



UNIVERSIDAD PERUANA DE CIENCIAS APLICADAS

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA

Evaluación de la incorporación de espirulina sobre las propiedades nutricionales y sensoriales de una galleta a base de harina de trigo y kiwicha

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Nutrición y Dietética

AUTOR

Gutiérrez Vergaray, Koral Alexandra (0000-0001-5441-2578)

Tello Echevarría, Lourdes Andrea (0000-0003-2323-3942)

ASESOR DE TESIS

Dra. Mg. Sc. Zegarra Samamé, Saby (0000-0002-7472-3493)

Lima, 16 de Octubre del 2018

A nuestros padres

Agradecimientos

A nuestros padres y familiares, por su constante comprensión y apoyo incondicional para poder lograr nuestros objetivos

A nuestra asesora, por brindarnos su tiempo, asesoramiento y conocimientos en este proceso

Resumen

El presente trabajo de investigación tuvo como finalidad evaluar el efecto de la incorporación de la espirulina en las características nutricionales y sensoriales de una galleta elaborada a base de harina de trigo y kiwicha. Para efectos del estudio, en las cuatro formulaciones de galletas se sustituyó la harina de trigo por la de kiwicha en un 30%. Asimismo, la espirulina fue incorporada en 0% (galleta control), 1% (CS-1), 3% (CS-2), y 5% (CS-3). El efecto de esta incorporación en las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales fue evaluado. Los resultados mostraron que el porcentaje de proteínas, grasas, cenizas, humedad, hierro, calcio y sodio aumentó en las formulaciones CS-1, CS-2 y CS-3, debido a la incorporación de la microalga. Respecto a la evaluación sensorial, la muestra con 3% de espirulina recibió el puntaje de aceptación más alto, luego de la galleta control.

Palabras clave : Incorporación, Spirulina, Nutricional, Galletas, Amaranto

Abstract

The aim of this study was to evaluate the incorporation of spirulina on the nutritional and sensory properties of wheat-and-amaranth based cookies, by means of proximal-chemical, microbiologic and sensory analysis. Wheat flour was partially replaced by amaranth flour in 30%. Also, it was replaced with spirulina at 0% (control cookie), 1% (CS-1), 3% (CS-2) and 5% (C-3). The impact of incorporation on physicochemical, microbiological and sensory characteristics of cookies were evaluated. Results showed that protein, fat, ash, moisture, iron, calcium and sodium content of cookies CS-1, CS-2 and CS-3 increased as a result of spirulina incorporation. According to sensory evaluation by hedonic test, sample with 3% spirulina received the highest score after control.

Keywords: Incorporation, Spirulina, Nutritional, Sensory, Cookie, Amaranth

Tabla de Contenido

MARCO TEÓRICO	9
Galletas	9
Definición	9
Clasificación de galletas	9
Criterios fisicoquímicos y microbiológicos.....	10
Sustituciones parciales (H. kiwicha)	11
Microalgas	14
Definición	14
Clasificación	14
Uso en diferentes industrias.....	15
Espirulina.....	16
Producción y consumo	17
Procesado tecnológico	19
Composición nutricional	20
Evaluación Sensorial	22
OBJETIVOS.....	24
Objetivo general	24
Objetivos específicos.....	24
PARTE EXPERIMENTAL.....	25
Tipo de investigación	25
Muestra	25
Galletas	25
Panelistas	26
Equipos, materiales y reactivos	26
Insumos.....	26
Materiales	28
Equipos	28
Reactivos	29
Metodología.....	30
Elaboración de galletas.....	30

Análisis químico-proximal	33
Análisis de minerales.....	33
Análisis microbiológico.....	34
Evaluación sensorial.....	35
Análisis estadístico	36
RESULTADOS	37
Análisis químico proximal	37
Contenido de minerales	38
Análisis Microbiológico	40
Análisis sensorial.....	40
DISCUSIÓN.....	43
CONCLUSIONES.....	53
RECOMENDACIONES	54
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
ANEXOS.....	61

Indice de tablas

Tabla 1. Criterios fisicoquímicos para galletas según RM N° 1020-2010/MINSA ³	11
Tabla 2. Criterios microbiológicos para galletas según RM N° 1020-2010/MINSA ³	11
Tabla 3. Estudios con sustituciones parciales de harina de trigo en galletas.....	12
Tabla 4. Composición química del grano de la kiwicha ¹³	13
Tabla 5. Clasificación de microalgas según su aporte de pigmentos ¹⁷	15
Tabla 6. Composición taxonómica de la espirulina ³²	17
Tabla 7. Empresas productoras de espirulina a nivel mundial ⁴⁶	18
Tabla 8. Contenido de macronutrientes de la espirulina deshidratada ⁴⁸	20
Tabla 9. Contenido de micronutrientes de la espirulina deshidratada ⁴⁸	20
Tabla 10. Patrón de referencia basado en requerimientos de aminoácidos esenciales de adultos.....	21
Tabla 11. Formulación de las galletas con distintas concentraciones de espirulina.....	26
Tabla 12. Información nutricional de harina de trigo “Favorita”	27
Tabla 13. Información nutricional de harina de Kiwicha “Nutrimundi”.....	27
Tabla 14. Información nutricional de espirulina	27
Tabla 15. Composición proximal de galletas de harina de trigo y kiwicha con diferentes concentraciones de <i>S. platensis</i>	37
Tabla 16. Contenido de minerales de galletas de harina de trigo y kiwicha con diferentes concentraciones de <i>S. platensis</i>	39
Tabla 17. Contenido de minerales de galletas de harina de trigo y kiwicha con diferentes concentraciones de <i>S. platensis</i> convertidos en mg/100g de muestra	40
Tabla 18. Análisis microbiológico de galletas de harina de trigo y kiwicha con diferentes concentraciones de <i>S. platensis</i>	40
Tabla 19. Análisis sensorial de galletas de harina de trigo y kiwicha con diferentes concentraciones de <i>S. platensis</i>	41

Indice de Figuras

Figura 1. Flujograma de elaboración de galletas a base de harina de trigo y kiwicha con incorporación de espirulina	32
---	----

Abreviaturas

- CC: galleta control
- CS-1: formulación 1 (incorporación 1% espirulina)
- CS-3: formulación 2 (incorporación 3% espirulina)
- CS-5: formulación 3 (incorporación 5% espirulina)

MARCO TEÓRICO

Galletas

Definición

A nivel internacional, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), define a la galleta como “el producto alimenticio obtenido por el amasado y cocción de masa preparada con harina de trigo pura o mezcla de harinas, agua potable, mantequilla y/o grasa vegetal, azúcares permitidos (sacarosa, azúcar invertido, miel de abeja, extracto de malta y otros), adicionada o no de huevo, leche, almidones, polvo de hornear, levaduras para panificación, sal y aditivos permitidos de acuerdo con el tipo de galleta a obtener”¹.

Asimismo, a nivel nacional, la Norma Técnica Peruana Indecopi (NTP 206.001 1981) define galletas como “productos de consistencia más o menos dura y chocante, de forma variable, obtenidas por el cocimiento de masas preparadas con harina, con o sin leudantes, leches, féculas, sal, huevos, agua potable, azúcar, mantequilla, grasas comestibles, saborizantes, colorantes, conservadores y otros ingredientes permitidos y debidamente autorizados”².

Clasificación de galletas

Este alimento se clasifica según su sabor, presentación y forma de comercialización²

1. Por su sabor

- Saladas
- Dulces
- Sabor especial

2. Por su presentación

- Simples: no se modifica el producto luego de la cocción

- Rellenas: colocación de un relleno adecuado entre dos galletas
 - Revestidas: revestimiento o baño apropiado
3. Por su forma de comercialización
- Envasadas: comercializadas en paquetes sellados de cantidades pequeñas o en envases sellados
 - A granel: comercializadas en una caja de cartón, hojalata o tecnopor

Criterios fisicoquímicos y microbiológicos

La Resolución Ministerial (RM) N° 1020-2010/MINSA aprobó en el 2010 la Norma Sanitaria para la Fabricación, Elaboración y Expendio de Productos de Panificación, Galletería y Pastelería³, la cual establece criterios fisicoquímicos y microbiológicos para distintos alimentos. El primer grupo en mención abarca cuatro parámetros con su límite máximo permisible cada uno (Tabla 1).

Por otro lado, dentro de los criterios microbiológicos se incluyó mohos (Tabla 2). Cada uno con su respectivo límite por gramo de producto. En la tabla se pueden observar cuatro componentes. En primer lugar, la “n” indica el número de unidades de muestra requeridas para realizar el análisis microbiológico, es decir, 5 muestras independientes de galletas son necesarias para analizar la presencia de mohos. Segundo, la “C” expresa el número máximo permitido de unidades de muestra rechazables, es decir, si más de 2 de las 5 muestras exceden los límites establecidos se rechaza todo el lote producido. Este límite microbiológico entre lo aceptable y rechazable se presenta en el tercer componente, la “m”. Sin embargo, en el caso de que el valor de alguna de las muestras exceda la cifra de “M”, el cuarto componente, todo el lote queda rechazado inmediatamente porque representa un riesgo para la salud.⁴

Tabla 1. Criterios fisicoquímicos para galletas según RM N° 1020-2010/MINSA³

Contenido	Límite Máximo Permisible
Humedad, %	12,0
Cenizas totales, %	3,0
Índice de peróxido, mg/kg	5,0
Acidez (% ácido láctico)	0,1

Tabla 2. Criterios microbiológicos para galletas según RM N° 1020-2010/MINSA³

Agente microbiano	Categoría	Clase	N	C	Límite por UFC/g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10 ²	10 ³

Sustituciones parciales (H. kiwicha)

En los últimos años, distintas investigaciones han demostrado la sustitución de la harina de trigo, ingrediente principal de productos de panadería, pastelería y galletería, por otras harinas de diferentes tipos de cereales, leguminosas, frutos, tubérculos entre otros con la finalidad de mejorar el aporte nutricional del producto o conferirle propiedades funcionales; todas estas conocidas bajo la denominación de “harinas sucedáneas”.⁵

La Tabla 3, muestra algunas de las sustituciones que se han demostrado en diferentes investigaciones mejorando sus propiedades nutritivas y sensoriales contribuyendo así a la seguridad alimentaria y soberanía alimentaria.

Tabla 3. Estudios con sustituciones parciales de harina de trigo en galletas

Origen	Producto base	Sustitución	% sustitución	Referencia
Nigeria	H. de trigo	H. plátano	10, 20, 30, 40 y 100	6
India	H. de trigo	H. kiwicha	20, 40, 60, 80 y 100	7
Serbia	H. de trigo	H. castañas	20, 40 y 60	8
México	H. de trigo	H. garbanzo	25 y 50	9
Colombia	H. de trigo	H. arracacha	10 y 12	10
Ecuador	H. de trigo	H. papa china	20, 25 y 30	11
Malasia	H. de trigo	H. pitaya	5, 10 y 15	12

Fuente de la Tabla: Elaboración propia

La kiwicha es una fuente importante de alimentación para los seres humanos, porque presenta alto valor nutricional con contenidos muy significativos de proteína, carbohidratos, grasa, vitaminas y minerales.¹³ En la Tabla 4, se muestra la composición química del grano de kiwicha según varios investigadores.

Tabla 4. Composición química del grano de la kiwicha¹³

Componente	(g/100g de muestra)							
	a	b	c	d	e	f	g	h
Humedad		--	12,3	--	--	--	11,1-12,1	--
Proteína	13-19	14,8-17,3	14,5	15,8	14,5	15,5	13,7-15,9	15,5
Lípidos	5-13	7,9-8,9	6,5	8,1	6,4	7,6	6,1-6,5	7,6
Fibra	--	1,9-2,5	--	3,2	5	--	2,7-7,5	4,7
Cenizas	--	3,3-3,9	--	3,2	2,6	3,2	2,2-2,8	3,4
Carbohidratos	--	--	66,2		71,5		55,5-63,7	68,8
Almidón	--	--	--	--	--	65	--	--

Fuente: (a) Bressani et al., (2003); (b) Barba de la Rosa et al., (2008); (c) Muñoz (2010); (d) Plucknett et al., (1987); (e) Repo-Carrasco (1998); (f) Becker et al., (1992); (g) Repo-Carrasco et al., (2010a); (h) Cross et al., (1989); citados por Repo-Carrasco, (2014); (i) Vega (2013).

