anexo E

En las Figuras 30 y 31 se muestra el croquis esquematizado de una planta modelo que cumple con la normativa GMP (*Good Manufacturing Practice*) a gran escala de la planta baja y el primer piso, respectivamente.

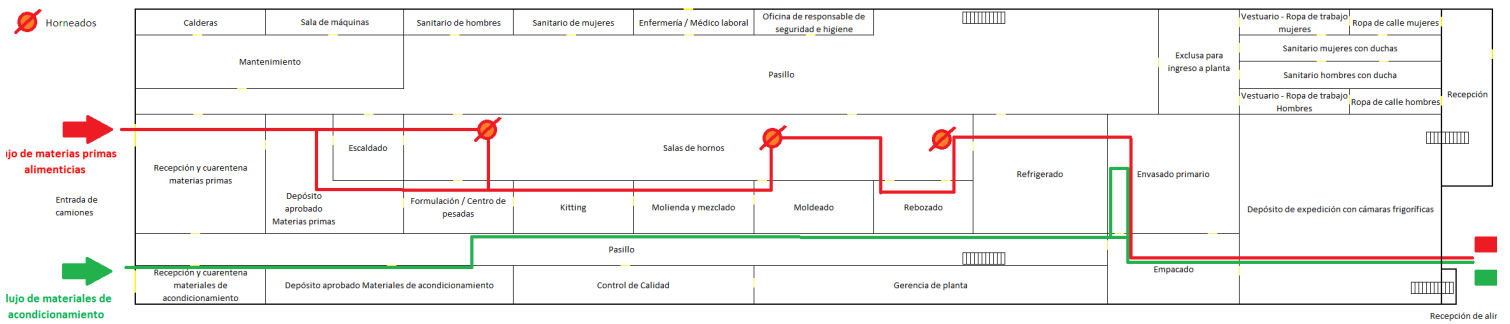


Figura 30: Croquis de planta de producción industrial, planta baja

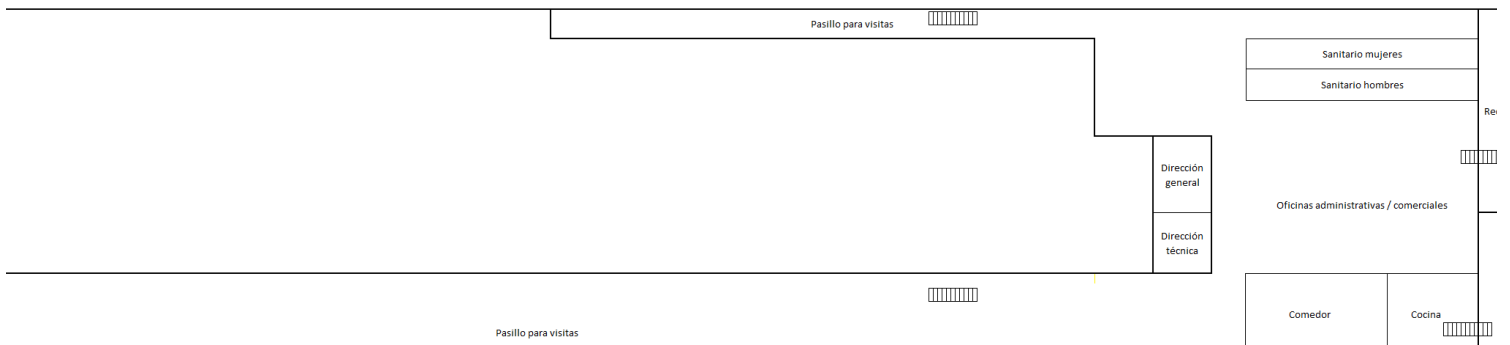


Figura 31: Croquis de la planta de producción industrial, primer piso