Una alternativa muy interesante es utilizar estos granos en productos que no requieran de gluten (producto apto para personas que padecen de enfermedades celiacas). Los granos de kiwicha son una alternativa para la producción de alimentos sanos y nutritivos debido a que poseen lípidos insaturados, fibra dietaria, compuestos fenólicos, amilopectina entre otros; una forma de consumo que se le da a la kiwicha es como cereal integral.¹³

El almidón es el carbohidrato más abundante en los granos de kiwicha, constituye alrededor del 62% del peso total del grano. El contenido de amilosa en este grano constituye entre 0-22% del total del almidón presente.¹³ Bressani (1994); citado por Chamorro (2018) menciona que el almidón está constituido principalmente por amilopectina y solo de 5 a 7 por ciento de amilosa.¹³ El alto volumen de expansión del grano de kiwicha tostada, se atribuye al reducido tamaño de los gránulos de almidón; a su forma esférica, angular o poligonal; a su

bajo contenido de amilasa (7,2%), bajo poder de hinchazón, alta solubilidad, gran capacidad de retención de agua y alto rango de temperatura de gelatinización.¹⁴

Microalgas

Definición

Microalgas son organismos unicelulares que se pueden encontrar en distintos tamaños, formas y estructuras, características que permiten calificarla en distintos grupos taxonómicos. Por ejemplo, morfológicamente se incluyen las variaciones redondas, ovaladas, cilíndricas y fusiformes; y en base al tamaño se clasifican como picoplancton (0,2-2 μm), nanoplancton (2-20 μm) y microplancton (20-200 μm)¹⁵. Estos son parte del ambiente marino, el cual constituye dos tercios del planeta y comprende una parte considerable de biodiversidad; además de representar una oportunidad única de descubrir nuevos metabolitos y de producir metabolitos ya existentes a bajo costo.¹⁶

Clasificación

Las microalgas se clasifican según el aporte de pigmentos o nutrientes que lideren en su composición. En el caso de los pigmentos, se encuentran los carotenoides y las ficobilinas¹⁷. Dentro del primero están los β -carotenos, astaxantina, cantaxantina, zeaxantina, luteína y fucoxantina, cada uno con sus respectivas fuentes de origen natural como se menciona en la Tabla 5. A diferencia de los pigmentos mencionados, las ficobilinas sólo se encuentran en algas, por ejemplo, cianobacterias (*Arthrospira platensis*), algas rojas (*Porphyridium*, *Rhodella* y *Galdieria*), Cryptophyta y Glaucophyta.¹⁷

En el segundo grupo, los nutrientes, predominan los ácidos grasos y los polisacáridos. El primer macronutriente incluye ácido araquidónico (*Parietochloris incisa*), ácido

eicosapentanoico (*Nannochloropsis spp.*, *Phaeodactylum tricornutum* y *Monodus subterraneus*), ácido docosaheptaenoico (*Cryptocodinium cohnii*, *Schizochytrium sp.* y *Ulkenia sp.*) y esteroides. Asimismo, los polisacáridos predominan en microalgas como *Porphyridium sp.*, *Rhodella sp.* y distintas cianobacterias.¹⁷

Tabla 5. Clasificación de microalgas según su aporte de pigmentos¹⁷

Pigmento	Fuente potencial de origen
β -carotenos	<i>Dunaliella salina</i> y <i>Dunaliella bardawil</i>
Astaxantina	<i>Haematococcus pluvialis</i> y <i>Chlorella zofingiensis</i>
Zeaxantina	<i>Chlorella ellipsoidea</i> y <i>Dunaliella salina mutants</i>
Luteína	<i>Scenedesmus spp</i> y <i>Muriellopsis sp</i>
Fucoxantina	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>

Uso en diferentes industrias

Distintas industrias utilizan las microalgas de acuerdo con su composición nutricional¹⁸. Las microalgas pueden ser consideradas como un ingrediente alimentario y prometedor debido a su composición nutricional la riqueza en compuestos bioactivos y fuente sostenible de proteínas¹⁹. Se espera que el mercado internacional de productos de algas alcanzara 44,7 US billones para el 2023 con una tasa de crecimiento anual mayor a 5 % en el periodo 2016-2023, siendo su principal demanda para alimentación y aplicaciones alimentarias como pastas, galletas y comidas vegetarianas.²⁰ La microalga espirulina específicamente, se utiliza en cinco industrias principales:

- Industria cosmética: repara los signos temprano de envejecimiento y prevención de la aparición de estrías
- Industria farmacéutica: efecto anticancerígeno, mejora las concentraciones de lípidos en plasma, el perfil hematológico y la presión arterial, y disminuye la prevalencia de malnutrición proteica y daño renal, entre otros.^{19, 21-26}

- Acuicultura: punto de inicio del flujo de energía en la cadena alimentaria acuática por el aporte de oxígeno y nutrientes importantes como polisacáridos, aminoácidos, enzimas, entre otras. Por ejemplo, mejora el rendimiento de la tilapia del río Nilo, trucha arcoíris, pez cebra y gamba de agua fresca.²⁷⁻³⁰ También es utilizado como fertilizante.³¹
- Alimentación de animales domésticos: suplemento, ya que mejora la respuesta inmune, mejora la fertilidad, mejora el control del peso y proporciona piel más sana y brillante
- Industria alimentaria: dominan el mercado *Chlorella Pyrenoidosa*, *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella salina* y *Arthrospira platensis*, todas comercializados ya sea en tabletas o en polvo para su uso como aditivo alimentario.

Espirulina

La espirulina es una microalga verdeazulada, filamentosa y de forma espiral que crece en aguas alcalinas y se encuentra libre de tóxicos.³² Su composición taxonómica se puede observar en la Tabla 6.

Las primeras evidencias de su consumo fueron registradas en 1520 en México, donde este alimento, conocido como “excremento de piedras”, era retirado del lago Texcoco y secado al sol para luego ser ingerido.²¹ Luego, su consumo comenzó a expandirse al terminar la Segunda Guerra Mundial (1945), donde grupos de investigación postularon la hipótesis de microalgas como fuente importante de proteínas.³³ En la actualidad, diversos estudios demuestran la factibilidad de su incorporación en la elaboración de distintos alimentos como yogurt, pasta, fórmula para bebés, helado, croissants, pan, donuts, snacks, galletas, entre otros.³⁴⁻⁴²

Tabla 6. Composición taxonómica de la espirulina³²

Dominio	Bacteria
Filo	Cyanobacteria
Clase	Cyanophyceae
Subclase	Oscillatoriophyceae
Orden	Oscillatoriales
Familia	Phormidiaceae
Subfamilia	Phormidioideae
Género	Arthrospira
Especie	Arthrospira platensis

Producción y consumo

La espirulina es una microalga que crece de manera natural en distintas zonas tropicales o subtropicales de África (Chad, Etiopía y Túnez), sur de Asia (India, Sri Lanka y Tailandia) y América (México y Perú), en zonas donde se cumplan con dos condiciones óptimas para su crecimiento^{43,44}

- Temperatura 20-37 °C (ideal 29-35 °C)
- Medio alcalino (pH 9-11)

En los primeros años del siglo 21, solo existían registros de la producción anual de espirulina en algunos países como China, donde se produjo 19 080 toneladas en 2003 y 41 570 toneladas en 2004. Para el 2008, FAO estimó en sus reportes anuales una producción a nivel mundial de 68 400 toneladas de espirulina, de las cuales 62 300 provenían de China y 6 000 de Chile³². Asimismo, para el 2014 esta cifra aumentó a 90 000 toneladas, siendo actualmente los principales productores China, Estado Unidos, India y Japón⁴⁵. En la Tabla 7 se muestra un listado de las principales empresas productoras certificadas de espirulina a nivel mundial.⁴⁶

Tabla 7. Empresas productoras de espirulina a nivel mundial⁴⁶

Empresa productora	País	Hectáreas asignadas al cultivo	Producción anual
Parry Nutraceuticals	India	53	No especifica
Cyanotech	Estados Unidos	32	350 toneladas
Earthrise	Estados Unidos	43	450 toneladas

Fuente de la tabla: Elaboración propia

Por otro lado, a nivel nacional hay registros de 1979 sobre el crecimiento natural de espirulina en la laguna Huacachina (Ica), Orovilca (Ica) y Ventanillas (Ancash); sin embargo, esta desapareció debido a la contaminación ambiental³². Actualmente, solo hay registro del cultivo de esta microalga en Arequipa, principalmente por Andexs Biotechnolusy SRL, un centro biotecnológico en cultivo de microalgas y pigmentos naturales fundado en 2007 que comercializa sus productos bajo la marca Bionutrec. Este centro fue financiado por distintas entidades internacionales y, además, cuenta con una alianza comercial con Earthrise Farms, uno de los productores certificados más grandes del mundo (Tabla 7).

La producción de espirulina a nivel nacional recién está siendo adoptada a pequeña escala probando con la implementación de plantas piloto, como es el caso de la Universidad Católica de Santa María en Arequipa⁴⁷, la cual inició con este proyecto en el 2017. Sin embargo, actualmente la marca más comercializada en Lima es “Andes Spirulina”, la cual es importada de Ecuador y comercializada por medio de la empresa distribuidora Soal Vida, en Miraflores.

Procesado tecnológico

Existen varios medios para cultivo de espirulina, donde el procesado tecnológico es similar. Dentro de ellos, se encuentra el medio de La Granja, medio Zarrouk, medio Urea y medio Utex. Según la FAO,⁴³ el método más utilizado es el de La Granja. Este medio de cultivo requiere de un sitio apropiado que cumpla todas las características climáticas para poder construir los estanques de polietileno con madera o de cemento pulido. Para que el crecimiento de espirulina se pueda dar óptimamente, es importante el contenido de agua, aunque pueda crecer en diferentes tipos de aguas altamente alcalinas se deben de tomar en cuenta los siguientes ingredientes: bicarbonato de sodio, sulfato de magnesio, nitrato de potasio, ácido cítrico, sal, urea, cloruro de calcio, sulfato de hierro y de amonio. Además, debe de presentar una temperatura alrededor de 10 a 200°C y el agua pH 7. Una vez la espirulina crezca, se recolecta en cernidores de madera con mallas, luego se deja secar en bastidores, cuando concluya el tiempo de secado se coloca en máquinas pulidoras donde se convertirá en polvo.

El proceso explicado anteriormente puede llevarse a cabo en dos sistemas de cultivo: estanques abiertos o fotobiorreactores. El primero era el más empleado inicialmente, pero se fueron descubriendo numerosos aspectos negativos de este sistema, principalmente la dificultad de controlar parámetros como temperatura, pH, nutrientes, iluminación, presencia de CO₂, pérdidas por evaporación, circulación de aire, contaminación de flora y fauna, entre otros. Con el paso de los años, todo lo mencionado pudo ser controlado con los fotobiorreactores, sistemas cerrados con baja concentración de oxígeno diseñado específicamente para: a) controlar los parámetros de producción, b) impedir intercambio de gases y c) impedir ingreso de contaminantes; y todo ello es llevado a cabo en un espacio pequeño en comparación con el sistema abierto.⁴⁵

Composición nutricional

La composición de la espirulina deshidratada puede variar según la procedencia y condiciones de producción, así como de los métodos de análisis. Si bien la composición nutricional de esta microalga en polvo varía según la empresa productora, en la Tabla 8 y 9 se muestra el aporte nutricional de la espirulina en polvo según la base de datos del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, según siglas en inglés).⁴⁸

Asimismo, en la tabla 10 se muestra la comparación del perfil de aminoácidos esenciales aportados por la espirulina en polvo y los requerimientos establecidos como patrones de referencia.

Tabla 8. Contenido de macronutrientes de la espirulina deshidratada⁴⁸

Contenido	Valor (%)
Energía*	335
Proteínas	57,5
Grasas	5,4
Ácidos grasos saturados	2,65
Ácido mirístico	0,075
Ácido palmítico	2,496
Ácido esteárico	0,077
Ácidos grasos monoinsaturados	0,675
Ácido palmitoleico	0,328
Ácido oleico	0,347
Ácidos grasos poliinsaturados	2,08
Ácido linoleico	0,823
- Ácido gamma-linolénico	1,254
Carbohidratos	13,9
Azúcares	3,1
Fibra	3,6

*La energía están expresadas en kilocalorías (kcal)

Tabla 9. Contenido de micronutrientes de la espirulina deshidratada⁴⁸

Contenido	Valor en 100 g
Vitamina A, IU	570,00
Vitamina E, mg	5,00
Vitamina K, µg	25,50
Tiamina, mg	2,38
Riboflavina, mg	3,67
Niacina, mg	12,82
Vitamina B6, mg	0,36
Vitamina B9, µg	94,00
Calcio, mg	120,00
Hierro, mg	28,5 0
Fosforo, mg	118,00
Magnesio, mg	195,00
Sodio, mg	1048,00
Zinc, mg	2,00
Potasio, mg	1363,00

Tabla 10. Patrón de referencia basado en requerimientos de aminoácidos esenciales de adultos

	Requerimiento de adultos (mg/g proteína) ⁴⁹	Aporte estándar (mg/g proteína) ⁵⁰	Aporte de espirulina (mg/g proteína) ⁵¹
Isoleucina	13	4	4,7
Leucina	19	7	6,3
Lisina	16	5,4	3,64
Metionina + cisteína	17	3,5	3,54
Fenilalanina + tirosina	19	6,1	3,93
Treonina	9	4	4,22
Triptófano	5	1	0,9
Valina	13	5	5,49

Evaluación Sensorial

Actualmente, existen muchas formas de agregar valor nutricional a los alimentos, sin embargo, no todos los alimentos nutritivos tienen aceptación del consumidor. Es por eso, que un proceso de evaluación sensorial en alimentos es igual de importante que la evaluación microbiológica, química y física, ya que esta técnica de medición permite al consumidor dar su percepción sensorial de los alimentos^{52,53}.

Existen diversas pruebas para llevar a cabo una evaluación sensorial, depende el tipo de información que se necesite obtener. Dentro de ellas, están las pruebas descriptivas, de discriminación y afectivas.^{52,53}

Por un lado, las pruebas de discriminación se utilizan cuando un investigador desea determinar si dos muestras son perceptiblemente diferentes. Puede que ambas muestras tengan formulaciones distintas, pero a la evaluación sensorial de las personas no vean diferencia. Por lo general, es recomendable su uso cuando se busca reformular ingredientes de los alimentos para crear nuevos productos o mejorarlos. Los tipos de pruebas de discriminación son: Pruebas de diferenciación (Comparación apareada, igual-diferente, triangular, prueba dúo- trío, de ordenación, escalar de control) y pruebas de sensibilidad (umbral de detección y umbral de reconocimiento)^{52,53}.

Respecto a las pruebas descriptivas, su aplicación tiene la finalidad de conocer las características del producto alimenticio y las exigencias del consumidor. Una vez realizadas, se pueden generar los cambios necesarios en formulaciones del producto hasta lograr aceptabilidad del consumidor. Los tipos de pruebas descriptivas son: escala de atributos (escala de categorías, escala de estimación de la magnitud), análisis descriptivo (perfil de sabor, perfil de textura) y análisis cuantitativo.^{52,53}

Por último, las pruebas afectivas son utilizadas para lograr clasificar las muestras. Mediante estas pruebas el panelista otorga un nivel de agrado, aceptación y preferencia de un producto

alimenticio, puede ser frente a otro. Los tipos de pruebas afectivas son: prueba de preferencia (pareada, ordenación), prueba de satisfacción (escala hedónica facial y verbal) y prueba de aceptación.^{52,53}

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto de la incorporación de la espirulina en las características nutricionales y sensoriales de una galleta elaborada a base de harina de trigo y kiwicha.

Objetivos específicos

- Determinar la composición químico proximal (energía, proteínas, grasas, carbohidratos y cenizas), y contenido de minerales (calcio, hierro y sodio), de las cuatro formulaciones de galleta
- Determinar la carga microbiana (mohos) de las cuatro formulaciones de galleta
- Evaluar las características sensoriales (color, sabor y textura) para determinar el grado de aceptabilidad general de las cuatro formulaciones de galleta

PARTE EXPERIMENTAL

Tipo de investigación

El estudio realizado fue de tipo experimental de laboratorio, donde se evaluó el efecto de la incorporación de distintas cantidades de espirulina (1, 3 y 5%) sobre las propiedades nutricionales, microbiológicas y sensoriales de galletas elaboradas a base de harina de trigo y kiwicha.

Para la elaboración de las galletas y el análisis sensorial se utilizó el laboratorio de Nutrición y Dietética; mientras que los análisis fisicoquímicos y microbiológicos se llevaron a cabo en los laboratorios de CERPER (Callao). Todo lo mencionado se realizó entre los meses de julio y diciembre del año 2017, con previa aprobación del Comité de Ética de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UPC (ver anexo 1)

Muestra

Galletas

Se realizaron 4 formulaciones para cada análisis realizado. Como se puede observar en la Tabla 11, el porcentaje de todos los ingredientes fue igual en las 4 formulaciones, a excepción de la harina de trigo, la cual disminuía en el mismo porcentaje que aumentaba la espirulina. Asimismo, en el anexo 2 se puede observar un cuadro elaborado sobre la operacionalización de las variables dependientes e independientes identificadas y elegidas para el estudio.

Tabla 11. Formulación de las galletas con distintas concentraciones de espirulina

Ingredientes	%			
	CC	CS-1	CS-3	CS-5
Harina de trigo	33,0	32,0	30,0	28,0
Harina de Kiwicha	14,0	14,0	14,0	14,0
Azúcar rubia	27,0	27,0	27,0	27,0
Mantequilla	12,9	12,9	12,9	12,9
Agua	6,0	6,0	6,0	6,0
Leche en polvo	5,4	5,4	5,4	5,4
Bicarbonato de sodio	1,0	1,0	1,0	1,0
Sal	0,4	0,4	0,4	0,4
Esencia de vainilla	0,3	0,3	0,3	0,3
Espirulina	0,0	1,0	3,0	5,0
TOTAL	100	100	100	100

Panelistas

Para las pruebas afectivas, utilizadas para medir el grado de preferencia y aceptabilidad de un producto, se requieren entre 75 y 150 panelistas no entrenados que sean usuarios del producto; en este caso, consumidores de galletas⁵⁴. En el presente estudio se logró reclutar a 90 panelistas, quienes cumplían con los siguientes criterios: tener entre 18 y 30 años y estar matriculado en la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC) durante el ciclo 2017-02. Asimismo, se excluyó a quienes no manejaban el idioma español, a quienes eran celiacos, diabéticos, intolerantes a la lactosa y/o fumadores.

Equipos, materiales y reactivos

Insumos

- Harina de trigo, Favorita® (Tabla 11)
- Harina de kiwicha tostada, Nutrimundi® (Tabla 12)
- Azúcar rubia, Dulfina®
- Mantequilla sin sal, Gloria®

- Leche en polvo, Anchor®
- Bicarbonato de sodio
- Sal de mesa, Wong®
- Esencia de vainilla, Negrita-Alicorp®
- Espirulina, AEH® (Tabla 13, Anexo 3)

Tabla 12. Información nutricional de harina de trigo “Favorita”

Nutriente	Aporte en 100g
Energía*	350
Proteína, %	12,0
Carbohidratos, %	73,0
Grasas, %	1,5
Sodio**	50,0

*La energía está expresada en kilocalorías (kcal)

** El sodio está expresado en miligramos (mg)

Tabla 13. Información nutricional de harina de Kiwicha “Nutrimundi”

Contenido	Valor (%)
Energía*	370,0
Proteína	14,0
Grasas	5,9
Carbohidratos	65,0
Calcio, mg	236,0
Hierro, mg	10,0
Fósforo, mg	455,0

*La energía está expresada en kilocalorías (kcal)

Tabla 14. Información nutricional de espirulina

Contenido	Valor (%)
Proteína	64,7
Humedad	6,8
Cenizas	6,7

Materiales

- Cuchillo
- Molde para galletas, 5x7 cm
- Bowl de acero inoxidable
- Tazas medidoras
- Cucharas medidoras
- Rollo estirable Film 18'', Sodimac®
- Fuente de acero inoxidable
- Lapiceros
- Bolsas con cierre hermético, Ziploc®
- Espátulas o varillas de virios
- Pinza
- Colador
- Guantes
- Crisoles o cápsulas de porcelana
- Papel filtro desengrasado
- Pipetas de 1 ml, graduadas en intervalos de 0.1 ml
- Lupa (aumento de 6.5 a 50 veces)
- Placas de Petri de vidrio de 90 a 100 mm de diámetro
- Ansas de platino de 3 mm de diámetro
- Porta y cubreobjetos

Equipos

- Balanza analítica, marca Miray®, modelo: BMR-85, precisión 0,01g
- Horno eléctrico, marca THOMAS®, modelo: 48L 2200W

- Macro Kjeldahl de 6 unidades, marca Novatech®, modelo: KJ6DI, volts 220
- Sistema Extractor Soxhlet de vidrio, marca Pyrex®, modelo: 3840-L
- Cuenta colonias digitales, marca Numak®, modelo J-3
- Refrigeradora, marca LG, modelo Premium EZ Digital Fridge-Freezer / 567 Lt /GR-P197NIS
- Batidora de mano, marca OSTER, modelo: SQU:2601-51
- Estufa marca JSR, Modelo JSOF-400T
- Mufla
- Plancha de calentamiento
- Mortero o procesador
- Desecador con sílica
- Autoclave
- Estufa de incubación capaz de funcionar a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$
- Microscopio (ampliación de 250 a 1000 veces)
- Peachímetro de exactitud 0.01 a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$
- Baño de agua capaz de funcionar a 44°C a 47°C

Reactivos

Análisis de proteínas

- Ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,1N
- Hidróxido de amonio (NH_4OH) 0,1N
- Ácido bórico (H_3BO_3) 0,1N

Análisis de grasas

- Éter de petróleo – a temperatura d ebullición ($40\text{-}60^{\circ}\text{C}$)

Análisis de cenizas

- Peróxido de hidrógeno (H₂O₂) 10%V/V

Análisis de hierro

- Sulfato férrico (Fe₂SO₄)³
- Ácido clorhídrico + ácido nítrico (HCl: HNO₃)
- Peróxido de hidrógeno (H₂O₂) 5%V/V

Análisis de sodio

- Ácido clorhídrico (HCl)
- Cesio al 0,1% P/P

Análisis de calcio

- Ácido clorhídrico (HCl)
- Óxido de lantano (La₂O₃)
- Carbonato de calcio (CaCO₃)
- Peróxido de hidrógeno (H₂O₂) 5%V/V

Metodología

Elaboración de galletas

Siguiendo la metodología de Toaquiza Vilca NA⁵⁵, se elaboró el flujograma mostrado en la Figura 1

1. Recepción: se recibieron los insumos alimentarios, los cuales fueron adquiridos de proveedores seguros. Cada uno contó con su ficha técnica o registro sanitario, con la finalidad de garantizar la inocuidad y calidad del producto final. Asimismo, fueron almacenados a temperaturas apropiadas, y ningún insumo había pasado la fecha de vencimiento

2. Pesado: los alimentos fueron pesados en balanza calibrada de capacidad 5kg. Previo al siguiente paso, los insumos fueron homogenizados si eran secos o cremados si eran húmedos
3. Mezclado: este paso consistió en mezclar el cremado y el homogenizado realizado previamente con ayuda de una batidora eléctrica hasta tener una masa homogénea
4. Reposo: la masa fue almacenada en refrigeración (8°C) por 40 minutos
5. Laminado: la masa fue extendida con un rodillo hasta lograr un grosor aproximado de 5 mm
6. Moldeado: la masa fue cortada en porciones de 12g aproximadamente con moldes metálicos rectangulares de 5cm x 3 cm, las cuales fueron colocadas luego en la bandeja previamente cubierta con mantequilla y harina
7. Reposo: las galletas moldeadas reposaron 10 minutos a temperatura ambiente (19°C) en la bandeja mientras se precalentaba el horno
8. Horneado: este proceso de cocción duró 15 minutos a 165°C
9. Enfriado: se llevó a cabo a temperatura ambiente (19°C) por 25 minutos
10. Empacado: las galletas fueron colocadas en envases con cierre hermético. En este caso se utilizaron bolsas marca Ziploc®
11. Almacenado: las galletas envasadas fueron colocadas en un ambiente libre de humedad a temperatura ambiente (19°C)

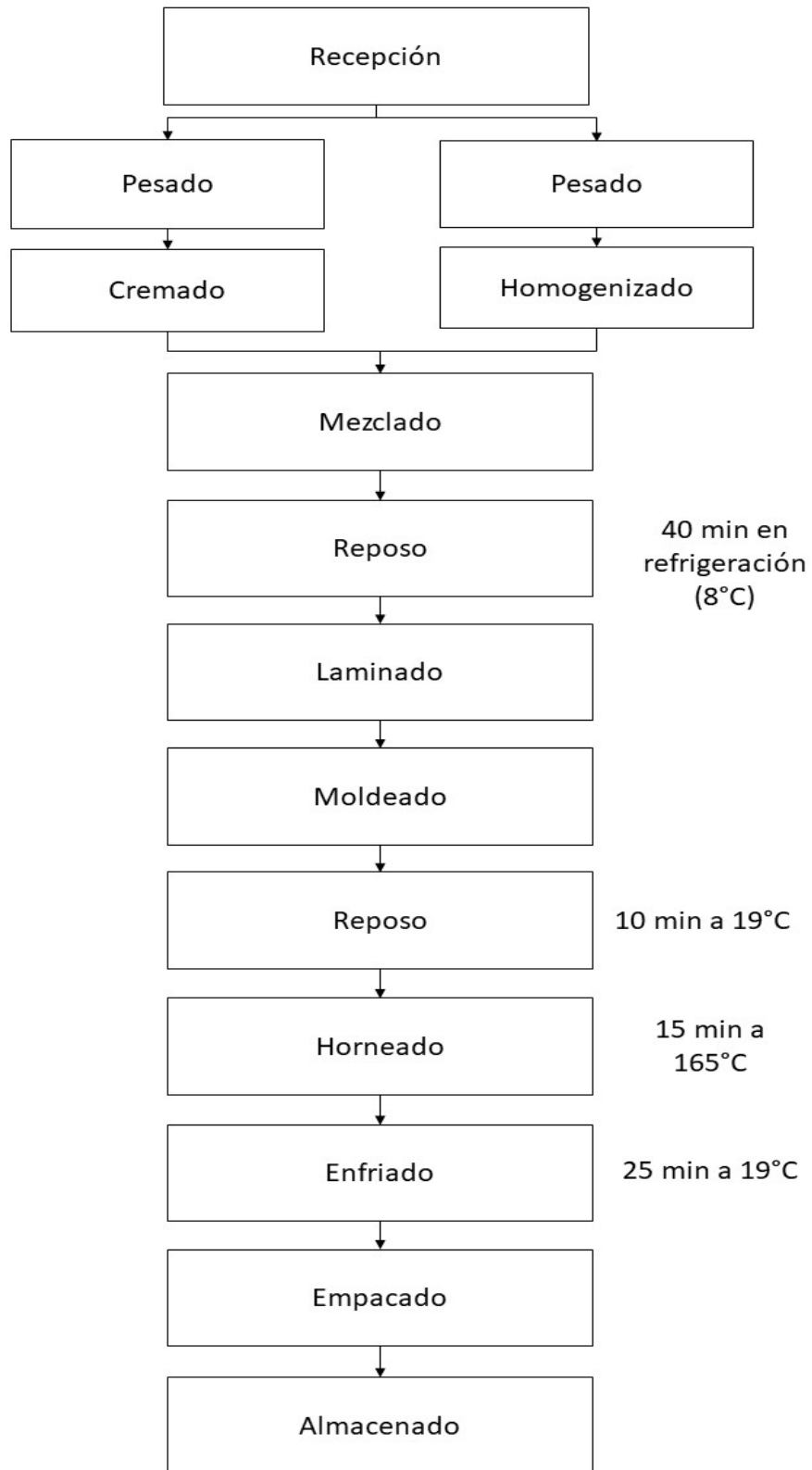


Figura 1. Flujograma de elaboración de galletas a base de harina de trigo y kiwicha con incorporación de espirulina

Análisis químico-proximal

Para la determinación de los componentes del análisis químico proximal, se tomaron los servicios del Laboratorio de Ensayo Acreditado por el Organismo Peruano de Acreditación INACAL – DA con Registro N° LE 003, CERPER Certificaciones del Perú S.A. para una mayor fiabilidad de los ensayos. Las muestras se remitieron a dicho laboratorio en bolsas herméticas y selladas, en una cantidad de 900g por tipo de formulación. Las mismas que se colocaron en una caja de tecnopor sellada y lacrada consignando los nombres de los productos y la investigación. Los ensayos fueron:

- Humedad, utilizando el método NTP 206.011.1981⁴
- Proteína, utilizando el método 984.13 de la AOAC⁵⁶
- Grasa, utilizando la NTP 206.017.1981⁴
- Cenizas, utilizando la 935.39 de la AOAC⁵⁶
- Carbohidratos, por diferencia de peso⁵⁶

Análisis de minerales

Para la determinación de los componentes del análisis de minerales, se tomaron los servicios del Laboratorio de Ensayo Acreditado por el Organismo Peruano de Acreditación INACAL – DA con Registro N° LE 003, CERPER Certificaciones del Perú S.A. para una mayor fiabilidad de los ensayos. Las muestras se remitieron a dicho laboratorio en bolsas herméticas y selladas, en una cantidad de 900g por tipo de formulación. Las mismas que se colocaron en una caja de tecnopor sellada y lacrada consignando los nombres de los productos y la investigación.

El análisis de calcio y hierro fue realizado por espectrofotometría de absorción atómica (AACC)⁵⁷. En un recipiente de vidrio se colocó 0,5g de muestra, 10,0 ml de ácido nítrico concentrado y 0,5 ml de peróxido de hidrógeno, y fue mezclado y calentado en una placa

caliente con agitación. El contenido de estos minerales fue reportado en ppm, concentración estándar. Asimismo, el contenido de sodio en la muestra fue determinado por el método de Kraft⁵⁸, el cual, se basa en la digestión vía seca (calcinación a 500°C hasta cenizas blancas) de la muestra, luego las cenizas son tratadas con ácido clorhídrico (HCl) y son digestadas en caliente hasta disolver las cenizas, luego se llevan a volumen en un matraz volumétrico de 100ml. De la solución sobrenadante se toma una alícuota adecuada y se lleva a volumen con solución de Cesio al 0,1%. Se prepara una curva de calibración de sodio adecuada para que esté incluida la concentración de la muestra, las diluciones de los estándares de sodio también se realizan con Cesio al 0,1%. Finalmente, se lee en el equipo de Absorción Atómica a la longitud de onda de 589nm usando una llama de Aire-Acetileno.

Análisis microbiológico

Para la determinación de los componentes del análisis de mohos, se tomaron los servicios del Laboratorio de Ensayo Acreditado por el Organismo Peruano de Acreditación INACAL – DA con Registro N° LE 003, CERPER Certificaciones del Perú S.A. para una mayor fiabilidad de los ensayos. Las muestras se remitieron a dicho laboratorio en bolsas herméticas y selladas, debidamente rotuladas, en una cantidad de 900g por tipo de formulación. Las mismas que se colocaron en una caja de tecnopor sellada y lacrada consignando los nombres de los productos y la investigación.

La metodología llevada a cabo por el laboratorio fue el método horizontal para la enumeración de mohos mediante la técnica de recuento en placa. Este método sólo se puede aplicar en productos con una actividad de agua ≤ 0.95 , como es el caso de las galletas, y consiste en sembrar una alícuota de la muestra en la superficie de la placa con un medio de cultivo específico. Luego, esta placa es incubada a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 5 a 7 días. Pasado el tiempo, se cuentan las colonias desarrolladas, levaduras y mohos por separado, expresado

en g/ml de muestra.⁵⁹ Finalmente, este valor obtenido es comparado con los rangos permitidos establecidos por la normativa nacional, en este caso, la Norma Sanitaria para la Fabricación, Elaboración y Expendio de Productos de Panificación, Galletería y Pastelería.³

Evaluación sensorial

Para el análisis sensorial se aplicó pruebas afectivas o también llamadas pruebas al consumidor en donde el panelista expresa el nivel de agrado, aceptación y preferencia de un producto alimenticio utilizando escalas de calificación de las muestras, estas se desarrollaron en el laboratorio de Nutrición de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas que cuenta con las condiciones necesarias de infraestructura, iluminación, ventilación que proporcionaron un ambiente cómodo, alejado de ruidos que garantizaban la valoración de los panelistas. Se tuvo cuidado en monitorear que los panelistas no tuvieran comunicación entre ellos, manejándose tiempos y espacios de separación adecuados. También, se establecieron horarios adecuados para realizar las pruebas que fueron de 9:00 a 11:00 am y de 15:00 a 17:00 pm.

El procedimiento seguido para la prueba sensorial consistió en:

1. Se adecuó el ambiente para realizar la prueba, colocándose las muestras para cada panelista en una mesa. El área contaba con cuatro mesas, en un ambiente de luz, flujo de aire, ventilación adecuada y alejada de ruidos.
2. Las muestras se colocaron en cuatro platos descartables por panelistas con los siguientes códigos: 912 (Muestra control), 323 (Formulación 1), 259 (Formulación 2), 105 (Formulación 3). También, se colocó un vaso de agua y cuatro rebanadas de manzana a cada panelista, con el fin de facilitar la degustación.
3. Se seleccionó 90 panelistas no entrenados entre 18 y 30 años
4. Se registró y firmó el consentimiento de cada panelista en el Formato “Consentimiento para participar en un estudio de investigación” (Anexo 4)

5. Se aplicó el formato de la escala hedónica, donde se evalúa los atributos de color, sabor y textura. La escala hedónica, presentaba 7 ponderaciones desde “me disgusta mucho” hasta “me gusta mucho” (Anexo 5)
6. Se entregó para degustar a cada panelista las 4 formulaciones de galletas en platos codificados según el tipo de muestra colocados aleatoriamente.
7. Los panelistas realizaron la degustación y registraron sus apreciaciones en el formato de la escala hedónica, las mismas que se entregaron para su sistematización.

Análisis estadístico

El procesamiento de datos de los resultados de la composición nutricional y del contenido de minerales fue analizado a través del Análisis de Varianza de una vía (ANOVA), el cual permitió determinar si existían diferencias significativas entre las muestras de galletas analizadas. Así mismo, para establecer e identificar si una muestra difiere de la otra, se realizó la prueba de comparación múltiple de medias, (prueba de Duncan). Para el análisis de la evaluación sensorial se usó la prueba no paramétrica de Friedman con la finalidad de determinar la existencia de similitudes sensoriales entre las distintas formulaciones de galletas, evaluación realizada con escala hedónica de 7 puntos. Por último, para definir qué formulación proporcionaba mayor variación por atributo sensorial se realizó la prueba de comparaciones múltiples de Newman-Keuls (N-K).

El análisis estadístico se analizó por medio del programa STATISTICA 8.0. Y las diferencias entre medias se consideraron significativas cuando $p < 0.05$.

RESULTADOS

Análisis químico proximal

En la Tabla 15 se muestra los resultados de la composición proximal: humedad, cenizas, grasa, proteínas, carbohidratos y calorías de las galletas obtenidas en la presente investigación. Las muestras corresponden a la muestra control (CC), muestra de la formulación 1 (CS-1) con 1% de espirulina, muestra de la formulación 2 (CS-3) con 3% de espirulina y muestra de la formulación 3 (CS-5) con 5% de espirulina. La galleta CS-5 es la que tuvo mayor concentración de cenizas y proteína con 2.09% y 10% respectivamente, y se observó que conforme menor es el contenido de espirulina, menor es el contenido de estos nutrientes ($p < 0.05$). En el caso de las calorías totales, se observa que el aporte de la galleta CS-5 fue menor frente al control, con 372,66 kcal/100g y 404,4 kcal/100g respectivamente.

Tabla 15. Composición proximal de galletas de harina de trigo y kiwicha con diferentes concentraciones de *S. platensis*.

Contenido	Galleta, %			
	CC	CS-1	CS-3	CS-5
Humedad	12,91±0.7 ^c	12,47±0,02 ^d	16,01±0,01 ^a	15,55±0,03 ^b
Cenizas	1,52±0.03 ^d	1,98±0,02 ^b	1,88±0,02 ^c	2,09±0,02 ^a
Grasa	12,70±0.28 ^{ab}	11,70±0,42 ^b	12,55±0,21 ^b	13,7±0,57 ^a
Proteína	7,63±0.01 ^d	7,84±0,07 ^c	8,73±0,06 ^b	10,00±0,00 ^a
Carbohidratos	65,25±0,33 ^a	66,02±0,50 ^a	60,85±0,25 ^b	58,67±0,56 ^c
Calorías, kcal/100g	404,71	405,77	372,98	372,66

Los resultados se expresan como media \pm SD (n = 3). La media con diferentes superíndices en la misma fila es significativamente diferente ($p < 0.05$) según la prueba de Duncan de rango múltiple (MRT).

De acuerdo con la tabla 15, a través de la prueba de ANOVA y de rango múltiple (MRT) de Duncan se determinó que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las cuatro muestras de galletas en cuanto al contenido porcentual de humedad, cenizas y proteínas. La galleta CS-3 fue la que presentó un mayor contenido de humedad, mientras que la galleta CS-5 tuvo mayor concentración de cenizas y proteínas con 2,09% y 10% respectivamente. Así mismo, se observa que en cuanto al contenido de grasa no existen diferencias significativas ($p > 0,05$) entre la muestra control (CC) y las muestras de las formulaciones (CS-1) y (CS-3); sin embargo, las muestras mencionadas sí presentaron diferencia significativa con la muestra de la formulación 3 (CS-5), siendo esta última la que presentó mayor contenido de grasa.

En cuanto al contenido de carbohidratos, se observa que no existen diferencias significativas ($p > 0,05$) entre la muestra control y la muestra de la formulación CS-1 considerándose como un grupo homogéneo; sin embargo, sí existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre este grupo y las muestras de las formulaciones CS-3 y CS-5; siendo la galleta CS-1 la muestra con mayor porcentaje de carbohidratos. Por último, en el caso de las calorías totales, se observa que el aporte de la galleta CS-5 fue menor frente al control, con 372,66 kcal/100g y 404,4 kcal/100g respectivamente.

Contenido de minerales

En la Tabla 16 se muestra los resultados del contenido de calcio, hierro y sodio de galletas obtenidas en la presente investigación. Los valores alcanzados en hierro y sodio aumentaron a una mayor concentración de espirulina de manera significativa ($p < 0.05$), siendo 57,06 ppm

en el caso del hierro y 3493,78 ppm para sodio los más elevados; sin embargo, en el calcio no se encontró diferencia significativa. Asimismo, en la Tabla 17 se muestra la conversión de partículas por millón (ppm o mg/kg) a miligramos (mg) en 100 gramos de muestra.

Tabla 16. Contenido de minerales de galletas de harina de trigo y kiwicha con diferentes concentraciones de *S. platensis*.

Contenido	Galleta, ppm			
	CC	CS-1	CS-3	CS-5
Calcio ^{ns}	1315,12±29,15	1501,36±22,33	1413,60±54,01	1339,17±14,13
Hierro	48,75±0,09 ^b	45,05±0,35 ^c	49,88±0,66 ^b	57,07±1,00 ^a
Sodio	2377,57±98,49 ^c	3192,95±31,09 ^b	3299,76±74,55 ^b	3493,78±14,03 ^a

Los resultados se expresan como media ± SD (n = 3). La media con diferentes superíndices en la misma fila es significativamente diferente ($p < 0.05$) según la prueba de Duncan de rango múltiple (MRT). ^{ns} no muestra diferencia significativa.

En la Tabla 16 se muestra los resultados del contenido de calcio, hierro y sodio de las galletas obtenidas en la presente investigación. Según la prueba de Duncan de rango múltiple (MRT) en cuanto al contenido de calcio, las cuatro muestras de galletas formuladas no presentaron diferencias significativas ($p_c > 0,05$). Por otro lado, para el contenido de hierro se observa que no existen diferencias significativas entre la muestra control y la muestra de galleta CS-3; pero sí hay diferencia entre este grupo homogéneo con las muestras CS-1 y CS-5, presentando esta última una mayor concentración de hierro (57,07 ppm). Asimismo, se deduce de la tabla 16, que la galleta CS-5 presenta un alto contenido de sodio (3493,78 ppm), difiriendo significativamente ($p_c < 0,05$) de las muestras CC, CS-1 y CS-3.

Tabla 17. Contenido de minerales de galletas de harina de trigo y kiwicha con diferentes concentraciones de *S. platensis* convertidos en mg/100g de muestra

	Galleta, ppm (mg/kg)				Galleta, (mg/100g)			
	CC	CS-1	CS-3	CS-5	CC	CS-1	CS-3	CS-5
Calcio	1315,12	1501,36	1413,60	1339,17	131,512	150,136	141,360	133,917
Hierro	48,75	45,05	49,88	57,07	4,875	4,505	4,988	5,707
Sodio	2377,57	3192,95	3299,76	3493,78	237,757	319,295	329,976	349,378

Análisis Microbiológico

En la Tabla 18 se muestra los resultados del análisis microbiológico de las galletas obtenidas en la presente investigación mediante el recuento estándar en placa estimado.

Tabla 18. Análisis microbiológico de galletas de harina de trigo y kiwicha con diferentes concentraciones de *S. platensis*.

Grupo Microbiológico	Galletas, UFC/g			
	CC	CS-1	CS-3	CS-5
Mohos	20	10	< 10	10

Análisis sensorial

En la Tabla 19 se muestra los resultados del análisis sensorial de las galletas obtenidas en la presente investigación. Las muestras de las tres formulaciones y el control fueron codificadas con los números 912 para la galleta control, 323 para la formulación con 1% de espirulina, 259 para la formulación con 3% y 105 para la formulación de 5%. Asimismo, los atributos evaluados fueron: color, sabor y textura.

El atributo color presentó menos aceptación de los panelistas al incrementar la concentración de espirulina variando de 6,17 para la muestra control a 4,21 para la galleta CS-5 ($p < 0.01$). Lo mismo ocurrió con el sabor, siendo el puntaje obtenido 5,74 para la galleta control y 4,57 para la galleta CS-5 ($p < 0.01$). Sin embargo, en el caso de la textura se observó preferencia por las galletas CS-1 y CS-3 ($p < 0.05$). Asimismo, como se puede observar en la columna “p” de la Tabla, todos los resultados fueron significativos.

Tabla 19. Análisis sensorial de galletas de harina de trigo y kiwicha con diferentes concentraciones de *S. platensis*.

Atributo	CC	CS-1	CS-3	CS-5	Friedman X^2	p^*
Color	6,17±0,83 ^a	4,82±1,64 ^b	4,60±1,67 ^{bc}	4,21±1,49 ^c	93,473	0,000
Σ rangos	310	231	201	168		
Sabor	5,74±1,01 ^a	5,19±1,34 ^b	5,38±1,38 ^{ab}	4,57±1,45 ^c	45,802	0,000
Σ rangos	273	222	244	171		
Textura	4,69±1,54 ^{ab}	5,00±1,45 ^a	5,02±1,49 ^a	4,26±1,56 ^b	12,968	0,005
Σ rangos	227	241	247	196		

Los resultados se expresan como media ± SD (n = 91). * ANOVA de Friedman. ^{a-c} La media con diferentes superíndices en la misma fila son significativamente diferentes ($p < 0.05$) según la prueba de Newman-Keuls.

Mediante el análisis estadístico de Friedman y el valor –P calculado (Tabla 19), se determinó que para todos los atributos sensoriales evaluados (color, sabor y textura) sí existen diferencias significativas ($p_c < 0,05$) entre por lo menos dos de las formulaciones planteadas, y que las valoraciones de aceptación sensorial emitidas por los panelistas están asociadas entre sí. Así mismo, mediante la prueba de comparaciones múltiples de Newman-Keuls, se aprecia que para el atributo color, la muestra control no presenta la misma aceptación

sensorial ($p_c < 0,05$) que las demás muestras de galletas, siendo la control la que recibió mayor puntuación para ese atributo (6,17). De igual modo, se observa la existencia de diferencias significativas ($p_c < 0,05$) entre la formulación CS-1, CS-3 y CS -5 siendo esta última muestra la de menor puntuación (4,21). En cuanto al sabor, se puede deducir que la formulación CS-3 presenta la misma aceptación ($p_c > 0,05$) que la formulación control; por lo tanto, se determina que la formulación CS-3 es la más aceptada en cuanto a este atributo y que además, existen diferencias significativas ($p_c < 0,05$) entre las formulaciones CS.1 y CS-3 con respecto a la formulación CS-5. Por último, se observa que para el atributo textura existen dos grupos homogéneos, debido a que no se presentan diferencias significativas ($p_c > 0,05$) entre ellas; el primer grupo está conformado por las formulaciones CS-1 y CS-3; y el segundo grupo por las formulaciones CC y CS-5; siendo el primer grupo las más aceptadas sensorialmente en cuanto a la textura de las galletas, con puntajes de 5,00 y 5,02 respectivamente.

DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados del análisis químico-proximal de las cuatro formulaciones de galletas que se muestran en la Tabla 15 y mediante la prueba de análisis de varianza de una vía (ANOVA) se observa que sí existen diferencias significativas a un nivel de confianza del 95% entre las cuatro muestras de galletas en cuanto al contenido de proteínas, el cual alcanza niveles de 7,63g/100g en la galleta control y 10g/100g en la galleta CS-5. Estudios como el realizado por Raj P, et al.⁶⁰, sustituyó parcialmente la harina de trigo por kiwicha hasta en un 30%, obteniendo un valor de proteínas que osciló entre 6.43-7,22%, siendo menores a los resultados obtenidos en la presente investigación. Sin embargo, los valores fueron más cercanos a los hallados en estudios con incorporación de *S. platensis* en 1.5%^{18,61}. Esto se debe a que el *S. platensis* utilizado en el presente estudio tiene 64,7% de proteínas y la harina de kiwicha 12,6%, mientras que la harina de trigo solo 12% en su composición nutricional. La importancia de este macronutriente se basa en el aporte de nitrógeno y aminoácidos, los cuales son utilizados por el organismo para síntesis de proteínas y otras sustancias nitrogenadas. Solo ocho de los veinte aminoácidos que contienen las proteínas son indispensables, y en base a la concentración de ellos se define la calidad de la proteína⁶¹. Lo ideal es que el alimento, en este caso la espirulina, aporte mayor cantidad de los aminoácidos esenciales tomando como referencia el requerimiento establecido para adultos por la OMS; sin embargo, esta microalga tiene menor cantidad de leucina (diferencia de 0,7 mg), lisina 1,7 mg, fenilalanina por 2,4 mg y triptófano por 0,1 mg (Tabla 10)^{50,51}. Por ello, la proteína de origen vegetal suele ser considerada de baja calidad proteica en comparación con fuentes de origen animal.

Asimismo, la digestibilidad in vitro de este nutriente fue estudiada en el 2017 por Bleakley, et al., donde los resultados mostraron que la digestibilidad de la proteína de la *C. vulgaris*

(76.6%) y de *S. platensis* (77.6%) fue inferior a la del huevo (94.2%) y la caseína de la leche (95.1%), pero mayor a la de granos, legumbres, verduras y frutas.⁶²

Respecto al contenido de grasa, según el análisis de varianza no existe diferencia significativa con un nivel de confianza al 95% entre la formulación control y las formulaciones CS-1 y CS-3; sin embargo, sí se encontró diferencias significativas con la formulación CS-5, indicando que a mayor concentración de *S. platensis*, el porcentaje de grasas aumenta progresivamente., siendo 12,7% el aporte en la CC y 13.7% en la CS-5. La diferencia se debe a que *S. platensis* tiene un 6,6% de grasa y la harina de amaranto 5,9%. Shahbarizadeh, et al.,⁴² menciona que el perfil de ácidos grasos de *S. platensis*, incluye ácidos grasos saturados (46,9%), monoinsaturados (7,8%) y poliinsaturados (42,8%) con ácido gama- linolénico como el poliinsaturado más abundante. El contenido de este nutriente en las galletas es importante ya que éstas pueden tender a sufrir de la rancidez oxidativa durante el periodo de almacenamiento conforme aumenta su contenido de grasa.⁶³

Asimismo en la tabla 15, se considera estadísticamente como grupo homogéneo a las formulaciones de galletas CC y CS-1 ya que no existen diferencias significativas entre ellas en cuanto al contenido de carbohidratos y al aporte calórico (66,25% con 405 Kcal, y 66,02 con 406 Kcal respectivamente); sin embargo, sí difieren significativamente de las muestras CS-3 y CS-5, teniendo estas últimas un menor contenido de carbohidratos además de calorías (60,85% con 373 Kcal y 58,67% con 372 Kcal respectivamente), ya que conforme aumentaba el porcentaje de *S. platensis*, disminuía en la misma cantidad la harina de trigo, y por ende el contenido de carbohidratos y calorías totales también.

Por otro lado, el contenido de humedad obtenido en la galleta CS-5 es significativamente mayor que las demás formulaciones. Sin embargo, el valor máximo establecido por la Norma Sanitaria para la Fabricación, Elaboración y Expendio de Productos de Panificación, Galletería y Pastelería: RM N ° 1020 - 2010 / MINSA³ es 12%, el cual es excedido por las

cuatro formulaciones. Esto se debe a que *S. platensis* es una cianobacteria con ausencia de pared celular rígida, ya que está cubierta por una cápsula de polisacáridos sin celulosa, lo cual facilita la digestión y absorción de la microalga, pero también conduce a una mayor tasa de absorción de agua^{42,64}. Este parámetro se encuentra directamente relacionado con características propias de la galleta, como la dureza. Por un lado, Torres González JD, et al⁶³, encontró que, a mayor humedad en las galletas, menor fue su dureza, debido a que las moléculas de agua presentes en la matriz provocan ablandamiento y suavidad de dicha estructura. Sin embargo, otros autores como Hough G⁶⁵, encontraron una correlación inversa entre la crocantez y la dureza sensorial, siendo esta última mayor conforme aumentaba la humedad del alimento. Esto se debe a que un producto humedecido no se desgrana, por lo cual se debe hacer una mayor fuerza en los molares para morder el alimento. De la misma manera, otro estudio realizó un análisis sensorial a cuatro galletas con distintas concentraciones de azúcar, donde se concluyó que la galleta considerada con mayor humedad fue la menos crocante y menos seca; mientras que la galleta más crocante fue considerada la más dura⁶⁶. Cabe resaltar la importancia del control riguroso de este parámetro en la industria, ya que su importancia no solo se basa en la influencia sobre los atributos sensoriales, sino también en la determinación de la inocuidad y aceptación del producto a lo largo de su almacenamiento debido a implicaciones relacionadas con tiempo de vida útil, estabilidad química y microbiológica⁶⁶. Padma A, et al.⁶⁷, halló que a mayor tiempo de almacenamiento (30 días), mayor fue el porcentaje de humedad en galletas y menor la aceptación sensorial considerando atributos como: color, sabor, flavor y aceptación general.

Respecto al contenido de cenizas, de acuerdo al análisis de varianza a un nivel de significancia del 95%, la formulación CS-5 fue significativamente mayor en comparación

con las demás formulaciones. De acuerdo con la RM N ° 1020 - 2010/MINSA, el parámetro establecido para cenizas en galletas es 3%; por lo tanto, en este caso los resultados obtenidos sí se encuentran dentro del estándar establecido. Las cenizas de un alimento son el residuo inorgánico que queda después de calcinar la materia orgánica y es un indicador del contenido total de minerales y materia orgánica. Por otro lado, la determinación de las cenizas en productos alimenticios detecta posibilidad de contaminación metálica en los alimentos que puede generarse en el proceso de producción. Cuando hay un elevado contenido de cenizas en los alimentos o productos analizados se sugiere la presencia de un adulterante inorgánico, por el contrario, cuando el valor de cenizas es muy bajo indica pureza de los alimentos^{68,69}. Según Chirinos Leal, et al., en un estudio de análisis proximal de galletas de harina de trigo, se obtuvo 2,08% de cenizas en las galletas analizadas, resultado similar al nuestro, en donde el máximo valor es de 2,09% y fue obtenido en la formulación con mayor porcentaje de espirulina. Ambos resultados se encuentran dentro del parámetro establecido por MINSA en galletas, lo que representa pureza y calidad aceptada del producto⁷⁰.

Los resultados en la Tabla 16, mostraron que la incorporación de espirulina tuvo un impacto favorable en el contenido de hierro en las galletas. Diferentes estudios han encontrado resultados similares en helados y galletas^{37,42}, e incluso se ha estudiado su efecto en el perfil hematológico^{19,71}. Cabe mencionar que, si bien el hierro de esta microalga es no hemínico, Puyfoulhoux G, et al.⁷², estudió en 2001 la digestibilidad in vitro del hierro proveniente de distintas fuentes alimentarias como carne res, harina de trigo, yema de huevo, *S. platensis* y sulfato de hierro, comparados con el sulfato de hierro más ácido ascórbico, utilizado como referencia. En este estudio se concluyó que la digestión de espirulina y carne de res obtuvo el mismo valor de formación de ferritina luego de 24 horas, siendo ambos significativamente mayor que el valor obtenido por la yema y la harina.

Actualmente, en el mercado se encuentran galletas estándares como las de vainilla y otras con incorporación de cereales andinos (avena, quinua, kiwicha y cañihua), las cuales aportan 5,3 mg y 7,7 mg en 100g respectivamente; valores similares o incluso mayores a los hallados en las formulaciones del estudio (4,5-5,7mg en 100g). Una posible explicación al resultado obtenido es la estrategia de fortificación de toda harina de trigo a nivel nacional, ya sea importada, donada o nacional, con micronutrientes como hierro, tiamina, riboflavina, niacina y ácido fólico. Esta estrategia fue recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS)⁷³, aprobada como ley N° 28314 en el 2006, y establecida a cargo del Centro Nacional de Alimentación y Nutrición (CENAN)⁷⁴. En el caso del hierro se estableció que este insumo debe tener al menos 55 mg/kg añadido en forma de sulfato ferroso o fumarato ferroso.

Por otro lado, respecto a los otros micronutrientes evaluados, el contenido de sodio y el calcio en la galleta CS-5 también fue el más elevado de las cuatro formulaciones; sin embargo, el calcio no tuvo una diferencia significativa entre las galletas. Se realizó una comparación del aporte de los micronutrientes mencionados con distintas galletas referenciales del mercado. En el caso del sodio, las galletas de agua y galletas con granos andinos (quinua, kiwicha y chía) contienen 850 mg y 567 mg en 100g respectivamente, lo cual es mayor al aporte de nuestras formulaciones (238-349mg en 100g). En la actualidad, el contenido de sodio en alimentos y bebidas se rige bajo la ley N°30021⁷⁵, la cual fue aprobada en el 2013 y tiene por título “Ley de Promoción de la Alimentación Saludable para Niños, Niñas y Adolescentes”. En esta se establece que los alimentos procesados con un contenido de sodio $\geq 400\text{mg}/100\text{g}$, se considerarán altos en este mineral. Si bien nuestras galletas se encuentran por debajo del parámetro establecido, las galletas comercializadas en supermercados y utilizadas previamente como referencia, exceden los $400\text{mg}/100\text{g}$, es decir, son galletas con alto contenido de sodio.

Respecto al contenido de calcio, este no fue especificado en ninguna de las galletas revisadas en el mercado y literatura. No obstante, Navarro Tapia YC, desarrolló una formulación de galletas en base de harina de maíz y quinua con cáscara de huevo en polvo y obtuvo un aporte de calcio entre 6 y 10% de la cantidad diaria recomendada (RDA)⁷⁶, valores inferiores a los obtenidos en el presente estudio. Según el manual de instrucciones para adulto mayor del FDA refiere que en la etiqueta de un producto se puede considerar alto en calcio si contiene más de 20% y bajo en calcio si el contenido es 5% o menos del valor diario recomendado^{77,78}, basado en las directrices sobre etiquetado nutricional del Codex Alimentarius (1000mg/día calcio)⁷⁹. En base a este parámetro, las cuatro formulaciones de galletas elaboradas se podrían considerar dentro de los parámetros establecidos, ya que oscilan entre 13 a 15% del valor diario recomendado.

Respecto al análisis microbiológico, el recuento bacteriano viable total se usa ampliamente como indicador de la calidad microbiológica de los alimentos. La RM N° 1020-2010/MINSA, establece como el único estándar microbiológico en el caso de productos de panadería sin cobertura o relleno que no necesitan refrigeración, por debajo del límite máximo de 10^2 UFC/g en el caso del moho³. El recuento de placa estándar fue el método utilizado para el análisis microbiológico en las diferentes formulaciones, y en la Tabla 18 se muestra que los resultados están por debajo de lo máximo permitido por la ley, lo cual confirma que las galletas elaboradas son aptas para el consumo humano sin riesgo para la salud. Massoud R, et al.³⁸, mencionó que la espirulina inhibe el crecimiento de levaduras y mohos en croissants durante todo el período de almacenamiento; por lo tanto, se asume que *S. platensis* actúa como inhibidor microbiológico por su contenido de fitoquímicos con propiedades antioxidantes⁴¹. Este razonamiento justifica la ausencia del desarrollo de mohos en las galletas a pesar del alto contenido de humedad encontrado.

Por otro lado, en la tabla 19, el test de Friedman determinó que sí existen diferencias significativas a un nivel de confianza del 95% entre las cuatro muestras de galletas para todos los atributos sensoriales. Esto se puede deber a los diferentes porcentajes de sustitución de espirulina por harina de trigo empleados en las muestras de galletas formuladas, las cuales impactaron de diferente manera en las propiedades organolépticas de color, sabor y textura en cada una de las galletas planteadas en la presente investigación.

La aceptabilidad general y por atributo de las cuatro muestras de galletas, se encuentran entre “Ni me gusta ni me disgusta y me gusta ligeramente” (4 y 5). Asimismo, por medio de la prueba de comparaciones múltiples de Newman-Keuls se deduce que la galleta control sobresale con los mejores promedios en los atributos color y sabor; y aunque los obtenidos por las muestras de galletas con adición de espirulina no son los óptimos, puede considerarse a la formulación CS-1 y CS-3 como aceptables, ya que no presentaron diferencias significativas con la galleta control para el atributo textura, siendo inclusive esta última formulación la que mejor resultados obtuvo para dicho atributo; además, no presentó diferencias significativas con la formulación control en cuanto al atributo sabor. Cabe mencionar también que la evaluación sensorial reportó que la galleta menos aceptada en términos generales fue la CS-5. Por todo lo mencionado anteriormente se deduce que, la incorporación de *S. platensis* disminuyó la aceptabilidad sensorial en comparación con la galleta control en cuanto a color y sabor. la incorporación de *S. platensis* disminuyó la aceptabilidad sensorial en comparación con la galleta control. Shahbazizadeh S, et al.⁴² and Bolanho et al.⁸⁰ concluyeron también que la incorporación de esta microalga afecta negativamente los atributos sensoriales, al igual que otros estudios con resultados similares^{37,42}. La incorporación de la harina de kiwicha en la formulación de la galleta, por la calidad de amilosa y amilopectina aporta propiedades de alta solubilidad, gran capacidad

de retención de agua y alto rango de temperatura de gelatinización. Es por eso, que posiblemente haya influido en la absorción de *S. platensis* y su textura.¹⁴

Una hipótesis del rechazo hacia las galletas con mayor contenido de espirulina es la propiedad de fijación de compuestos de flavor que tienen las proteínas, lo cual afecta directamente las propiedades sensoriales del alimento. Los alimentos con alto contenido de ácidos grasos insaturados, como la *S. platensis*, se oxidan durante el procesado y se forman sabores extraños como aldehídos, cetonas y alcoholes, los cuales se fijan a las proteínas y le otorgan al producto final propiedades sensoriales distintas. En este caso, la microalga tiene un fuerte flavor debido a su procedencia, el cual fijado a las proteínas podría haber afectado de manera negativa en la evaluación sensorial⁸¹.

Asimismo, cabe mencionar que la ficha de evaluación sensorial incluyó un área de comentarios o sugerencias, donde la galleta CS-3 fue considerada la mejor en aceptabilidad general; mientras que la galleta CS-5 fue considerada la menos aceptada. Respecto al sabor y la textura, los panelistas refirieron que la galleta control presentó un fuerte sabor residual amargo y fue muy dura, lo cual está directamente relacionado con la humedad como se explicó anteriormente. En el caso del color, la incorporación de *S. platensis* no fue aceptada en ninguna concentración. Una posible explicación es que en Perú no cuenta con una gastronomía donde se incluyan microalgas, por lo cual es más difícil la aceptabilidad de nuevos productos en el mercado, a diferencia de otros estudios realizados en Italia⁸² y Brasil⁶⁴, donde sí encontraron mayor aceptabilidad sensorial conforme aumentaba el contenido de espirulina.

El principal aporte de este estudio es la incorporación de un alimento poco estudiado y aprovechado en la industria alimentaria, como las microalgas, en alimentos de consumo masivo, como las galletas. Distintos estudios reportaron la posibilidad de incorporar compuestos bioactivos como fibra dietaria, extracto de plantas, harinas de legumbres, entre

otros. Sin embargo, esta adición ha demostrado tener un efecto adverso generalmente en las propiedades sensoriales; principalmente las plantas (algas y microalgas), debido a que su alto contenido de proteínas y el cambio generado en el color del producto final⁸². Por ello, es importante estudiar y determinar cuáles son las concentraciones que mejoran la composición nutricional de las galletas de manera significativa, y a su vez, son aceptadas por el consumidor.

S. platensis junto a *C. vulgaris* y *D. salina* son las tres microalgas más investigadas y utilizadas en el área comercial debido a su perfil nutricional y por ser considerados como alimentos seguros según la Autoridad de Seguridad Alimentaria Europea (EFSA, por sus siglas en inglés) a una dosis máxima de 10g al día.⁸³ Sin embargo, para el presente estudio se eligió espirulina por varios motivos. Primero, por más de una década la venta de espirulina ha sido secada en forma de cápsulas como suplemento nutricional, o mediante la extracción de pigmentos y metabolitos específicos; sin embargo, en esta presentación es solo accesible para la población con un nivel socioeconómico alto. Por ello, un estudio dirigido al consumidor de microalgas determinó que, si esta es incorporada en los alimentos y bebidas, es accesible también para la población con nivel socioeconómico medio⁸⁴. Segundo, numerosos estudios han comprobado los beneficios de la propiedad inmunomodulador, antioxidante, antitumoral, antiviral, antiinflamatoria y antimicrobiana de este alimento frente a distintas patologías^{16,83}. Tercero, si bien la composición nutricional de la espirulina varía según la condiciones del cultivo (zona geográfica, pH del agua, temperatura, entre otros), resalta el aporte de proteínas (60-71%), los ácidos grasos poliinsaturados, principalmente el ácido gamma-linolénico, y compuestos bioactivos como β -carotenos y ficocianinas⁸⁵. Por último, consideramos que el aporte innovador de la presente investigación consiste en ser el primer estudio realizado en el Perú en el que se evaluó el efecto de incorporación de

espirulina a dosis mayores (1, 3 y 5%) en galletas con sustitución parcial de harina de trigo por la harina de kiwicha.

CONCLUSIONES

Se determinó de manera óptima la composición químico proximal en las 4 formulaciones. La galleta optimizada con 5% de espirulina obtuvo humedad 15,5%, proteína 10%, grasas 13,7%, ceniza 2,09% y carbohidratos 58,6%. En contenido de minerales fue calcio 133,9 mg, hierro 5,7 mg y sodio 349,3 mg.

Se determinó de manera óptima la carga microbiana de las cuatro formulaciones, las cuales cumplieron con los requisitos microbiológicos establecidos en la Norma Sanitaria Nacional vigente de Productos de Panificación, galletería y pastelería.

Se evaluaron adecuadamente las características sensoriales mediante la puntuación de atributos como color, sabor y textura, y así determinar el grado de aceptabilidad de las cuatro formulaciones de galleta. De las tres formulaciones con incorporación de espirulina, la que tuvo mayor aceptabilidad en color fue la galleta con 1% de espirulina con 4,82, y respecto al sabor y textura lideró la de 3% con 5,38 y 5,02 respectivamente, lo que equivaldría a un “me gusta ligeramente” en la escala hedónica empleada.

RECOMENDACIONES

- Realizar análisis en el contenido de fibra dietaria, soluble e insoluble de las cuatro formulaciones desarrolladas
- Realizar perfil de aminoácidos
- Realizar perfil de ácidos grasos
- Probar la sustitución parcial con otras harinas
- Adecuar la preparación de las galletas para consumo de personas veganas.
- Realizar estudios en los que se empleen aditivos alimentarios en la formulación de galletas con *S. platensis* que coadyuven a mejorar su estabilidad y aceptabilidad tales como antioxidantes, aromatizantes y colorantes naturales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Programa Cooperativo de Desarrollo Rural (PRODAR). Fichas técnicas: Procesados de cereales. Food and Agriculture Organization (FAO). 2010
2. Instituto Nacional de la Calidad (INACAL). NTP 206.001.1981 “Panadería, pastelería y galletería. Galletas. Requisitos 2º edición”. Ministerio de la Producción. 1981
3. Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA). Norma Sanitaria para la Fabricación, Elaboración y Expendio de Productos de Panificación, Galletería y Pastelería. Ministerio de Salud. 2011.
4. Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA). Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. Ministerio de Salud. 2003
5. Rodríguez De Marco E, Steffolania E, Martínez CS, León AE. Effects of spirulina biomass on the technological and nutritional quality of bread wheat pasta. *LWT-Food Science and Technology*. 2014: 1-7
6. Kiin-Kabari DB, Yorte Giami S. Physico-Chemical, Starch Fractions and Dietary Fibre of Biscuits Produced from Different Levels of Substitution of Wheat Flour with Plantain Flour. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering*. 2015; 5(5): 197-202
7. Chauhan A, Saxena DC, Singh S. Physical, textural and sensory characteristics of wheat and amaranth flour blend cookies. *Food Science & Technology*. 2015
8. Dokic L, Nikolic I, Soronja-Simovic D, Seres Z, Krstonosic V, Fistes A. Physical properties of dough for cookies with chestnut flour. *Analecta*. 2014
9. Gaytán Rodríguez RE. Elaboración de galletas con alto contenido proteico a base de harina de garbanzo (*Cicer arietinum L.*). [Tesis universitaria]. Coahuila, México: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; 2015
10. García Méndez AD, Pacheco de Delahaye E. Evaluación de galletas dulces tipo wafer a base de harina de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza B.*). *Rev Fac Nal Agr Medellín*. 2007; 60 (2): 4195-4212.
11. Trujillo Torres HJ. Sustitución parcial de harina de trigo (*Triticum aestivum L.*) por harina de papa china (*Colocasia esculenta*) para la elaboración de galletas de dulce. [Tesis universitaria]. El Oro, Ecuador: Universidad Técnica de Machala; 2015
12. Ho LH, Abdul Latif NW. Nutritional composition, physical properties, and sensory evaluation of cookies prepared from wheat flour and pitaya (*Hylocereus andatus*) peel flour blends. *Food Science & Technology*. 2016
13. Chamorro Gómez R. Valor Nutricional y Compuestos Bioactivos de 30 Accesiones de Kiwicha (*Amaranthus caudatus L.*) del INIA – Perú. [Tesis universitaria]. Lima, Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2018.
14. Espitia Rangel E, et al. Amaranto: Ciencia y Tecnología. Libro Científico N° 2. INIFAP/SINAREFI. Mexico; 2012. pp 238.
15. Drews-Jr P, Colares RG, Machado P, de Faria M, Detoni A, Tavano V. Microalgae classification using semi-supervised and active learning based on Gaussian mixture models. *J Braz Comput Soc*. 2013; 19: 411-22.

16. Guedes AC, Amaro HM, Malcata FX. Microalgae as sources of high added value compounds. A brief review of recent work. American Institute of Chemical Engineers. 2011
17. Borowitzka MA. High value products from microalgae – their development and commercialization. *J Appl Phycol*. 2013; 25: 743-56
18. Rendón Castrillón LJ, Ramírez Carmona ME, Vélez Salazar Y. Microalgas para la industria alimenticia. Universidad Pontificia Bolivariana. 2015
19. Sachdeva R, Kaur R, Kaur Sangha J. Effect of Supplementation of Spirulina on the Haematological Profile and Intellectual Status of School Girls (7-9 years). *J. Hum. Ecol*. 2004; 15 (2): 105-108.
20. Batista AP, Niccolai A, Fradinho P, Fragoso S, Bursic I, Rodolfi L. Microalgae biomass as an alternative ingredient in cookies: Sensory, physical and chemical properties, antioxidant activity and *in vitro* digestibility. *Algal Research*. 2017; 26: 161-171
21. Siva Kiran RR, Madhu GM, Satyanarayana SV. Spirulina in combating Protein Energy Malnutrition (PEM) and Protein Energy Wasting (PEW) – A review. *J Nut Res*. 2015; 3 (1): 62-79
22. Torres-Duran PV, Ferreira-Hermosillo A, Juarez-Oropeza MA. Antihyperlipemic and antihypertensive effects of Spirulina máxima in an open sample of mexican population: a preliminar report. *BioMed Central*. 2007; 33 (6)
23. Konicková R, Vanková K, Vaníková J, Váňová K, Muchová L, Subhanová I, et al. Anti-cancer effects of blue-green alga Spirulina platensis, a natural source of bilirubin-like tetrapyrrolic compounds. *Annals of Hepatology*. 2014; 13 (2): 273-283
24. Mazokopakis EE, Papadomanolaki MG, Fousteris AA, Kotsiris DA, Lampadakis IM, Ganotakis ES. The hepatoprotective and hypolipidemic effects of Spirulina (*Arthrospira platensis*) supplementation in a Cretan population with non-alcoholic fatty liver disease: a prospective study. *Ann Gastroenterol Q Publ Hellenic Soc Gastroenterol*. 2014; 27: 387-94
25. Selmi C, Leung PS, Fischer L, German B, Yang C-Y, Kenny TP, et al. The effects of Spirulina on anemia and immune function in senior citizens. *Cell Mol Immunol*. 2011; 8: 284-54
26. Serban MC, Sahebkar A, Dragan S, Stoichescu-Hogea G, Ursoniu S, Andrica F, et al. A systematic review and meta-analysis of the impact of Spirulina supplementation on plasma lipid concentrations. *Clinical Nutrition*. 2015; 1-10
27. Velasquez SF, Chan MA, Abisado RG, Ferninand R, Tayamen MM, Maliwat GC, et al. Dietary Spirulina (*Arthrospira platensis*) replacement enhances performance of juvenile Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J Appl Phycol*. 2016; 28: 1023-30
28. Teimouri M, Keramat Amirkolaie A, Yeganeh S. The effects of *Spirulina platensis* meal as a feed supplement of growth performance and pigmentation of rainbow (Oncorhynchus mykiss). *Aquaculture*. 2013
29. Lo Cascio P, Calabro C, Bertuccio C, Paterniti I, Palombieri D, Calo M, et al. Effects of fasting and refeeding on the digestive tract of zebrafish (*Danio rerio*) fed with Spirulina (*Arthrospira platensis*), a high protein food source. *Natural Product Research*. 2017
30. Radhakrishnan S, Belal I, Seenivasan C, Muralisankar T, Saravana Bhavan P. Impact of fishmeal replacement with *Arthrospira platensis* on growth performance, body

- composition and digestive enzyme activities of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture Reports*. 2016:35-44
31. Chyi Wuang S, Cho Khin M, Danny Chua PQ, Luo YD. Use of *Spirulina* biomass produced from treatment of aquaculture wastewater as agricultural fertilizers. *Algal Research*. 2016: 59-64
 32. Mendoza Pariapaza KS. Muffins de chocolate con relleno de mermelada de kiwi enriquecida con *Spirulina* (*Arthrospira platensis*). [Tesis universitaria]. Arequipa, Perú: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; 2017
 33. Chacón-Lee TL, González-Mariño GE. Microalgae for “Healthy” Foods – Possibilities and Challenges. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2010 (9)
 34. Agustini TW, Soetrisnanto D, Maruf WF. Study on chemical, physical microbiological and sensory of yogurt enriched by *Spirulina platensis*. *International Food Research Journal*. 2017; 24(1): 367-71
 35. Torres A, Parra J, Rojas D, Fernández-Gómez R, Valero Y. Efecto de la suplementación de sémola de trigo con *athrospira platensis* sobre calidad, aceptabilidad y composición física y química de espaguetis. *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*. 2014; 21 (2): 81-89
 36. Sharoba AM. Nutritional value of spirulina and its use in the preparation of some complementary baby food formulas. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*. 2014; 20 (4): 330-50
 37. Malik P, Kempanna C, Paul A. Quality characteristics of ice cream enriched with spirulina powder. *International Journal of Food and Nutritional Sciences*. 2013; (2)
 38. Massoud R, Khosravi-Darani K, Nakhsaz F, Varga L. Evaluation of Physicochemical, Microbiological and Sensory Properties of Croissants Fortified with *Arthrospira platensis* (*Spirulina*). *Czech J. Food Sci*. 2016; (4): 350-55
 39. Phuoc Minh N. Effect of *Saccharomyces cerevisiae*, *Spirulina* and preservative supplementation to sweet bread quality in bakery. *International Journal of Multidisciplinary Research and Development*. 2014; 1 (4): 36-44.
 40. Rabelo S, Lemes A, Takeuchi K, Frata M, Carvalho J, Danesi E. Development of cassava doughnuts enriched with *Spirulina platensis* biomass. *Brazilian Journal of Food Technology*. 2013; 16 (1): 42-51
 41. Constatinescu G, Amelia B. *Spirulina platensis* effect as protein supplement or rheological properties of dough and nutritional qualities of hot-dog rolls. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*. 2014; 20 (2): 171-177
 42. Shahbazizadeh S, Khosravi-Darani K, Sohrabvandi S. Fortification of Iranian Traditional Cookies with *Spirulina platensis*. *Annual Research & Review in Biology*. 2015; 7 (3): 144-154.
 43. Piccolo A. *Spirulina – A livelihood and a business venture*. Vol 1. 10th edition. European Development Fund; 2011
 44. ANSES. Opinion of the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety. 2014.
 - 45.

46. Soni RA, Sudhakar K, Rana RS. Spirulina-from growth to nutritional product: A Review. Trends in Food Science & Technology. 2017.
47. Argento F, Sempere C, van Lierde F. Factibilidad técnica y económica de la producción de spirulina. ITBA. 2016
48. Centro de Extensión Universitaria CEUC. Desarrollo tecnológico en la producción de spirulina como negocio sostenible. Universidad Católica de Santa María (UCSM). 2017. Disponible en: <http://www.ucsm.edu.pe/desarrollo-tecnologico-en-la-produccion-de-spirulina-como-negocio-sostenible/>
49. United States Department of Agriculture - National Nutrient Database for Standard Reference (USDA-ARS). [citado 01 setiembre 2018]. Disponible en: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/11667?fgcd=&manu=&format=&count=&max=25&offset=&sort=default&order=asc&qlookup=spirulina&ds=&qt=&qp=&qa=&qn=&q=&ing=>
50. Badui Dergal S. Química de los alimentos. 4ta edición. México: Pearson; 2006.
51. The National Academies. Recommended Dietary Allowances. 10ma edición. Washington D.C: National Academies Press; 1989.
52. Mišurcova L, Bunka F, Vavra Ambrozova J, Machu L, Samek D, Kracmar S. Amino acid composition of algal products and its contribution to RDI. Food Chemistry. 2014: 120-125
53. Olivas - Gastélum R, Nervárez Moorillon G, Gastelum Franco MG. Las pruebas de diferencia en el análisis sensorial de los alimentos. Tecnociencia Chihuahua. Vol. III, No.1. Enero – Abril 2009.
54. Olivas – Gastélum R. Comparación y evaluación de las pruebas de diferencia dúo - trío triangular, ABX e igual diferente. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos 2 (2008): 66 – 80.
55. Liria Domínguez MR, Pachón H. Guía para la Evaluación Sensorial de Alimentos. AgroSalud. 2007.
56. Toaquiza Vilca NA, Pilamala A. Elaboración de galletas con sustitución parcial de harina de amaranto (*Amaranthus caudatus*) y panela. [Tesis universitaria]. Ambato, Ecuador: Universidad Técnica de Ambato; 2012
57. Latimer GW. Official Methods of Analysis. AOAC: Association of Official Analytical Chemists. 18th Edición. Washington D.C., Estados Unidos. 2012
58. Kastenmayer P. Análisis de minerales y elementos traza en alimentos. Food and Agriculture Organization (FAO). 2014. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/010/ah833s/ah833s22.htm>
59. Akgül, M., Temis, C.S. (2007). A comparison of kraft and kraft-sodium borohydrate brutia pine pulps. Building and Environment 42, 2586-2590.
60. ICMSF. Microorganismos de los alimentos 1. Su significado y métodos de enumeración. Vol X, 2da ed. Zaragoza, España: Acribia; 2000
61. Raj P, Mohankumar JB. Formulation and standarization of bajra cookie using amaranth flour as partial replacement. International Journal of Scientific Research. 2018; 7(2).
62. Villarruel-López A, Ascencio F, Nuño K. Microalgae, a Potential Natural Functional Food Source – a Review. Pol J Food Nutr Sci. 2017; 67 (4): 251-263

63. Bleakley S, Hayes M. Algal Proteins: Extraction, Application and Challenges Concerning Production: MDPI. 2017
64. Torres González JD, Torres Gallo R, Acevedo Correa D, Gallo-García LA. Evaluación instrumental de los parámetros de textura de galletas de limón. *Revista Vector*. 2015; 10: 14-25.
65. Lupatini AL, Colla LM, Canan C, Colla E. Potential application of microalgae *Spirulina platensis* as a protein source. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2017; 97 (3): 713-1047
66. Hough G. Textura sensorial de galletitas crocantes en función de su composición, humedad y temperatura de transición vítrea. [Tesis universitaria]. Buenos Aires, Argentina: Universidad de Buenos Aires; 2000.
67. Fernández A, Rojas E, García A, Mejía J, Bravo A. Evaluation, shelflife and sensory of cookies enriched with whey protein products from quesería. *Revista Científica*. 2016; 26(2): 71-79
68. Padma A, Rajendran R. Development and Evaluation of Spirulina Incorporated Little Millet Cookies. *Madras Agric J*. 2016; 103 (4-6): 199-201.
69. Márquez Sigvas B. Cenizas y grasas. Teoría del muestreo. Refrigeración y congelación de alimentos: terminología, definiciones y explicaciones. Propiedad intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa [Internet]. Arequipa – Perú; 2014. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/4188/IAmasibm024.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
70. Ramírez López G. Expresión analítica de los componentes de los alimentos. Universidad de Antioquia Facultad de Química Farmacéutica. Año 2008.
71. Chirinos Leal W, Vargas Rincón N. Análisis proximal de galletas de harina de trigo (*Triticum Vulgare*): Tapirama (*Phaseolus Lunatus*) de Pueblo Nuevo de Paraguaná. 2017; 44(2): 10-17
72. Abed E, Ihab AN. Impact of Spirulina on Nutritional Status, Haematological Profile and Anaemia Status in Malnourished Children in the Gaza Strip: Randomized Clinical Trial. *Maternal and Pediatric Nutrition Journal*. 2016; 2 (2)
73. Puyfoulhoux G, Rouanet JM, Besancon P, Baroux B, Baccou JC, Caporiccio B. Iron Availability from Iron-Fortified Spirulina by an in Vitro Digestion/Caco-2 Cell Culture Model. *J. Agric. Food Chem*. 2001; 49: 1625-1629.
74. Departamento de Nutrición para la Salud y el Desarrollo (NHD). Recomendaciones sobre la fortificación de las harinas de trigo y de maíz. Organización Mundial de la Salud. 2009
75. Ramírez Beltrán GC, Legua Castilla CA. Control analítico de la fortificación de la harina de trigo en los molinos del Perú, año 2012. CENAN. 2016.
76. Ley N°30021, Ley de Promoción de la Alimentación Saludable para Niños, Niñas y Adolescentes [en línea]. Perú: Ministerio de Salud; 2017 [fecha de acceso 17 mayo 2018]. Disponible en: ftp://ftp2.minsa.gob.pe/normaslegales/2017/RM_N%C2%B0_683-2017-MINSA.pdf

77. Navarro Tapia Y. Desarrollo de galletas a base de harina de maíz (*Zea mays*) y quínoa (*Chenopodium quinoa*) con adición de cáscara de huevo en polvo. [Tesis universitaria]. Zamorano, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana; 2016.
78. Food & Drug Administration (FDA). Guía para la industria: guía de etiquetado de alimentos. 14. Apéndice F: Cálculo del porcentaje de valor diario (VD) para nutrientes. [Internet] Octubre 2009. Disponible en: <https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/LabelingNutrition/ucm247936.htm>
79. Food & Drug Administration (FDA). Cómo usar la etiqueta de información nutricional: Manual de instrucciones para adultos mayores; [Consultado 18 octubre 2016]. Disponible en: <https://www.fda.gov/downloads/food/foodborneillnesscontaminants/ucm255434.pdf>
80. Codex Alimentarius. Normas internacionales de los alimentos. Directrices sobre etiquetado nutricional. [Internet] Revisado en 2017. Disponible en: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCAC%2BGL%2B2-1985%252FCXG_002s.pdf
81. Cervejeira- Bolanho B, Buranelo-Egea M, Morocho-Jacome AL, Campos I, Monteiro de Carvalho JC, Godoy Danesi ED. Antioxidant and nutritional potential of cookies enriched with *Spirulina platensis* and sources of fiber. *Journal of Food and Nutrition Research*. 2014; 53(2): 171-79
82. Damodaran S, Parkin KL, Fennema OR. *Química de los alimentos*. 1era edición. Zaragoza, España: Acribia; 2010
83. Onacik-Gur S, Zbikowska A, Majewska B. Effect of spirulina (*Spirulina platensis*) addition on textural and quality properties of cookies. *Ital J. Food Sci*. 2018; 30(1).
84. Sotiroudis TG, Sotiroudis GT. Health aspects of *Spirulina* (*Arthrospira*) microalga food supplement. *Journal of the Serbian Chemical Society*. 2013; 78(3): 395-405.
85. Moons I, De Pelsmacker P, Barbarossa C. The drivers of usage intention of *Spirulina* algae in food in different market segments. *Universiteit Antwerpen*. 2017
86. Gutiérrez-Salmeán G, Fabila-Castillo L, Chamorro-Cevallos G. Nutritional and toxicological aspects of *Spirulina* (*Arthrospira*). *Nutrición Hospitalaria*; 32 (1): 34-40

ANEXOS

1. Aprobación del Comité de Ética de Ciencias de la Salud de UPC

CB/306-07-17

Chorrillos, 24 de Julio del 2017

Alumna
Koral Gutiérrez Vergaray
Lourdes Tello Echevarria
Alumna de la Carrera de Nutrición y Dietética
Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas
Presente.-

Ref. PI091.-17: Evaluación de la incorporación de espirulina sobre las propiedades nutricionales y sensoriales de una galleta a base de harina de trigo y kiwicha.

Estimadas Investigadoras.

Hemos recibido el protocolo de investigación, y los documentos de soporte, los cuales han sido revisados en detalle. Luego de esta revisión, el Comité de Ética e Investigación (CEI) de la Facultad de Ciencias de la Salud ha determinado que este proyecto está **APROBADO** y pueden proceder con su ejecución.

A continuación, emitimos algunas apreciaciones complementarias sobre este proyecto:

- Agregar el contacto del Comité de Ética en el Consentimiento Informado (Sra. Suley's Arles: suleys.arles@upc.edu.pe).
- Sugerimos no dejen de lado la recomendación de incorporar información preventivo-promocional acerca de los riesgos que supone el consumo en exceso de azúcar (componente de las galletas). Esto no condiciona la aprobación. Queda en manos de los investigadores la decisión sobre cómo proceder.
- Sugerimos aclarar y homogenizar los términos "sensorial", "organoléptico" y similares dado que, aparentemente, solo van a evaluar el gusto. Queda en manos de los investigadores la decisión sobre cómo proceder.
- Sugerimos dejar por escrito en el trabajo final los conflictos de interés de los investigadores respecto a este trabajo si es que los hubiese.
- Nota técnica: Las observaciones previas de este comité fueron exclusivamente aclaraciones sobre algunas de las observaciones de la primera carta del CEI que no fueron comprendidas o respondidas por los investigadores.

Los Investigadores deben de informar al Comité sobre cualquier cambio en el protocolo posterior a este dictamen. Del mismo modo, de forma anual y desde esta fecha, los Investigadores deben enviar un breve informe de avances al Comité y un breve informe final al momento del cierre definitivo del estudio. El comité se reserva el derecho de supervisar de manera inopinada la progresión de la investigación en cualquier momento y bajo cualquier modalidad.

Esta aprobación tiene una duración de 18 meses a partir de la fecha de esta carta, la que puede ser renovada de ser requerido por los investigadores

Sin otro particular quedo de ustedes


Esthy Segura Paucar,
Presidente del Comité de Ética
Facultad de Ciencias de la Salud



UPC
Universidad Peruana
Ciencias Aplicadas

Avenida Alameda
San Marcos cuadra
Chorrillos
Lima 9 - Perú
T 511 303 3333
www.upc.edu.pe

exigete, innova

2. Operacionalización de variables

Variables dependientes		Tipo de variable	Definición de variables	Indicador	Técnica
Valor Nutricional	Humedad	Numérica	Contenido de agua	g/ 100g de muestra	Gravimetría
	Cenizas	Numérica	Minerales totales	M	Gravimetría
	Proteínas	Numérica	Macronutriente	g/ 100g	Gravimetría-Volumetría
	Grasa	Numérica	Macronutriente	g/100 g de muestra	Gravimetría
	Carbohidratos	Numérica	Macronutriente	g/100 g de muestra	Diferencia de peso
Variables dependientes		Tipo de variable	Definición de variables	Indicador	Técnica
Valor nutricional	Hierro	Numérica	Minerales esenciales	mg/100 g de muestra	Espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS)
	Calcio	Numérica	Minerales esenciales	mg/100 g de muestra	Espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS)
	Sodio	Numérica	Minerales esenciales	mg/100g de muestra	Espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS)
	Aminoácidos	Numérica	Libres y totales	mg/100g de muestra	Espectrofotometría UV-vis
Análisis Microbiológico	Moho	Numérica	Presencia de agentes Microbianos en la muestra	UFC/g	Método de recuento de colonias en placa
Aceptabilidad	Color	Numérica	Grado de aceptación que tendrá la galleta por parte del consumidor	promedio	Prueba sensorial
	Sabor	Numérica		promedio	
	Textura	Numérica		promedio	
Variables independientes		Tipo de variable	Definición de variables	Indicador	Técnica
Dosis de espirulina		Numérica	Microalga con alto valor nutricional	%	No aplica

3. Ficha técnica de espirulina – Empresa E&M

ALIMENTOS ESENCIALES PARA LA HUMANIDAD SA DE CV

CERTIFICADO DE ANÁLISIS



Nombre del producto: Spirulina en polvo	Lote No. SP16049
Fecha de manufactura: Agosto, 2016	Fecha de caducidad: Agosto, 2019
Prueba estándar realizada: GB 5009-2010 /GB 4789-2010	
Empaque: bolsa sellada de grado alimenticio en cuñetes de 25 Kg.	

Conceptos	Especificaciones	Resultados	Método de prueba
Apariencia	Polvo color verde azulado	Conforme	Visual
Sabor y aroma	Apacible como las algas	Conforme	Organoléptico
Impurezas	Sin impurezas	Conforme	Microscópico
Humedad	NMT 8.0%	6.8%	GB 5009.3-2010
Proteína	NLT 60%	64.7%	GB 5009.5-2010
Cenizas	NMT 8.0%	6.7%	GB 5009.4-2010

Pigmentos 100g			
Carotenos totales	NLT 0.30g	Conforme	Q/ESJL.0002S-2012
Clorofila	NLT 0.5g	Conforme	SNT 1113-2002
Ficocianina	NLT 10.0g	Conforme	SNT 1113-2002

Metales pesados			
Arsénico	NMT 1.0 PPM	<0.8ppm	AAS
Plomo	NMT 2.0 PPM	<0.3ppm	AAS
Cadmio	NMT 0.1PPM	Conforme	AAS
Mercurio	NMT 0.1PPM	Conforme	AAS

Microbiológico			
Recuento total placa	NMT 100,000 cfu/g	<50,000cfu/g	GB-4789.2-2010
Hongos y levaduras	NMT 300 cfu/g	<100cfu/g	GB-4789.15-2010
Salmonella	Negativo/10g	Negativo	GB-4789.4-2010
E. Coli	Negativo/10g	Negativo	GB-4789.38-2012
Coliformes	NMT 10 cfu/g	<10cfu/g	GB-4789.3-2010
Estafilococos	Negativo/10g	Negativo	GB-4789.10-2010
Tamaño partículas	100% malla 80 mesh	Conforme	Escáner USP
Densidad	0.5g/ml	Conforme	LBD
Excipientes	Ninguno	Ninguno	
Colorantes	Ninguno	Ninguno	
Microcistinas	1.0PPB Max	Conforme	HPLC

Conclusión: Resultados aprobados de acuerdo con al estándar.	Aprobado:  
--	--

AEH990125RM1
Emiliano Zapata 12 - 101, Colonia San Jerónimo Aculco,
Delegación Magdalena Contreras, México D.F. C.P. 10400, MÉXICO
T (5255) 5254 0101
www.aeh.mx

4. Consentimiento informado

Consentimiento para participar en un estudio de Investigación

- ADULTOS -

Instituciones : Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas

Investigadores: Gutiérrez Koral y Tello Andrea

Título: Evaluación de la incorporación de espirulina sobre las propiedades nutricionales y sensoriales de una galleta a base de harina de trigo y kiwicha

Propósito del Estudio:

Te invitamos a participar en un estudio realizado por alumnos del curso "Proyecto de Tesis 1" de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. Para ello, necesitamos que pruebes cuatro muestras de galletas con distintas concentraciones de espirulina y llene una encuesta con sinceridad y de manera completa si es posible. En esta encontrarás tres atributos de la galleta, los cuales debes calificar con una X según la escala mostrada ahí para cada galleta.

Cabe mencionar que la espirulina es un alga verdeazulada con un alto aporte de proteínas y micronutrientes como calcio y hierro. Se ha estudiado su incorporación en distintos alimentos como fideos, yogur, papillas, helado, croissants, entre otros.

Riesgos y confidencialidad

Es importante mencionar que esta evaluación sensorial no es apta para los participantes que sean intolerantes a la lactosa, celíacos, diabéticos o fumadores; y se aconseja que entiendan y lean el idioma español para el desarrollo adecuado del cuestionario. Además, nos comprometemos a manejar tu información de manera anónima, es decir, no se te podrá identificar de ninguna manera.

Derechos del paciente:

Si usted decide participar en el estudio, puede retirarse de éste en cualquier momento, o no participar en una parte. Si tiene alguna duda adicional respecto a la encuesta puede contactarte con:

- Koral Gutiérrez con mail: koralgutierrezv@gmail.com
- Andrea Tello con mail: dreatello24@gmail.com

CONSENTIMIENTO

Acepto voluntariamente participar en este estudio, comprendo que puedo decidir no participar y que puedo retirarme del estudio en cualquier momento.

Koral Alexandra Gutiérrez Vigarany
DNI: 75436695

Lourdes Andrea Tello Echevarría
DNI: 46404428

Nombre:
DNI:

5. Cuestionario de evaluación sensorial

Ficha de Evaluación Sensorial
Galletas con distintas concentraciones de espirulina

Edad: _____ Fecha: _____

Instrucciones:

A continuación, pruebe las cuatro galletas e indique su nivel de agrado respecto al color, sabor y textura de cada una. La escala contiene 7 categorías, marque con una X según su juicio sobre cada atributo de las cuatro galletas. Si tiene alguna observación adicional, escribala en el espacio correspondiente

	Galleta 912			Galleta 323			Galleta 105			Galleta 259		
	Color	Sabor	Textura	Color	Sabor	Textura	Color	Sabor	Textura	Color	Sabor	Textura
Me gusta mucho												
Me gusta												
Me gusta ligeramente												
Ni me gusta ni me disgusta												
Me disgusta ligeramente												
Me disgusta												
Me disgusta mucho												

Comentarios:

Gracias por su colaboración

 Koral Alexandra Gutiérrez Vergaray
 DNI: 75426695

 Lourdes Andrea Tello Echevarría
 DNI: 46404428

 Nombre:
 DNI: