

**UNIVERSIDADE DE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIAS**

ARIANA VIEIRA ALVES

**ENTOMOFAGIA: ELABORAÇÃO DE ALIMENTO
PROTEICO COM ADIÇÃO DE *Tenebrio molitor* L.
(COLEOPTERA, TENEBRIONIDAE)**

**TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
AMBIENTAL**

DOURADOS-MS

FEVEREIRO/2019

ARIANA VIEIRA ALVES

**ENTOMOFAGIA: ELABORAÇÃO DE ALIMENTO
PROTEICO COM ADIÇÃO DE *Tenebrio molitor* L.
(COLEOPTERA, TENEBRIONIDAE)**

ORIENTADORA: Dr^a. ELIANA JANET SANJINEZ-ARGANDOÑA

**Tese de Doutorado submetida ao Programa
de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia
Ambiental, como um dos requisitos
necessários para a obtenção do Título de
Doutor em Ciência e Tecnologia na área de
concentração Tecnologia Ambiental**

DOURADOS/MS

FICHA CATALOGRÁFICA

Alves, Ariana Vieira

Entomofagia: elaboração de alimento proteico com
adição de *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera, Tenebrionidae) /
Ariana Vieira Alves; orientação de Eliana Janet Sanjnez
Argandoña – Dourados-MS, 2019.

90 p.: il.

Tese de Doutorado (D) – Universidade Federal da Grande
Dourados/ Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologias, 2019.

1. Insetos comestíveis. 2. Toxicidade. 3. Alto teor
proteico. 4. Aminoácidos essenciais. 5. Ácidos graxos
essenciais. I. Sanjnez-Argandoña, EJ. II. Doutora.

CDD ou CDU



UFGD

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

ATA DA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO APRESENTADA PELA ALUNA ARIANA VIEIRA ALVES, DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "TECNOLOGIA AMBIENTAL".

Aos 27 dias do mês de fevereiro de dois mil e dezenove, às 14h, em sessão pública, realizou-se, nas dependências da Universidade Federal da Grande Dourados, a Defesa de Tese de Doutorado intitulada "Entomofagia: elaboração de alimento proteico com adição de *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera, Tenebrionidae)", apresentada pela doutoranda Ariana Vieira Alves, do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, à Banca Examinadora constituída pelos professores Dr.^a Eliana Janet Sanjinez Argandoña/UFGD (presidente/orientadora), Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite/UFGD (membro interno titular), Dr. Marcelo Fossa da Paz/UFGD (membro interno titular), Dr. Fernando Freitas de Lima/UNICAMP (membro externo titular), Dr.^a Magda Freitas Fernandes/UFGD (membro externo titular). Iniciados os trabalhos, a presidência deu a conhecer a candidata e aos integrantes da banca as normas a serem observadas na apresentação da Tese. Após a candidata ter apresentado a sua Tese, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições, que foram intercaladas pela defesa da candidata. Terminadas as arguições, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo sido a candidata considerada APROVADA, fazendo jus ao título de DOUTORA EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL. Os membros da banca abaixo assinados atestam que o Prof. Dr. Fernando Freitas de Lima participou de forma remota desta defesa de tese, considerando a candidata Ariana Vieira Alves conforme declaração anexa.. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Dourados, 27 de fevereiro de 2019.

Dr.^a Eliana Janet Sanjinez Argandoña

Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite

Dr. Marcelo Fossa da Paz

Dr. Fernando Freitas de Lima (participação remota)

Dr.^a Magda Freitas Fernandes

ATA HOMOLOGADA EM: ___/___/___, PELA PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA/UFGD.



Termo de Aprovação

Após apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora, foi emitido o parecer APROVADO, para a tese intitulada: "Entomofagia: elaboração de alimento proteico com adição de *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera, Tenebrionidae)", de autoria de Ariana Vieira Alves, apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Grande Dourados.

Prof.^a Dr.^a Eliana Janet Sarfinez Argandoña
Presidente da banca examinadora

Prof. Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite
Membro Examinador (UFGD)

Prof. Dr. Marcelo Fossa da Paz
Membro Examinador (UFGD)

Prof. Dr. Fernando Freitas de Lima - (Participação Remota)
Membro Examinador (UNICAMP)

Prof.^a Dr.^a Magda Freitas Fernandes
Membro Examinador (UFGD)

Dourados/MS, 27 de fevereiro de 2019.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

UFGD
Universidade Federal
da Grande Dourados

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: TECNOLOGIA AMBIENTAL
LINHA DE PESQUISA: POTENCIAL TECNOLÓGICO DE MATÉRIAS-PRIMAS E DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

**DECLARAÇÃO DE PARTICIPAÇÃO À DISTÂNCIA - SÍNCRONA - EM BANCA DE DEFESA DE
DOUTORADO/ UFGD**

As 14h do dia 27/02/2019, participei de forma síncrona com os demais membros que assinam a ata física deste ato público, da banca de Defesa da Tese de Doutorado do candidato **Ariana Vieira Alves**, do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental.

Considerando o trabalho avaliado, as arguições de todos os membros da banca e as respostas dadas pelo candidato, formalizo para fins de registro, por meio deste, minha decisão de que o candidato pode ser considerado: APROVADA.

Atenciosamente,

Ph.D. Fernando Freitas de Lima
INSTITUTO DE BIOLOGIA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

*Dedico este trabalho à minha
família, amo vocês!*



AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, a Profª Drª Eliana Janet Sanjinez-Argandoña, por ser uma pessoa admirável e acreditar em nosso trabalho. Obrigada pela motivação, paciência e dedicação constante.

À Profª Drª Mônica Maria Bueno de Moraes e ao Prof. Dr. Valter Vieira Alves Júnior, meus pais, pelo amor incondicional e por não medirem esforços para que eu chegasse até aqui. Agradeço em especial à minha mãe, com quem partilhei o broto daquilo que veio a ser este trabalho, sem seu carinho e seu apoio nada disso seria possível.

À Profª Drª Cláudia Andréa Lima Cardoso pelo apoio com as análises e prontidão em colaborar.

Aos professores e pesquisadores Drª Magda Freitas Fernandes, Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite, Dr. Marcelo Fossa da Paz e Dr. Fernando de Freitas Lima. É um prazer tê-los em minha banca examinadora.

A todos os amigos e colegas do GEPPAC pelos maravilhosos momentos de companheirismo, trabalho (duro) e diversão.

À minha família e a todos os amigos, que de alguma forma contribuíram para que este momento fosse possível, meu sincero agradecimento. À minha avó Everly por estar sempre presente em todas as etapas de minha vida e ao meu irmão Vinícius. Ao Jeferson pelo companheirismo e incentivo constante. Sem vocês nada disso faria sentido.

À FUNDECT pela bolsa concedida.

OBRIGADA!!

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAE	Aminoácidos essenciais
BCAA	Aminoácidos de cadeia ramificada
AGM	Ácido graxo monoinsaturado
AGPI	Ácido graxo poli-insaturado
AGS	Ácido graxo saturado
TM1	Larvas <i>Tenebrio molitor</i> de primeira geração
TM2	Larvas <i>Tenebrio molitor</i> de segunda geração
PN	Larvas <i>Pachymerus nucleorum</i>
F1	Dieta fornecida às larvas de primeira geração
F2	Dieta fornecida às larvas de segunda geração
BA	Barra alimentícia com adição de larvas <i>Tenebrio molitor</i>
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
HDL	High-density lipoprotein
ANVISA	Agência nacional de vigilância sanitária
UFGD	Universidade Federal da Grande Dourados

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Table 1. Amino acids composition of *Pachymerus nucleorum* (PN) and *Tenebrio molitor* (TM) larvae.....25

Table 2. Body weight gain, food/water intake and organ weight (g.100g-1 body weight) of female rats treated orally for 14 days in acute toxicity with the oil of *Tenebrio molitor* (TM) and *Pachymerus nucleorum* (PN).....27

Table 3. Body weight gain, food/water intake and organ weight (g.100g-1 body weight) of female rats treated orally for 28 days in subacute toxicity with the oil of *Tenebrio molitor* (TM) and *Pachymerus nucleorum* (PN).....29

Table 4. Biochemical and hematological parameters of female rats treated orally for 28 days in subacute toxicity with the oil of *Tenebrio molitor* (TM) and *Pachymerus nucleorum* (PN)3

Capítulo II

Tabela 1. Composição nutricional das larvas de *Tenebrio molitor* da primeira (TM1) e da segunda (TM2) geração e das dietas para cada geração.....46

Tabela 2. Composição de ácidos graxos dos óleos extraídos de larvas de *Tenebrio molitor* da primeira geração TM1 e da segunda geração TM2.....48

Tabela 3. Composição de aminoácidos de larvas de *Tenebrio molitor* da primeira geração TM1 e da segunda geração TM2.....49

Capítulo III

Tabela 1. Análises microbiológicas de barras alimentícias elaboradas com adição de larvas *Tenebrio molitor*.....64

Tabela 2. Valores dos atributos sensoriais de barras alimentícias com adição de larvas *Tenebrio molitor*.....66

Tabela 3. Composição nutricional da barra alimentícia com adição de larvas *Tenebrio molitor* (BA).....72

Tabela 4. Composição de ácidos graxos dos óleos extraídos da barra alimentícia de alto teor proteico com adição de larvas *Tenebrio molitor* (BA) e das larvas *T. molitor* (TM).....76

Tabela 5. Composição de aminoácidos de barra alimentícia com adição de larvas de *Tenebrio molitor* (BA).....78

LISTA DE QUADROS

Capítulo III

- Quadro 1.** Formulação padrão para elaboração de barra alimentícia com adição de larvas *Tenebrio molitor*.....58
- Quadro 2.** Matriz do planejamento experimental simplex-centroide da barra alimentícia com adição de insetos em função das larvas *Tenebrio molitor* desidratadas e trituradas (X1), dos flocos de aveia (X2) e dos flocos de arroz (X3).....59
- Quadro 3.** Ingredientes das sete formulações (F1, F2, F3, F4, F5 e F7) de barras alimentícias com adição de larvas *Tenebrio molitor*.....62

LISTA DE FIGURAS

Introdução geral

- Figura 1.** Camarão (A) e gafanhoto (B) in natura.....12
- Figura 2.** Ciclo de vida do *Tenebrio molitor*.....13
- Figura 3.** Larvas de *Tenebrio molitor* (Tenebrionidae) criadas em dietas artificiais com adição de bocaiuva.....14
- Figura 4.** Larvas de *Pachymerus nucleorum* (Chrysomelidae, Bruchinae) obtidas do coquinho de bocaiuva.....14
- Figura 5.** Avaliação toxicológica subcrônica. Exemplo de punção cardíaca em rato wistar para análise bioquímica.....15

Capítulo II

- Figura 1.** Ciclo de vida do *Tenebrio molitor*.....42
- Figura 2.** Fluxograma de separação das larvas em dois grupos: TM1 (1ª geração) e TM2 (2ª geração).....43

Capítulo III

- Figura 1.** Procedimento da análise sensorial das formulações de barra alimentícia com adição de larvas *T. molitor* (F1, F2, F3, F4, F5, F6 e F7).....61
- Figura 2.** Diagramas triangulares para aceitabilidade dos atributos sensoriais: aparência, aroma, cor, textura, gosto residual, doçura das barras alimentícias com adição de larvas *Tenebrio molitor*.....68
- Figura 3.** Diagrama triangular para aceitação global das barras alimentícias com adição de larvas *Tenebrio molitor*.....69
- Figura 4.** Intenção de compra das formulações de barras alimentícia com adição de larvas *Tenebrio molitor*.....71

RESUMO

Nas últimas décadas, a crescente preocupação em garantir a segurança alimentar motivou a exploração de novas fontes sustentáveis de proteína animal. Insetos como o besouro das farinhas *Tenebrio molitor* são candidatos promissores, pois são amplamente consumidos ao redor do mundo. A elaboração de produtos alimentícios que dinamizem a utilização de insetos comestíveis, especialmente larvas de *T. molitor*, pode contribuir para transpor a barreira do preconceito contra o uso desses insetos na alimentação. Diante disso, objetivou-se formular uma barra alimentícia de alto teor proteico com adição de larvas *T. molitor*, tornando-as altamente nutritivas e atraentes sensorialmente. Primeiramente, foram realizados testes toxicológicos (perfil crônico e subcrônico *in vivo*) dos óleos extraídos das larvas *T. molitor* e *Pachymerus nucleorum* para assegurar a elaboração do produto alimentício. Os óleos extraídos de larvas não apresentaram toxicidade nos modelos empregados *in vivo*. Em seguida, foi determinada a composição química das larvas *T. molitor* criadas em dietas distintas, a fim de possibilitar seu uso em estudos futuros, sem grandes interferências nutritivas. As larvas *T. molitor* foram divididas em dois grupos de criação distinta: as adquiridas em criadouro particular (TM1) e as descendentes das larvas adquiridas (TM2). A composição nutricional das larvas TM1 e TM2 demonstrou que não houve diferença significativa no percentual de concentração de seus nutrientes, exceto no teor proteico, 65,91% (TM1) e 50,65% (TM2). Na sequência foi realizado o desenvolvimento de barra alimentícia de alto teor proteico com adição de larvas de *T. molitor*. A análise sensorial permitiu selecionar a barra alimentícia mais aceita, elaborada com 20% de larvas *T. molitor* + 20% de flocos de arroz + 20% de flocos de aveia. Definiu-se 50g como o equivalente à uma porção de barra alimentícia por possuir 10,26g/porção de proteína, de acordo com o valor mínimo de estabelecido na legislação vigente. Esse estudo indica o potencial benéfico dos ácidos graxos e dos aminoácidos presentes no produto. Portanto, os resultados permitem classificar a barra alimentícia com adição de larvas *T. molitor* como alimento de alto teor proteico.

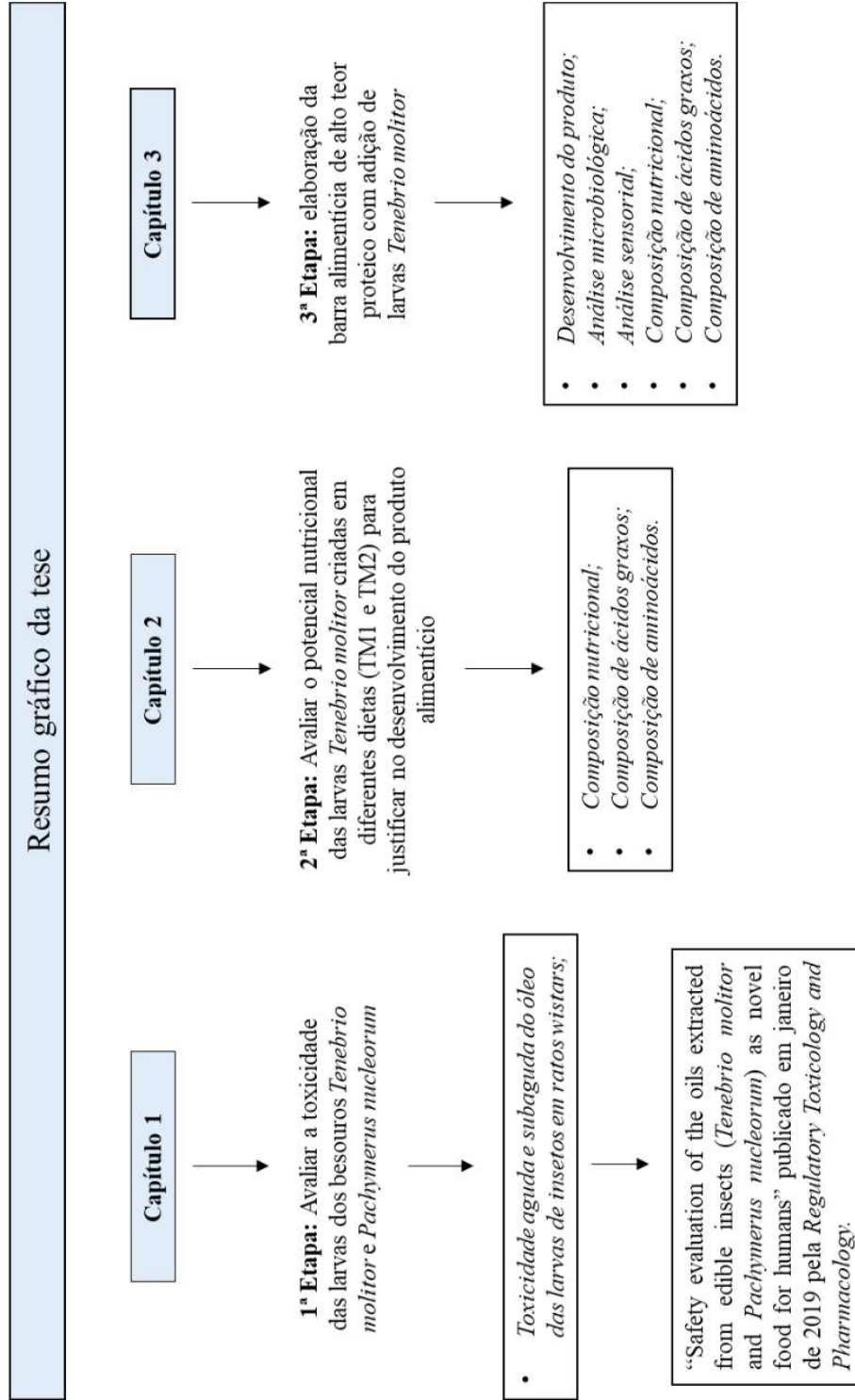
Palavras-chave: entomofagia, toxicidade aguda, toxicidade subaguda, dietas artificiais, aminoácidos essenciais, ácidos graxos essenciais.

ABSTRACT

In recent decades, growing concern about ensuring food security has motivated the exploration of new sustainable sources of animal protein. Insects like the beetle of *Tenebrio molitor* flours are promising candidates as they are widely consumed around the world. The elaboration of food products that stimulate the use of edible insects, especially *T. molitor* larvae, can contribute to overcome the prejudice barrier against the use of these insects in the feeding. In view of this, the objective was to formulate a high protein food bar with the addition of *T. molitor* larvae, making them highly nutritious and sensorially attractive. First, toxicological tests (chronic and subchronic in vivo profile) of oils extracted from larvae *T. molitor* and *Pachymerus nucleorum* were carried out to ensure the preparation of the food product. The oils extracted from larvae showed no toxicity in the models used in vivo. Then, the chemical composition of the *T. molitor* larvae was determined in different diets, in order to allow its use in future studies, without major nutrient interference. The *T. molitor* larvae were divided into two distinct breeding groups: those obtained in a private breeding (TM1) and the offspring of the acquired larvae (TM2). The nutritional composition of the TM1 and TM2 larvae showed that there was no significant difference in the nutrient concentration percentage, except for protein content, 65.91% (TM1) and 50.65% (TM2). The development of a high protein meal with the addition of *T. molitor* larvae was carried out. The sensorial analysis allowed to select the most accepted food bar, elaborated with 20% of *T. molitor* larvae + 20% of rice flakes + 20% of oat flakes. 50g was defined as the equivalent of a portion of the food bar for having 10.26g / portion of protein, according to the minimum value established in current legislation. This study indicates the beneficial potential of the fatty acids and amino acids present in the product. Therefore, the results allow to classify the food bar with addition of *T. molitor* larvae as high protein food.

Key words: entomophagy, acute toxicity, subacute toxicity, artificial diets, essential amino acids, essential fatty acids.

RESUMO GRÁFICO



SUMÁRIO

• Introdução geral	12
• Capítulo I	17
▪ Abstract.....	18
▪ Introduction.....	18
▪ Material and methods.....	19
▪ Material and Oil Extraction.....	19
▪ Amino acid composition.....	20
▪ Animals.....	21
▪ Acute Toxicity.....	21
▪ Subacute Toxicity.....	22
▪ Statistical Analysis.....	23
▪ Results and discussion.....	23
▪ Chemical composition.....	23
▪ Acute toxicology.....	26
▪ Subacute toxicology.....	28
▪ Conclusions	32
▪ References.....	32
• Capítulo II	40
▪ Resumo.....	41
▪ Introdução.....	41
▪ Material e métodos.....	42
▪ Material.....	42
▪ Composição nutricional.....	44
▪ Composição de ácidos graxos.....	44
▪ Composição de aminoácidos.....	45
▪ Resultados e discussão.....	45
▪ Composição nutricional.....	45
▪ Composição de ácidos graxos.....	47
▪ Composição de aminoácidos.....	49
▪ Conclusões.....	50
▪ Referências.....	50
• Capítulo III	53
▪ Resumo.....	54
▪ Introdução.....	54
▪ Material e métodos.....	56
▪ Composição nutricional.....	56
▪ Composição de ácidos graxos.....	57
▪ Composição de aminoácidos.....	59
▪ Delineamento experimental da barra alimentícia com adição de larvas <i>Tenebrio molitor</i>	58
▪ Análise microbiológica.....	59
▪ Atividade de água.....	60

▪	Análise sensorial.....	60
▪	Análise estatística.....	61
▪	Resultados e discussão.....	62
▪	Desenvolvimento das barras alimentícias com adição de larvas <i>Tenebrio molitor</i>	62
▪	Avaliação microbiológica e atividade de água das barras alimentícias com adição de larvas <i>Tenebrio molitor</i>	63
▪	Análise sensorial das barras alimentícias com adição de larvas <i>Tenebrio molitor</i>	66
▪	Composição nutricional da barra alimentícia com adição de larvas <i>Tenebrio molitor</i>	72
▪	Composição de ácidos graxos da melhor formulação de barra alimentícia com adição de larvas <i>Tenebrio molitor</i>	75
▪	Composição de aminoácidos da melhor formulação de barra alimentícia com adição de larvas <i>Tenebrio molitor</i>	77
▪	Conclusões.....	79
▪	Referências.....	79
•	Conclusão geral	86
•	Anexo 1	87
•	Anexo 2	88
•	Anexo 3	90

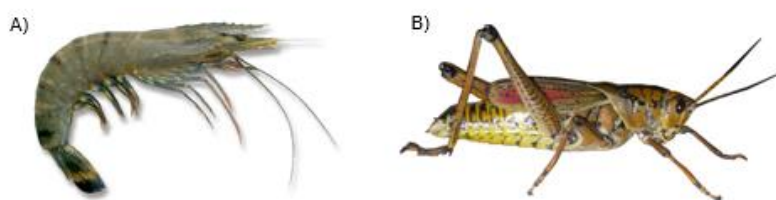
INTRODUÇÃO GERAL

A Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) publicou, após a Conferência Internacional sobre Florestas para Segurança Alimentar e Nutricional, um relatório que incentiva o consumo de insetos como forma de combater a fome e promover a segurança alimentar.

Apesar de desafiador, a introdução de novos itens alimentares na dieta humana encontra precedente; ou seja, impressões negativas sobre certos tipos de alimentos podem ser reconsideradas. Consumidores descobriram que certos queijos com cheiro e sabor fortes podem ser muito gostosos, e que o consumo de animais vivos (ostras) e carne crua (sashimi e carpaccio) é hoje um fato comum.

Parece bastante ilógico que a ingestão de invertebrados artrópodes como lagostas e camarões (que se alimentam de material em decomposição) seja considerada normal na alimentação; enquanto o consumo de insetos (alguns exclusivamente herbívoros) seja visto com preconceito. Na Figura 1 é possível observar as semelhanças anatômicas entre o camarão e o gafanhoto, ambos são visualmente repulsivos *in natura*. Porém, o consumo de camarão é culturalmente aceito, enquanto o consumo de insetos é visto com desprezo. Diante disso, a informação de que os insetos apresentam alto valor nutricional pode ser um dos gatilhos que permitam quebrar as barreiras do preconceito e possibilitar seu uso como fonte alimentícia.

Figura 1. Camarão (A) e gafanhoto (B) *in natura*.



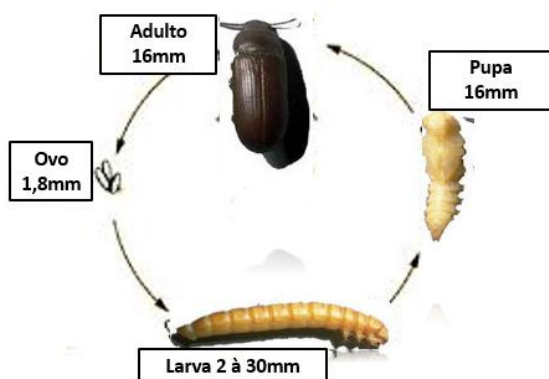
Fonte: Autor.

No Brasil, há registro de mais de 130 espécies de insetos comestíveis, divididos em nove ordens. A segunda ordem em número de espécies consumidas por humanos é a Coleoptera. Desta ordem, destaca-se *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Tenebrionidae), que é

28 um dos maiores besouros que infestam armazéns de produtos alimentícios, principalmente de
29 grãos (Figura 2).

30

31 **Figura 2.** Ciclo de vida do *Tenebrio molitor*.



32

33 Fonte: Autor.

34

35 Outro besouro comestível é o *Pachymerus nucleorum* Fabr. (Chrysomelidae,
36 Bruchinae) (Figura 4), comum em cocos de palmeiras de babaçu (*Attalea speciosa* Mart. ex
37 Spreng.), de piaçava (*Attalea funifera* Mart. ex Speg.), de licuri (*Syagrus coronata*
38 (Mart.)Becc.) e de bocaiuva (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.), cuja larva se
39 desenvolve dentro do coco se alimentando exclusivamente da amêndoa (COSTA-NETO,
40 2006).

41 O estudo da potencialidade do uso de insetos na alimentação humana iniciou-se com o
42 desenvolvimento do projeto de mestrado intitulado “Caracterização nutricional e nutracêutica
43 de larvas encontradas em frutos da bocaiuva visando aplicação alimentar”, que abriu uma área
44 interessante para nosso Grupo de Estudo de Produtos e Processos Agroindustriais do Cerrado
45 (GEPPAC), do ponto de vista nutricional e nutracêutico, relacionada à entomofagia.

46 Os resultados mostram que tanto as larvas *T. molitor* quanto as larvas *Pachymerus*
47 *nucleorum* são ótimas fontes de proteínas e de lipídios em comparação com alimentos
48 proteicos convencionais, podendo ser um recurso alimentício humano altamente nutritivo. A
49 dissertação gerou duas publicações intituladas “Food Value of Mealworm Grown
50 on *Acrocomia aculeata* Pulp Flour” (ALVES et al., 2016a) e “Chemical Composition and
51 Food Potential of *Pachymerus nucleorum* Larvae Parasitizing *Acrocomia aculeata* Kernels”
52 (ALVES et al., 2016b).

53 Isto posto, os resultados da primeira publicação (ALVES et al., 2016a) motivaram a
54 elaboração de um produto alimentício de alto valor proteico com adição de larvas de tenébrio.

55 Contudo, para viabilizar seu consumo foi necessário formular um produto com alta
56 aceitabilidade, assim, a elaboração de barras alimentícias proteicas pode ser um recurso
57 alimentício humano que facilita a inserção de ingredientes atípicos tornando-as altamente
58 nutritivas e possibilitando a aceitação, tanto para grupos vulneráveis quanto à desnutrição,
59 bem como, para esportistas ou pessoas interessadas em aumentar o consumo de proteínas.

60 Adicionalmente, foram realizados testes toxicológicos das larvas de *T. molitor* (Figura
61 3), e também de *P. nucleorum* (Figura 4), para assegurar a viabilizar a elaboração do produto
62 alimentício.

63

64 **Figura 3.** Larvas de *Tenebrio molitor* (Tenebrionidae) criadas em dietas artificiais com
65 adição de bocaiuva.



66

67 Fonte: Autor.

68

69 **Figura 4.** Larvas de *Pachymerus nucleorum* (Chrysomelidae, Bruchinae) obtidas do coquinho
70 de bocaiuva.



71

72 Fonte: Autor.

73

74 Do exposto, essa tese está apresentada em três capítulos. O primeiro capítulo foi
75 publicado pelo periódico *Regulatory Toxicology and Pharmacology* artigo foi publicado (doi:
76 10.1016/j.yrtph.2019.01.013) e refere-se ao perfil crônico e subcrônico *in vivo* dos óleos
77 extraídos das larvas de *T. molitor* e de *P. nucleorum* (Figura 5). Esse estudo foi aprovado pelo
78 Comitê de Ética Animal da UFGD (protocolo nº 10/2014). Com o objetivo de viabilizar um

79 produto alimentício com adição de larvas, optou-se por utilizar apenas o *T. molitor* devido a
80 possibilidade de criação em cativeiro e a alta taxa reprodutiva. Dessa maneira, o segundo
81 capítulo reporta a composição química das larvas *T. molitor* criadas em dietas diferentes, a
82 fim de possibilitar seu uso em estudos futuros, sem grandes interferências nutritivas. O
83 terceiro capítulo, por sua vez, estabelece as bases científicas e tecnológicas para elaboração e
84 viabilização de uma barra alimentícia de alto valor proteico com adição de larvas *T. molitor*.
85 Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa e Envolvendo Seres Humanos da
86 UFGD (parecer nº 1.956.699).

87

88 **Figura 5.** Avaliação toxicológica subcrônica. Exemplo de punção cardíaca em rato wistar
89 para análise bioquímica.



90

91

Fonte: Autor.

92

93 Finalmente, considerando que a aplicação de processos tecnológicos no
94 aproveitamento de matéria-prima proveniente de espécies nativas e resíduos agroindustriais,
95 bem como a produção de materiais que fazem uso de tecnologias ambientalmente mais aceitas
96 e processos com baixa demanda energética justificam o conhecimento da arte e o
97 desenvolvimento da tese. Dessa forma, espera-se como resultado produtos com alto valor
98 agregado e processos que propiciem a redução do impacto ambiental.

99

100 Acreditamos que o conhecimento gerado por esses três estudos colabore no incentivo
101 ao uso de larvas de insetos na alimentação, visando contribuir na garantia da segurança
102 alimentar, principalmente das populações indígenas da região. Além de agregar perspectivas
103 de produtos para o uso em suplementos proteicos ecologicamente corretos, com custo de
104 produção reduzido e agradável ao paladar, destinados a atletas e pessoas interessadas em
105 aumentar o consumo de proteínas.

105

106

OBJETIVOS

107

108

109 **Objetivo Geral**

110 O objetivo geral da Tese foi estabelecer bases científicas e tecnológicas para
111 elaboração e viabilização de produto alimentício de alto valor proteico com adição de
112 *Tenebrio molitor*.

113

114 **Objetivos Específicos**

- 115 • Criação de *T. molitor*, análise nutricional e avaliação da toxicidade das larvas;
- 116 • Desenvolvimento de um produto alimentício de alto valor proteico com adição de
117 larvas de *T. molitor*;
- 118 • Avaliação sensorial e microbiológica do produto alimentício;
- 119 • Avaliação da composição nutricional, de ácidos graxos e de aminoácidos da
120 melhor formulação do produto alimentício.

Capítulo I

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24

Safety evaluation of the oils extracted from edible insects (*Tenebrio molitor* and *Pachymerus nucleorum*) as novel food for humans

25 O artigo foi publicado (doi: 10.1016/j.yrtph.2019.01.013) janeiro de 2019 pelo
26 *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, periódico de Qualis A2 - Interdisciplinar (área
27 do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental-UFGD). A autora
28 detém o direito de publicá-lo na íntegra em sua tese (Anexo I).

29 **ABSTRACT**

30 Increased concerns about ensuring food safety motivated the exploration of insects as an
31 alternative protein source. It has been reported that *Tenebrio molitor* (TM) and
32 *Pachymerus nucleorum* (PN) larvae are great protein and lipid sources with considerable
33 concentrations of unsaturated fatty acids. Nevertheless, little attention has been given to
34 the safety of using these edible insects. This study presents the acute and subacute (28
35 days) toxicological profile of the oil extracted from TM and PN larvae. The TM and PN
36 larvae have all essential amino acids and the oils extracted from them fostered a
37 considerable reduction in cholesterol and glucose levels of the treated rats. The
38 experiments suggested that the TM and PN oils have low toxicity since it did not cause
39 any lethality as well as no changes in hematological parameters.

40 **Keywords:** Entomophagy; *Tenebrio molitor*; *Pachymerus nucleorum*; acute toxicity;
41 subchronic toxicity; amino acids.

42

43 **1. INTRODUCTION**

44 In the last decades, increased concerns about ensuring food safety motivated the
45 exploration of new sustainable protein sources (FAO, 2010a; Gahukar, 2011; Ingram,
46 2011). Insects such as *Tenebrio molitor* (TM) and *Pachymerus nucleorum* (PN) larvae
47 are promising candidates, since they are widely consumed all over the world (De Foliart,
48 2002; Jongema, 2012).

49 The TM is among the largest beetles that infest food products (grains) in
50 warehouses (Aguilar-Miranda, Lopez, Escamilla-Santana, & Barba de la Rosa, 2002) and
51 they are one of the most consumed specie of edible insects. The larva of the PN beetle
52 grows in the bocaiuva fruit (*Acrocomia aculeata*), which has proven nutritional
53 (Dessimoni-Pinto et al., 2010; Ramos et al., 2008; Sanjinez-Argandoña & Chuba, 2011)

54 and anti-inflammatory quality (Estevan et al., 2010; Lescano, Iwamoto, Sanjinez-
55 Argandoña, & Kassuya, 2015).

56 It has been reported that TM and PN larvae are great protein and lipid sources with
57 considerable concentrations of unsaturated fatty acids (Alves, Sanjinez-Argandoña,
58 Linzmeier, Cardoso, & Macedo, 2016; Alves, Sanjinez-Argandoña, Linzmeier, Cardoso,
59 & Macedo, 2016). Fatty acids are classified as saturated and unsaturated
60 (monounsaturated and polyunsaturated); the unsaturated have important functions in the
61 human body, for example, in maintaining the immune system in inflammatory processes
62 (FAO, 2010b).

63 Despite their high nutritional value, studies to determine the safe doses to consume
64 these edible insects are necessary. The toxicological profile of the oil extracted from the
65 TM and PN larvae has not been reported until now. The aim of the study was to identify
66 the toxicological profile of the oil extracted from the TM and PN larvae after a single oral
67 administration (acute toxicity) and 28 consecutive daily administrations (subacute
68 toxicity) in rats.

69

70 **2. MATERIAL AND METHODS**

71 **2.1. Material and Oil Extraction**

72 TM larvae were purchased from a private breeder (Atraki, São Paulo-SP, Brazil).
73 The second generation of larvae were grown in flour diet consisting of wheat and soybean.
74 After 90 days, the larvae were collected and frozen at -6 °C and stored at this temperature
75 until analysis time.

76 The bocaiuva (*Acrocomia aculeata*, Arecaceae) fruits were collected in Dourados,
77 MS, Brazil at State University of Mato Grosso do Sul campus with the permission of the
78 institution. These fruits are deposited in the Herbarium DDMS of the Federal University

79 of Grande Dourados—UFGD under the number 4783, PEREIRA, Z. V. The field studies
80 did not involve endangered or protected species. The fruits were taken to the laboratory
81 and opened to remove the PN larvae. The larvae were hygienized with Sumaveg 0,33%,
82 packed and stored in a freezer at -6 °C, keeping stored at this temperature until analysis
83 time. The PN identification was carried out by Dra. Cibele Stramare Ribeiro-Costa from
84 the Federal University of Paraná (UFPR), the Brazilian expert in the group.

85 The TM and PN larvae were previously dehydrated in an oven with air circulation
86 at 40 °C for 48 h. The extraction of the oil from TM and PN larvae were accomplished
87 by solid-liquid extraction with hydroethanolic solvent (20:80, v/v) at a ratio of one part
88 of dewatered larvae to 3 parts of solvent 1:3 (w/v) under continuous stirring (150 rpm)
89 for 3 days. The product was filtered and the solvent removed on a rotary evaporator under
90 reduced pressure at 50 °C. The oil obtained was then packaged in a Falcon 15 mL tubes
91 and stored at 9±2 °C. The tubes were protected from light and stored in a freezer at -20
92 °C for further use in toxicological analysis.

93

94 2.2. Amino acid composition

95 Frezze-dried TM and PN larvae were analyzed by HPLC (LC-6AD, Shimadzu,
96 Kyoto, Japan) system with a binary solvent a photodiode array detector (PDA) monitored
97 at $\lambda = 200-800$ nm. Amino acids in the samples were identified based on their absorption
98 spectra in the UV region and retention time in relation of standards (alanine, arginine,
99 aspartic acid, cysteine, glutamic acid, glycine, histidine, isoleucine, leucine, lysine,
100 methionine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tyrosine, and valine) (98-99%,
101 Sigma-Aldrich, USA). The content estimation of the amino acids in the samples was
102 performed by extern calibration. Tryptophan was determined by an alkaline hydrolysis in

103 anaerobic condition. The content estimation of the amino acids in the samples was
104 performed by external calibration.

105

106 2.3. **Animals**

107 For the experiments toxicity, 50 females (nulliparous and non-pregnant) *Wistar*
108 rats of 8 to 12 weeks weighing between 200 and 300 g were used. The animals were
109 supplied by the central animal house of Federal University of Grande Dourados (UFGD).
110 The animals were kept in polypropylene plastic cages in controlled environment (22 ± 2
111 °C), in light/dark cycles of 12 h and treated with standard feed and water *ad libitum*.

112 The project was previously submitted to the Ethics Committee on Animal
113 Research of the UFGD and approved under protocol number 10/2014. The experiments
114 were performed according to the norms that involve laboratory animal care and ethical
115 standards for their use in experiments of the Brazilian College of Animal Experimentation
116 (COBEA).

117

118 2.4. **Acute Toxicity**

119 The oil extracted from the TM and PN larvae was administered at a dose of 5000
120 mg./kg⁻¹, by gavage, to one female (OECD, 2008a) under an 8 h period of fasting.
121 Sequentially, at intervals of 48 h, the same dose was given to five adult female rats,
122 totaling six treated animals (group 5000 mg.kg⁻¹). A control group was treated with saline
123 in order to establish a comparative negative control group.

124 The animals were observed periodically during the first 24 h after the
125 administration of the oil and thereafter, daily for 14 days. The five parameters of the
126 hippocratic screening suggested by (Malone & Robichaud, 1962) were evaluated during
127 the experiment, as follows: conscious state, activity and coordination of motor system

128 and muscle, reflexes, activities on the central nervous system and activities on the
129 autonomic nervous system. The body weight, water and food intake were also recorded
130 daily (OECD, 2008a).

131 At the end of the observation period, all animals were euthanized by isoflurane
132 anesthesia (inhalation) followed by exsanguination. The organs (lung, spleen, liver,
133 kidney) were removed, weighed and examined macroscopically.

134

135 2.5. Subacute Toxicity

136 The animals were divided into five experimental groups (n = 6 females
137 animals/group). Two different doses of the oil extracted from the TM and PN larvae were
138 established according to the LD50 obtained in the acute toxicity test and respecting the
139 maximum daily dose of 1000 mg.kg⁻¹: TM group 125 mg.kg⁻¹; TM group 250 mg.kg⁻¹;
140 PN group 125 mg.kg⁻¹; PN group 250 mg.kg⁻¹. All doses of the oil were administered per
141 group by gavage, daily, for 28 consecutive days. The negative control group received
142 only the vehicle (saline).

143 During the treatment, body weight, water intake, food consumption, behavioral
144 parameters and possible signs of toxicity according to the hippocratic screening were
145 observed and recorded daily. Clinical examination was performed once a day,
146 individually and with the animal out of the cage. Blood samples were collected by cardiac
147 puncture immediately after euthanasia and taken for hematological and biochemical
148 analysis. The organs were removed, weighed and examined macroscopically.

149 The following biochemical parameters were analyzed: total bilirubin, total
150 cholesterol, triglycerides, glucose, electrolytes (sodium, potassium and calcium), liver
151 function markers (alanine aminotransferase - ALT, aspartate aminotransferase - AST,
152 gamma glutamyl transferase and alkaline phosphatase), renal (urea, creatinine and uric

153 acid) and protein profile (albumin and total protein) using Cobas C111 Plus sing
154 commercial kits (Roche). Hematological analysis measured total and differential
155 leukocyte counts, erythrocytes, platelets, levels of hemoglobin, hematocrit and red cell
156 distribution width, with the unit KX-21 (Sysmex).

157

158 **2.6. Statistical Analysis**

159 The results were expressed as mean \pm SEM. For the acute toxicity test, Student's
160 t-test was used to compare the two groups. For the subacute toxicity test, the differences
161 between groups were determined by analysis of variance (one-way ANOVA) followed
162 by Dunnett's test. P-values less than 0.05 were set as the level of significance.

163

164 **3. RESULTS AND DISCUSSION**

165 **3.1. Chemical composition**

166 To identify the constituents performing certain toxic activities, it's necessary to
167 know the chemical composition of natural products to be tested. As previously described
168 in detail (Alves et al., 2016), the main fatty acid found in the oil extracted from PN larvae
169 was the oleic acid (44.09%), followed by the acids lauric (33.87%), stearic (3.91%) and
170 linoleic (3.96%). The fraction corresponding to saturated fatty acids in the oil extracted
171 from larvae was 42.26% and 48.95% unsaturated. These results confirm the high content
172 of unsaturated fatty acids in both larvae oils, due mainly to the high content of oleic acid.

173 Polyunsaturated fatty acids from the omega-3 series (C18:3 and C20:5) and
174 omega-6 (C18:2) can act in preventing cardiovascular disease and cancer (Baker, Miles,
175 Burdge, Yaqoob, & Calder, 2016). The essential fatty acids are linoleic (18:2 n-6) and α -
176 linolenic (18:3 n-3), they are polyunsaturated and are not synthesized by the cells of

177 mammals, and therefore should be ingested in the diet (Bazinet & Layé, 2014). The oil
178 extracted from TM larvae showed satisfactory levels of linoleic (10.78%) and α -linolenic
179 (0.23%) (FAO 2010b). These fatty acids act as precursors for the synthesis of long chain
180 polyunsaturated fatty acids such as arachidonic acid, eicosapentaenoic and
181 docosahexaenoic acid. They are necessary to maintain, under normal conditions, cell
182 membranes, brain function and the nerve impulse transmissions (Bazinet & Layé, 2014;
183 Nakamura, Yudell, & Loor, 2014).

184 Proteins represent the main component of the nutrient composition of insects and
185 it has also been proved that edible insects may provide all indispensable amino acids
186 (Bednarova, Borkovcova, & Komprda, 2014; Rumpold & Schlüter, 2013). As far as the
187 nutritional value of insect's protein is concerned, the amino acids profile of PN and TM
188 was analyzed (Table 1).

189

190

191

192

193

194

195

196

197

198

199

200

201 **Table 1.** Amino acids composition of *Pachymerus nucleorum* (PN) and *Tenebrio molitor*
 202 (TM) larvae.

Amino acids (g.kg ⁻¹)	PN	TM	Amino acid requirement in human nutrition ^a
Aspartic acid	17.3	30.0	-
Glutamine	29.4	41.1	-
Serine	6.9	21.9	-
Glycine	15.7	20.7	-
Histidine	4.9	10.8	15.0
Arginine	13.3	22.1	-
Threonine	6.9	16.7	23.0
Alanine	2.2	33.7	-
Proline	7.4	15.8	-
Tyrosine	7.0	18.6	-
Valine	12.5	22.3	39.0
Methionine	5.0	5.1	16.0
Cysteine	1.1	0.9	6.0
Isoleucine	1.2	21.4	30.0
Leucine	12.0	22.1	59.0
Phenylalanine	8.4	14.8	-
Lysine	9.6	19.5	45.0
Tryptophan	3.1	3.7	6.0
Totals	195.4	341.2	-

203 ^aWHO, 2007

204

205 Amino acids are building blocks for proteins and must be present in cells for
 206 synthesis of polypeptides (WHO, 2007). Essential amino acids (EAA) are important for
 207 growth and maintenance of metabolic needs because they have carbon skeletons that
 208 cannot be synthesized by humans, therefore they must be included in diet to maintain
 209 physiological functions of cells, tissues, and the whole body. There are eleven EAA
 210 (cysteine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine,
 211 tryptophan, tyrosine, and valine) (Mota et al., 2016; Wu, 2014) and the results reported
 212 that PN and TM have all them. Furthermore, TM provided satisfactorily with the EAA
 213 requirement in human nutrition (HN) for tryptophan (HN = 6.0 g.kg⁻¹, TM = 3.7 g.kg⁻¹),

214 isoleucine (HN = 0.0 g.kg⁻¹, TM = 21.4 g.kg⁻¹), histidine (HN = 15.0 g.kg⁻¹, TM=10.8
215 g.kg⁻¹) and threonine (HN = 23.0 g.kg⁻¹, TM = 16.7 g.kg⁻¹) (Rumpold & Schluter, 2013).

216 Branched-chain amino acids (BCAAs) are essential amino acids that can be
217 oxidized in skeletal muscle (Hubble, Swanson, & Keenan, 2016; Newgard, 2016). There
218 are three BCAAs: leucine (LEU), isoleucine (ILE) and valine (VAL). The TM protein
219 content (50.07%) was higher than chicken breast (23%) (Alves et al., 2016). The total
220 content of BCAAs in TM was 65.8 g.kg⁻¹ (LEU = 22.1 g.kg⁻¹, ILE = 21.4 g.kg⁻¹; VAL =
221 22.3 g.kg⁻¹). The TM have potential as an alternative protein and BCAAs source for food
222 security and for use in protein supplements for athletes and people interested in increasing
223 protein intake.

224

225 3.2. Acute toxicology

226 After assessing acute toxicity, the dose of 5000 mg.kg⁻¹ of TM and PN oil did not
227 cause death or changes in the parameters evaluated when compared to the control group
228 (Table 2).

229

230

231

232

233

234

235

236

237

238 **Table 2.** Body weight gain, food/water intake and organ weight (g.100g⁻¹ body weight)
 239 of female rats treated orally for 14 days in acute toxicity with the oil of *Tenebrio molitor*
 240 (TM) and *Pachymerus nucleorum* (PN).

Acute toxicity			
Parameters	Control	TM 5000 mg.kg ⁻¹	PN 5000 mg.kg ⁻¹
Initial weight (g)	223.60 ± 18.13	228.50 ± 19.01	235.80 ± 17.61
Final weight (g)	189.80 ± 28.47	199.00 ± 17.52	211.70 ± 13.94
Body weight gain (%)	15.48 ± 6.62	14.92 ± 3.63	11.44 ± 4.42
Food intake (g/day)	123.90 ± 17.17	142.20 ± 14.37	138.70 ± 20.14
Water intake (mL/day)	252.30 ± 57.61	230.80 ± 41.12	215.40 ± 24.02
Organs (g.100g⁻¹)			
Liver	4.84 ± 0.47	4.93 ± 0.80	4.41 ± 0.13
Kidney (L)	0.43 ± 0.04	0.42 ± 0.05	0.41 ± 0.02
Kidney (R)	0.44 ± 0.04	0.44 ± 0.05	0.42 ± 0.02
Spleen	0.21 ± 0.03	0.21 ± 0.02	0.19 ± 0.03
Lung	0.56 ± 0.08	0.59 ± 0.07	0.58 ± 0.09

241 Values expressed in mean ± standard deviation. n = 8 animals / group for control and n =
 242 6 animals / group for TM and PN.

243

244 The animals exposed to the acute treatment did not present statistical alterations
 245 in weight gain, food consumption and water. In the macroscopic analysis and the relative
 246 weight of the organs there were also no changes that indicated toxicity. All the parameters
 247 of the Hippocratic screening in the experimental showed no behavioral changes.

248 Hippocratic screening is important for measuring acute clinical signs and
 249 establishing the lethal dose that can cause the death of 50% of the animals tested (LD50)
 250 or changes in behavior. Thus, it's possible to obtain parameters for future clinical toxicity
 251 tests with natural oils (Freitas de Lima et al., 2017; OECD, 2008a; Traesel et al., 2014).
 252 In this study, therefore, the LD50 of TM and PN is presumed to be above 5000 mg.kg⁻¹.
 253 These results proved to be similar to those found in other studies of toxicity of the oils
 254 extracted from Brazilian Cerrado fruits (Freitas de Lima et al., 2017; Traesel et al., 2014,
 255 2016).

256

257

258 3.3. **Subacute toxicology**

259 Following a single treatment with the extract in the acute toxicity study, no
260 observable signs of toxicity were observed. Subacute oral toxicity is crucial to
261 characterize dose-response studies after repeated administrations in 28 days (OECD,
262 2008b).

263 Daily oral administration of the TM and PN oils at doses of 125 mg.kg⁻¹ and 250
264 mg.kg⁻¹ for 28 days did not induce any obvious symptoms of toxicity and mortality in the
265 rats. The animals showed no changes in food and water consumption of the 125 mg.kg⁻¹
266 and 250 mg.kg⁻¹ doses (Table 3) and in body weight gain, the animals treated with 125
267 mg.kg⁻¹ showed some changes. The body weight gain is not particularly a sign of toxicity,
268 and signs of toxicity are more related mainly to the loss of body weight. The toxic signs
269 of weight loss are related to loss of appetite and absorption of nutrients, which was not
270 observed in our study (Raza, Al-Shabanah, El-Hadiyah, & Al-Majed, 2002; Sayyad et al.,
271 2017).

272

273

274

275

276

277

278

279

280

281

282

283 **Table 3.** Body weight gain, food/water intake and organ weight (g.100g⁻¹ body weight)
 284 of female rats treated orally for 28 days in subacute toxicity with the oil of
 285 *Tenebrio molitor* (TM) and *Pachymerus nucleorum* (PN).

Subacute toxicity					
Parameters	Control	TM 125 mg.kg ⁻¹	TM 250 mg.kg ⁻¹	PN 125 mg.kg ⁻¹	PN 250 mg.kg ⁻¹
Initial weight (g)	227.00 ± 11.53	153.70 ± 16.21*	181.70 ± 8.41*	150.00 ± 12.92*	150.70 ± 19.88*
Final weight (g)	267.30 ± 3.79	223.50 ± 15.11*	233.30 ± 13.81*	221.80 ± 15.43*	209.30 ± 10.73*
Body weight gain (%)	17.46 ± 6.34	30.23 ± 3.46*	22.37 ± 4.59	31.10 ± 2.88*	25.40 ± 6.36
Food intake (g/day)	130.90 ± 13.53	121.20 ± 7.69	117.20 ± 11.69	125.00 ± 11.66	122.20 ± 9.99
Water intake (mL/day)	193.70 ± 34.16	201.00 ± 0.85	220.00 ± 27.39	206.00 ± 13.42	203.00 ± 6.71
Organs (g.100g⁻¹)					
Liver	3.71 ± 0.25	3.84 ± 0.32	3.71 ± 0.27	3.98 ± 0.29	4.08 ± 0.36
Kidney	0.37 ± 0.01	0.38 ± 0.02	0.38 ± 0.04	0.38 ± 0.02	0.40 ± 0.03
Spleen	0.20 ± 0.02	0.21 ± 0.02	0.21 ± 0.02	0.22 ± 0.02	0.23 ± 0.03
Lung	0.57 ± 0.04	0.53 ± 0.05	0.59 ± 0.05	0.54 ± 0.05	0.58 ± 0.08
Ovary	0.02 ± 0.00	0.03 ± 0.00*	0.02 ± 0.00	0.03 ± 0.00*	0.03 ± 0.00*
Uterus	0.22 ± 0.04	0.20 ± 0.04	0.18 ± 0.08	0.18 ± 0.03	0.19 ± 0.03

286 Values expressed in mean ± standard deviation. n = 6 animals / group for subacute
 287 toxicity. * P <0.05 (ANOVA / Dunnett) compared with the control group.
 288

289 Another important parameter in the subacute toxicity studies is related to the
 290 relative weight of the organs (g.100g⁻¹). Being that possible physiological changes can
 291 lead to the change in weight, leading to overload of target organ function and
 292 inflammatory processes (Arsad, Hamzah, & Othman, 2013; Silva et al., 2016). However,
 293 the relative organ weight of the animals showed no changes and therefore, are not
 294 statistically different from the control group (Table 3).

295 In subacute tests, other important parameters such as biochemical and
 296 hematological are considered (Table 4). The biochemical parameters are used to identify
 297 possible toxic effects of the substance tested within the organism and in isolated organs,
 298 since the toxic effects may be systemic or occur in target. In addition, the hematopoietic
 299 system has been reported to be one of the most sensitive targets for toxic substances (Li
 300 et al., 2010).

301

302 **Table 4.** Biochemical and hematological parameters of female rats treated orally for 28
303 days in subacute toxicity with the oil of *Tenebrio molitor* (TM) and
304 *Pachymerus nucleorum* (PN).

Subacute toxicity						
Biochemical	Control	TM 125 mg.kg ⁻¹	TM 250 mg.kg ⁻¹	PN 125 mg.kg ⁻¹	PN 250 mg.kg ⁻¹	Reference values
Aspartate aminotransferase (U/L ⁻¹)	117.33 ± 13.50	104.43 ± 25.50	78.98 ± 5.40*	111.38 ± 9.11	109.58 ± 9.80	51-211 ^a
Alanine aminotransferase (U/L ⁻¹)	40.53 ± 2.06	40.68 ± 1.72	33.42 ± 1.60	38.70 ± 1.62	43.35 ± 1.78	--
Blood urea nitrogen (mg/dL ⁻¹)	48.67 ± 1.53	65.20 ± 2.78	49.17 ± 2.64	65.33 ± 3.93	49.50 ± 3.32	--
Creatinine (mg/dL ⁻¹)	0.70 ± 0.10	0.87 ± 0.19	0.78 ± 0.21	0.85 ± 0.14	0.78 ± 0.16	--
Sodium (mmol/dL ⁻¹)	152.98 ± 0.34	140.34 ± 0.63	139.87 ± 0.37	139.84 ± 0.47	139.88 ± 0.38	--
Potassium (mmol/dL ⁻¹)	9.64 ± 0.43	8.44 ± 0.28	7.44 ± 0.43	8.00 ± 0.45	9.84 ± 0.40	--
Chlorine (mmol/dL ⁻¹)	99.05 ± 0.18	111.01 ± 0.50	112.29 ± 0.55	110.60 ± 0.66	110.67 ± 0.63	--
Magnesium (mg/L ⁻¹)	2.88 ± 0.04	2.18 ± 0.18	2.54 ± 0.29	2.51 ± 0.08	2.70 ± 0.11	
Cholesterol (mg/dL ⁻¹)	132.67 ± 3.79	101.17 ± 4.83*	103.00 ± 5.29*	99.50 ± 3.39*	103.17 ± 4.83*	40-130 ^b
HDL (mg/dL ⁻¹)	36.67 ± 0.58	35.50 ± 1.64	38.00 ± 0.89	35.00 ± 1.41	26.83 ± 1.72	---
Triglycerides (mg/dL ⁻¹)	57.67 ± 3.51	69.67 ± 5.82	61.83 ± 3.76	66.33 ± 2.42	85.50 ± 5.17*	23-138 ^a
Glucose (mg/dL ⁻¹)	107.67 ± 4.95	61.95 ± 31.99*	66.92 ± 28.39*	60.12 ± 37.85*	71.65 ± 33.77*	53-172 ^a
pH	7.62 ± 0.11	7.40 ± 0.06	7.44 ± 0.11	7.46 ± 0.15	7.47 ± 0.16	--
Hematological						
Leukocytes (10 ³ /μL ⁻¹)	6.60 ± 1.44	6.22 ± 2.32	4.80 ± 0.84	5.28 ± 0.98	4.97 ± 1.76	--
Erythrocytes (10 ⁶ /μL ⁻¹)	7.88 ± 0.34	8.28 ± 0.26	7.94 ± 0.55	8.31 ± 0.49	8.03 ± 0.63	--
Hemoglobin (g/dL ⁻¹)	14.83 ± 0.76	15.47 ± 0.81	15.00 ± 0.93	15.48 ± 0.64	14.70 ± 0.78	--
Hematocrit (%)	45.77 ± 2.08	48.43 ± 2.26	46.47 ± 3.40	48.47 ± 2.48	45.20 ± 2.78	--
Segmented neutrophils (%)	28.00 ± 12.00	33.83 ± 8.98	30.50 ± 5.61	26.50 ± 7.66	27.67 ± 7.03	--
Band neutrophils (%)	1.33 ± 2.31	1.00 ± 2.00	0.50 ± 0.84	0.83 ± 1.33	0.67 ± 0.82	--
Lymphocytes (%)	66.33 ± 12.01	58.50 ± 8.41	63.50 ± 5.36	66.50 ± 7.50	69.33 ± 6.35	--
Monocytes (%)	3.00 ± 3.00	6.17 ± 5.38	4.50 ± 4.23	5.50 ± 3.73	1.83 ± 1.84	--
Eosinophils (%)	1.33 ± 1.15	0.50 ± 0.55	1.00 ± 0.89	0.67 ± 0.82	0.50 ± 0.55	--

305 Values expressed in mean ± standard deviation. n = 6 animals / group for subacute
306 toxicity. * P <0.05 (ANOVA / Dunnett) compared with the control group. ^a Lima et al.,
307 2014; ^b Harkness & Wagner, 1993.

308

309

310 Regarding the biochemical parameters, statistical changes were identified for
311 aspartame aminotransferase (TM group 250 mg.kg⁻¹), triglycerides (PN group 250 mg.kg⁻¹)
312 ¹) when compared to the control group, however they are among the reference values for
313 the specie (Lima et al., 2014). In particular, cholesterol and glucose presented statistical
314 differences in all doses tested (TM and PN groups, 125 mg.kg⁻¹ and 250 mg.kg⁻¹). The
315 differences observed may be correlated with the presence of polyunsaturated fatty acids,
316 such as ω-6 (linoleic acid) (Alves et al., 2016; WHO, 2008), considering that studies
317 indicate its contribution to the reduction of total cholesterol (Navarro, Fernández-
318 Quintela, Churruca, & Portillo, 2006). Therefore, these results proved to be similar to
319 Freitas de Lima et al. (2017), that also showed reduction of total cholesterol and glucose,
320 probably due to the amount of unsaturated fatty acids presents in the oil extracted from
321 *Attalea phalerata*, a Brazilian Cerrado fruit oil.

322 The control of biochemical parameters such as glucose, cholesterol and
323 triglycerides are of utmost importance as they are closely linked to chronic diseases such
324 as diabetes mellitus and hypertension (Navarro et al., 2006; Orsatti, & Dellalibera-
325 Joviliano, 2005; Scherbaum, 2017). The results for these parameters were satisfactory
326 since the glucose and cholesterol in female animals showed statistical reduction in all
327 doses tested of TM and PN oils. The animals showed a statistical increase in triglycerides
328 (PN group 250 mg/kg), since this change did not happen with rats treated with the other
329 dosages of the TM and PN oils, we suggest that this is not a dose-dependent effect.

330 Regarding the hematological values, the rats treated with TM and PN oils did not
331 showed statistical differences from the control group and all the values are within the
332 normal range for the species. These results suggest that the TM and PN oils can be
333 considered safe and presenting similar results to those found in previous toxicological

334 studies of the oil extracted from *Caryocar brasiliense* (Traesel et al., 2016) and *Attalea*
335 *phalerata* (Freitas de Lima et al., 2017).

336

337 **4. CONCLUSIONS**

338 This study is the first to present the toxicological profile and explains the low
339 toxicity of oil extracted from TM and PN larvae to validate and stimulate its use in
340 entomophagy. The TM and PN larvae have all essential amino acids and the oils extracted
341 from them fostered a considerable reduction in cholesterol and glucose levels of the
342 treated rats. Acute and subacute toxicology experiments suggested that the TM and PN
343 oils have low toxicity since it did not cause any lethality as well as no changes in
344 hematological parameters. The results ensure the use of doses tested and instigates the
345 scientific community to more specific studies, either in the development of food products
346 as a nutritional complement or with functional action.

347

348 **5. FUNDING SOURCES**

349 This work was supported by the Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do
350 Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) for the
351 scholarship assistance; the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e
352 Tecnológico (CNPq); the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
353 (CAPES); and the Federal University of Grande Dourados (UFGD).

354

355 **6. REFERENCES**

356 Aguilar-Miranda, E. D., Lopez, M. G., Escamilla-Santana, C., & Barba de la Rosa, A. P.
357 (2002). Characteristics of maize flour tortilla supplemented with ground *Tenebrio*
358 *molitor* larvae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(1), 192–195.

359 <https://doi.org/10.1021/jf010691y>

360 Alves, A. V., Sanjinez-Argandoña, E. J., Linzmeier, A. M., Cardoso, C. A. L., & Macedo,
361 M. L. R. (2016). Food value of mealworm grown on acrocomia aculeata pulp flour.
362 *PLoS ONE*, 11(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151275>

363 Alves, A. V., Sanjinez Argandoña, E. J., Linzmeier, A. M., Cardoso, C. A. L., & Macedo,
364 M. L. R. (2016). Chemical Composition and Food Potential of Pachymerus
365 nucleorum Larvae Parasitizing Acrocomia aculeata Kernels. *PloS One*, 11(3),
366 e0152125. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152125>

367 Arsad, S. S., Hamzah, N. M. E. H., & Othman, F. (2013). Evaluation of acute, subacute
368 and subacute oral toxicity of Rhabdophora decursiva (Roxb.) Schott extract in
369 male Sprague Dawley rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(41), 3030–
370 3040. <https://doi.org/10.5897/JMPR2013.2611>

371 Baker, E. J., Miles, E. A., Burdge, G. C., Yaqoob, P., & Calder, P. C. (2016). Metabolism
372 and functional effects of plant-derived omega-3 fatty acids in humans. *Progress in*
373 *Lipid Research*. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2016.07.002>

374 Bazinet, R. P., & Layé, S. (2014). Polyunsaturated fatty acids and their metabolites in
375 brain function and disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 15(12), 771–785.
376 <https://doi.org/10.1038/nrn3820>

377 Bednarova, M., Borkovcova, M., & Komprda, T. (2014). Purine derivate content and
378 amino acid profile in larval stages of three edible insects. *Journal of the Science of*
379 *Food and Agriculture*, 94(1), 71–76. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6198>

380 De Foliart, G. R. (2002). Western Research on Insects as Food and Animal Feedstuffs.
381 *The Human Use of Insects as a Food Resource: A Bibliographic Account in*
382 *Progress*, [online book].

383 Dessimoni-Pinto, N. A. V., Silva, V. M. da, Batista, A. G., Vieira, G., Souza, C. R. de,

384 Dumont, P. V., & Santos, G. K. M. dos. (2010). Características físico-químicas da
385 amêndoa de macaúba e seu aproveitamento na elaboração de barras de cereais
386 Physicochemical characteristics of the almond of “macaúba” and its use in the
387 preparation of cereal bars. *Alimentos E Nutrição Araraquara*, 21(1), 79–86.

388 Estevan, A. O., Silva, M. A., Arena, A. C., Sanjinez-Argandoña, E. J., Breda, C. A., &
389 Kassuya, C. A. L. (2010). Estudo do potencial antiinflamatório dos extratos de
390 *Acrocomia aculeata* no processo inflamatório agudo e crônico em modelos
391 experimentais. *Simpósio Brasil-Japão*.

392 FAO. (2010a). *Forest insects as food: humans bite back. Rap ...* <https://doi.org/ISBN>
393 978-92-5-106488-7

394 FAO. (2010b). Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation.
395 *Food and Nutrition Paper*, 91, 1–166.

396 Freitas de Lima, F., Traesel, G. K., Menegati, S. E. L. T., Santos, A. C. dos, Souza, R. I.
397 C., de Oliveira, V. S., ... Vieira, M. do C. (2017). Acute and subacute oral toxicity
398 assessment of the oil extracted from *Attalea phalerata* Mart ex Spreng. pulp fruit in
399 rats. *Food Research International*, 91, 11–17.
400 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.11.019>

401 Gahukar, R. T. (2011). Entomophagy and human food security. *International Journal of*
402 *Tropical Insect Science*, 31(3), 129–144.
403 <https://doi.org/10.1017/S1742758411000257>

404 Harkness J.E., & Wagner J., (1993). *Biologia e clínica de coelhos e roedores*. Ed. Roca,
405 São Paulo.

406 Hubble, K., Swanson, D., & Keenan, K. (2016). Measurement of branched chain amino
407 acids (BCAA) in milks and protein supplements. *The FASEB Journal*, 30(1
408 Supplement), 880–884.

409 Ingram, J. (2011). A food systems approach to researching food security and its
410 interactions with global environmental change. *Food Security*, 3(4), 417–431.
411 <https://doi.org/10.1007/s12571-011-0149-9>

412 Jongema, Y. (2012). List of edible insects of the world (April 4, 2012). *Wageningen*
413 *Wageningen University, Wageningen, the Netherlands.*

414 Lescano, C. H., Iwamoto, R. D., Sanjinez-Argandoña, E. J., & Kassuya, C. A. L. (2015).
415 Diuretic and Anti-Inflammatory Activities of the Microencapsulated *Acrocomia*
416 *aculeata* (Arecaceae) Oil on Wistar Rats. *Journal of Medicinal Food*, 18(6), 656–62.
417 <https://doi.org/10.1089/jmf.2014.0077>

418 Li, X., Luo, Y., Wang, L., Li, Y., Shi, Y., Cui, Y., & Xue, M. (2010). Acute and subacute
419 toxicity of ethanol extracts from *Salvia przewalskii* Maxim in rodents. *Journal of*
420 *Ethnopharmacology*, 131(1), 110–115. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.06.012>

421 Lima, C. M., Lima, A. K., Melo, M. G. D., Dória, G. A. A., Serafini, M. R., Albuquerque-
422 Júnior, R. L. C., & Araújo, A. A. S. (2014). Valores de referência hematológicos e
423 bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério
424 da Universidade Tiradentes. *Scientia Plena*, 10(3).

425 Malone, M. H., & Robichaud, R. C. (1962). A Hippocratic screen for pure or crude drug
426 materials. In *Lloydia* (Vol. 25, p. 320–+).

427 Mota, C., Santos, M., Mauro, R., Samman, N., Matos, A. S., Torres, D., & Castanheira,
428 I. (2016). Protein content and amino acids profile of pseudocereals. *Food Chemistry*,
429 193, 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.043>

430 Nakamura, M. T., Yudell, B. E., & Loor, J. J. (2014). Regulation of energy metabolism
431 by long-chain fatty acids. *Progress in Lipid Research*.
432 <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2013.12.001>

433 Navarro, V., Fernández-Quintela, A., Churrua, I., & Portillo, M. P. (2006). The body

434 fat-lowering effect of conjugated linoleic acid: a comparison between animal and
435 human studies. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 62(2), 137–147.
436 <https://doi.org/10.1007/BF03174074>

437 Newgard, C. (2016). Interactions of branched-chain amino acids and lipids in metabolic
438 disease. *The FASEB Journal*, 30(1 Supplement), 383.

439 OECD. (2008a). *Test No. 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure. OECD*
440 *Guidelines for the testing of chemicals*.

441 OECD. (2008b). *Test No. 407: Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents.*
442 *OECD Guidelines for the testing of chemicals*.
443 <https://doi.org/10.1787/9789264070684-en>

444 Orsatti, C. Dellalibera-Joviliano, R. (2005). Association of effect of triglycerides, total
445 cholesterol and glucose levels in subjects with Diabetes mellitus. *Revista EPeQ*
446 *Fafibe*, 1(2).

447 Ramos, M. I. L., Mendes, M., Filho, R., Hiane, P. A., Antonio, J., Neto, B., ... Siqueira,
448 A. (2008). Qualidade nutricional da polpa de bocaiúva *Acrocomia aculeata* (Jacq.)
449 Lodd. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*, 28, 90–94.
450 <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000500015>

451 Raza, M., Al-Shabanah, O. A., El-Hadiyah, T. M., & Al-Majed, A. A. (2002). Effect of
452 prolonged vigabatrin treatment on hematological and biochemical parameters in
453 plasma, liver and kidney of Swiss albino mice. *Scientia Pharmaceutica*, 70(2), 135–
454 145.

455 Rumpold, B. A., & Schlüter, O. K. (2013). Potential and challenges of insects as an
456 innovative source for food and feed production. *Innovative Food Science and*
457 *Emerging Technologies*, 17, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.11.005>

458 Sanjinez-Argandoña, E. J., & Chuba, C. A. M. (2011). Caracterização biométrica, física

459 e química de frutos da palmeira bocaiuva *Acrocomia aculeata* (Jacq) Lodd. *Revista*
460 *Brasileira de Fruticultura*, 33(3), 1023–1028. [https://doi.org/10.1590/S0100-](https://doi.org/10.1590/S0100-29452011000300040)
461 29452011000300040

462 Sayyad, M., Tiang, N., Kumari, Y., Goh, B. H., Jaiswal, Y., Rosli, R., ... Shaikh, M. F.
463 (2017). Acute toxicity profiling of the ethyl acetate fraction of *Swietenia*
464 *macrophylla* seeds and in-vitro neuroprotection studies. *Saudi Pharmaceutical*
465 *Journal*, 25(2), 196–205. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2016.05.002>

466 Scherbaum, W. A. (2017). Diabetes Update 2017. *Der Diabetologe*, 13(5), 302–312.
467 <https://doi.org/10.1007/s11428-017-0234-6>

468 Silva, A. H., Locatelli, C., Filippin-Monteiro, F. B., Martin, P., Liptrott, N. J., Zanetti-
469 Ramos, B. G., ... Creczynski-Pasa, T. B. (2016). Toxicity and inflammatory
470 response in Swiss albino mice after intraperitoneal and oral administration of
471 polyurethane nanoparticles. *Toxicology Letters*, 246, 17–27.
472 <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2016.01.018>

473 Traesel, G. K., de Souza, J. C., de Barros, A. L., Souza, M. A., Schmitz, W. O., Muzzi,
474 R. M., ... Arena, A. C. (2014). Acute and subacute (28 days) oral toxicity assessment
475 of the oil extracted from *Acrocomia aculeata* pulp in rats. *Food and Chemical*
476 *Toxicology*, 74, 320–325. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.10.026>

477 Traesel, G. K., Menegati, S. E. L. T., dos Santos, A. C., Carvalho Souza, R. I., Villas
478 Boas, G. R., Justi, P. N., ... Oesterreich, S. A. (2016). Oral acute and subchronic
479 toxicity studies of the oil extracted from pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.) pulp
480 in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 97, 224–231.
481 <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.09.018>

482 WHO. (2008). *Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation.*
483 *FAO food and nutrition paper* (Vol. 91). <https://doi.org/11953E/1/11.10>

- 484 WHO/FAO/UNU Expert Consultation. (2007). Protein and amino acid requirements in
485 human nutrition. *World Health Organization Technical Report Series*, (935), 1–265.
486 [https://doi.org/ISBN 92 4 120935 6](https://doi.org/ISBN%2092%204%20120935%206)
- 487 Wu, G. (2014). Dietary requirements of synthesizable amino acids by animals: a
488 paradigm shift in protein nutrition. *Journal of Animal Science and Biotechnology*,
489 5(1), 34. <https://doi.org/10.1186/2049-1891-5-34>

Capítulo II

1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12 **POTENCIAL NUTRICIONAL DE LARVAS DE *Tenebrio***
13 ***molitor* L. (COLEOPTERA, TENEBRIONIDAE) CRIADAS**
14 **EM DIETAS DISTINTAS**

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27 O manuscrito será submetido ao periódico *Interciencia* de Qualis B1 - Interdisciplinar
28 (área do *Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental-UFGD*).

29 **RESUMO**

30 A entomofagia é uma alternativa para atender a demanda mundial por fontes de
31 proteína animal. Dentre as espécies de insetos comestíveis destaca-se *Tenebrio molitor*,
32 cujas larvas são amplamente consumidas ao redor do mundo. O objetivo do estudo foi
33 determinar a composição química das larvas *T. molitor* criadas em dietas diferentes, a
34 fim de possibilitar seu uso em estudos futuros, sem grandes interferências nutritivas. As
35 larvas *T. molitor* foram divididas em dois grupos de criação distinta: as adquiridas em
36 criadouro particular (TM1) e as descendentes das larvas adquiridas (TM2). A
37 composição nutricional das larvas TM1 e TM2 e de suas respectivas dietas (F1 e F2)
38 demonstrou que não houve diferença significativa no percentual de concentração de seus
39 nutrientes, exceto no teor proteico, 65,91% (TM1) e 50,65% (TM2). As larvas TM1 e
40 TM2 não apresentaram diferença significativa em relação a composição de ácidos graxos
41 e de aminoácidos. Diante disso, constatou-se a viabilidade de substituição das larvas
42 TM2 pelas TM1 para uso em estudos futuros.

43 **Palavras-chave:** entomofagia, dietas artificiais, composição nutricional, aminoácidos,
44 ácidos graxos.

45

46 **1. INTRODUÇÃO**

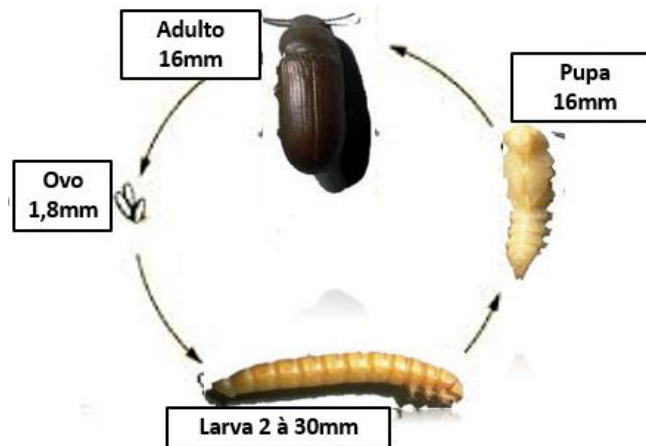
47 Nas últimas décadas, a crescente preocupação em garantir a segurança alimentar
48 motivou a exploração de novas fontes sustentáveis de proteína animal (FAO, 2010;
49 GAHUKAR, 2011; INGRAM, 2011). Insetos como o besouro das farinhas *Tenebrio*
50 *molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera, Tenebrionidae) são candidatos promissores, pois
51 são amplamente consumidos ao redor do mundo, principalmente na América Latina e na
52 Europa (DE FOLIART, 2002; JONGEMA, 2012).

53 *T. molitor* é um dos maiores besouros que infestam armazéns de produtos
54 alimentícios, principalmente de grãos. O ciclo de vida desse inseto é apresentado na
55 Figura 1. Os tenébrios começam a depositar seus ovos a partir de 4 a 17 dias após a
56 cópula. Uma única fêmea pode gerar em média 500 ovos. O desenvolvimento
57 embrionário dura de 4 a 6 dias, podendo ser acelerado com o leve aumento da
58 temperatura (25 a 27°C). O período larval é de aproximadamente 3 meses e é nesta fase
59 que o inseto é consumido; uma larva adulta pesa em média 0,2g e mede 25-35mm de

60 comprimento. Após este período a larva se transforma em pupa, cujo estágio dura 5 a 6
61 dias dando origem ao indivíduo adulto (GHALY & ALKOAİK, 2009; SPANG, 2013)

62

63 **Figura 1.** Ciclo de vida do *Tenebrio molitor*.



64

65

Fonte: Autor.

66

67 Há uma gama de valores reportados para a composição nutricional das larvas *T.*
68 *molitor* (BEDNÁŘOVÁ et al., 2013). As larvas *T. molitor* são uma das fontes
69 alimentares que apresentam maiores quantidades de proteínas (47,76 a 53,13%) e
70 lipídios (27,25 a 38,26%) (BOVERA et al., 2015; ALVES et al., 2016). Porém, faltam
71 métodos padronizados para a criação de insetos ou para sua alimentação, de modo que
72 a variabilidade nutricional seja diminuída (LONGVAH et al. 2011).

73

74 Do exposto, o objetivo do estudo foi determinar a composição química das
75 larvas *T. molitor* criadas em dietas diferentes, a fim de possibilitar seu uso em estudos
76 futuros, sem grandes interferências nutricionais.

76

77 **2. MATERIAL E MÉTODOS**

78 **2.1. Material**

79

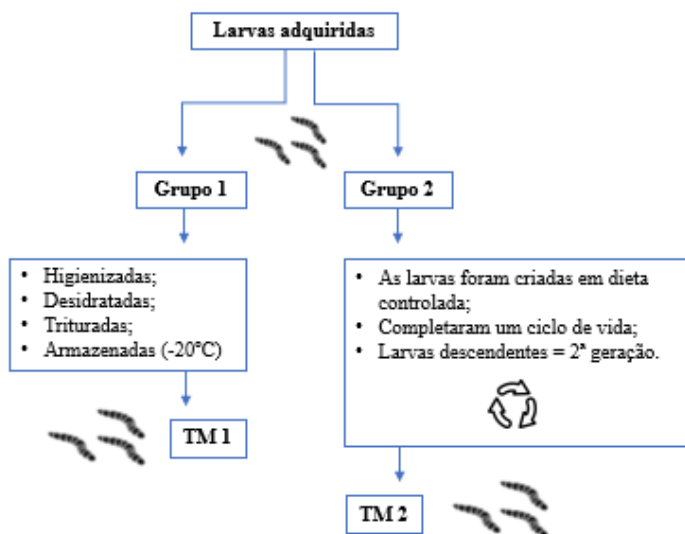
80 Larvas de *Tenebrio molitor* foram adquiridas em criadouro particular (Atraki)
81 situado em São Paulo-SP. Elas foram divididas em dois grupos: TM1, que representam
as larvas adquiridas, denominadas matrizes; e TM2, as larvas descendentes das larvas

82 matrizes. Essas larvas foram criadas em dieta e ambiente controlados mantidas em
83 temperatura de 25°C, com umidade relativa do ar de 80% e restrição de luminosidade
84 (24h a 0Klux) até completar um ciclo de vida (Fig. 1) e originar a 2ª geração de larvas
85 (TM2) conforme mostra a Figura 2, esse período teve duração de quatro meses.

86 A dieta fornecida para as larvas TM1 no criadouro particular (dieta D1), foi
87 constituída de: farelo de aveia, ração para pássaros, leite em pó, farelo de trigo e cálcio
88 (a proporção dos ingredientes não foi revelada). A dieta fornecida para as larvas TM2
89 criadas em laboratório (dieta D2), foi composta por: 50% farelo de trigo e 50% farelo de
90 aveia. A hidratação fornecida às larvas foi através de cortes finos de maçã, conforme
91 recomendação do criadouro.

92

93 **Figura 2.** Fluxograma de separação das larvas em dois grupos: TM1 (matriz) e TM2
94 (descendente).



95

96

Fonte: Autor.

97

98 O grupo TM1 (larvas matrizes), foram higienizadas e desidratadas em estufa
99 com circulação de ar a 45°C durante 48 horas. Depois disso, foram trituradas e
100 armazenadas a -20°C até realização das análises. As larvas do grupo TM2 foram
101 mantidas em temperatura de 25°C, com umidade relativa do ar de 80% e restrição de

102 luminosidade (24h a 0Klux) até completar um ciclo de vida (Fig. 1) e originar a 2ª
103 geração de larvas (TM2).

104

105 **2.2. Composição nutricional**

106 A composição nutricional de larvas TM1 e TM2 e de suas respectivas dietas, D1
107 e D2 foi realizada quantificando-se a umidade, em estufa com circulação de ar (nº
108 950.46B), resíduo mineral fixo por incineração (nº 950.46B), proteínas pelo método de
109 Kjeldahl (nº 981.10), lipídios pelo método de Soxhlet (nº 960.39) de acordo com
110 métodos preconizados na AOAC(2003) e fibra alimentar pelo método enzimático-
111 gravimétrico (AOAC, 2005). O teor de carboidratos foi calculado por diferença de 100
112 frente ao somatório dos teores de umidade, resíduo mineral fixo, proteínas e lipídios. O
113 valor energético foi calculado pela soma das calorías fornecidas dos constituintes
114 energéticos, exceto os carboidratos não digeríveis. Foram utilizados os fatores de
115 conversão de Atwater de 4kcal/g para proteínas e carboidratos e 9kcal/g para lipídios
116 (ATWATER, 1896).

117

118 **2.3. Composição de ácidos graxos**

119 Inicialmente foi extraído o óleo das larvas de *T. molitor* (TM1 e TM2) de acordo
120 com o método de Bligh & Dyer (BLIGH e DYER, 1959). Logo, a composição em
121 ácidos graxos foi determinada por cromatografia gasosa, utilizando-se cromatógrafo a
122 gás com detector de ionização de chama. Para a eluição foi empregada uma coluna
123 capilar de sílica fundida de 100 m x 0,25 mm x 0,20 µm. A temperatura do forno foi
124 programada para iniciar em 100° C e foi mantida assim por 1 minuto, quando foi
125 elevada a 170°C a 6,5°C/minuto. Posteriormente, outra elevação de 170°C a 215°C foi
126 realizada a 2,75°C/minuto e a temperatura foi mantida por 12 minutos. Finalmente, uma
127 última elevação foi realizada de 215°C para 230°C a 40°C/minuto. As temperaturas do
128 injetor e detector foram de 270°C e 280°C, respectivamente. As amostras de 0,5 µL
129 foram injetadas em modo split, utilizando-se nitrogênio como gás carreador a uma
130 velocidade de arraste de 1 mL/min. A identificação dos ésteres metílicos de ácidos
131 graxos foi realizada por comparação com os tempos de retenção dos compostos da

132 amostra com os padrões (Sigma-Aldrich, USA) eluídos nas mesmas condições das
133 amostras.

134

135 **2.4. Composição de aminoácidos**

136 Os aminoácidos das larvas TM1 e TM2 foram analisados conforme Torres et al.
137 (2018) em um sistema analítico de HPLC Shimadzu LC-6AD, com um solvente binário,
138 um detector de arranjo de diodos (DAD) monitorado em $\lambda = 200-800$ nm. A coluna
139 empregada foi C18 Luna Thermo Electron Corporation (15 cm de comprimento x 4,6
140 mm diâmetro interno x 5 μm tamanho de partícula). Todas as análises cromatográficas
141 foram realizadas a 18°C. A eluição foi realizada utilizando fase móvel aquosa A,
142 consistindo em uma mistura de 0,025 mol l⁻¹ de ácido acético ajustada para pH 6 com
143 hidróxido de sódio 0,1 mol l⁻¹ e a fase móvel B, consistindo de acetonitrila. A
144 programação de eluição empregada foi descrita por Torres et al. 2018 com volume
145 injetado de 20 μl . A identificação dos aminoácidos foi realizada comparando os tempos
146 de retenção e os espectros dos padrões dos aminoácidos na faixa de 200 a 800 nm com
147 os picos obtidos em amostras reais. A quantificação das amostras foram realizadas
148 utilizando as curvas analíticas feitas para cada aminoácidos (> 98%, Sigma-Aldrich).

149

150 **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

151 **3.1. Composição nutricional**

152 A composição nutricional das larvas de *Tenebrio molitor* TM1 e TM2 e das
153 dietas D1 e D2 está apresentada na Tabela 1.

154

155

156

157

158

159 **Tabela 1.** Composição nutricional das larvas de *Tenebrio molitor* da primeira (TM1) e
 160 da segunda (TM2) geração e das dietas para cada geração.

Constituintes	Larvas <i>T. molitor</i>		Dietas	
	TM1	TM2	D1	D2
Umidade* (g/100g)	53,99 ± 0,53 ^b	61,10 ± 0,40 ^a	14,38 ± 1,00 ^c	9,53 ± 0,10 ^d
Proteínas (g/100g)	65,91 ± 0,70 ^a	50,65 ± 0,37 ^b	21,45 ± 0,56 ^d	31,64 ± 0,82 ^c
Lipídios (g/100g)	37,36 ± 0,38 ^a	38,51 ± 0,86 ^a	14,46 ± 0,77 ^b	17,29 ± 1,08 ^b
Minerais (g/100g)	4,89 ± 0,67 ^a	4,60 ± 0,11 ^a	2,83 ± 0,30 ^b	2,58 ± 0,23 ^b
Carboidratos	Fibras (g/100g)	17,49 ± 1,05 ^a	19,75 ± 1,08 ^a	4,35 ± 1,11 ^b
	Amido (g/100g)	-	-	56,91
Valor energético (kcal)	599,90	549,15	530,15	555,62

161 (TM1): larvas matrizes *T. molitor*; (TM2): larvas descendentes *T. molitor*; (D1): dieta fornecida
 162 à primeira geração; (D2): dieta fornecida à segunda geração. Em g/100g de base seca.
 163 *Umidade em base úmida. Letras diferentes na mesma linha variam significativamente entre si
 164 ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

165

166 O percentual de lipídios das larvas foi de 37,36% (TM1) e 38,51% (TM2), não
 167 foi observada diferença significativa ($P > 0,05$) entre as larvas adquiridas (TM1) e as
 168 obtidas em laboratório (TM2). Os lipídios são importantes na dieta, pois são vitais no
 169 funcionamento biológico e estrutural das células e auxiliam no transporte de vitaminas
 170 lipossolúveis, essenciais para a nutrição do organismo (FAO, 2010). Energicamente, são
 171 importantes porque produzem 9kcal/g quando oxidados no organismo. Esta importante
 172 fonte energética para os seres humanos contribui, em alguns países, com 30-40% do
 173 total de energia consumida na alimentação (ARANCETA e PÉREZ-RODRIGO, 2012;
 174 FAO, 2010).

175 O teor de proteínas das larvas foi de 65,91% (TM1) e 50,65% (TM2) (Tabela 1),
 176 semelhante ao encontrado em larvas criadas em dietas constituídas apenas de soja e
 177 trigo (ALVES et al., 2016). Porém, nota-se que há uma gama de valores reportados de
 178 proteína total em larvas *T. molitor*, variando de 49,8% a 76,14% (BOVERA et al.,
 179 2015). Outros autores relacionam essa variação, na composição nutricional, ao fato de
 180 que ainda não foram consolidados métodos padronizados para a criação de insetos ou
 181 para sua alimentação (BEDNÁŘOVÁ et al., 2014). Contudo, é considerado que a
 182 digestibilidade das proteínas de insetos é comparável com as de carnes convencionais,
 183 aproximadamente 90% (BEDNÁŘOVÁ et al., 2014). Ou seja, o uso de insetos na

184 indústria alimentícia pode constituir um ingrediente de alta qualidade proteica para um
185 produto alimentício de alto teor proteico.

186 Considerando-se as necessidades diárias de um indivíduo adulto em relação aos
187 minerais (2,8g), proteínas (60g), lipídios (65g) e fibras (30g) (DUTRA DE OLIVEIRA
188 e MARCHINI, 2008), 30g de larvas atenderiam, respectivamente, 51%, 23%, 19% e
189 13% desses nutrientes.

190 Outra importante contribuição das larvas TM é o alto teor de fibras (17,41%)
191 (Tabela 1). Este estudo demonstra que as larvas TM são fontes de fibras, visto que a
192 quantidade apresentada é maior que 6,0g/100g, conforme estabelece a Portaria nº
193 27/1998 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 1998). O consumo de
194 alimentos ricos em fibras está associado com a redução de risco cardiovascular, redução
195 de níveis glicêmicos e lipídicos associados à diminuição de hiperinsulinemia, além de
196 acarretar menores riscos para o desenvolvimento da obesidade (MONTEIRO et al.,
197 2016).

198 Quanto ao valor energético, 100g da larva TM fornecem 599,90 kcal em relação
199 à mesma quantidade de carne bovina (358 kcal), soja (404 kcal) e frango (196 kcal)
200 (Tabela 1). O valor energético dessa quantidade de larvas representa aproximadamente
201 um terço do valor energético diário a ser consumido por um adulto (DUTRA DE
202 OLIVEIRA e MARCHINI, 2008) e pode complementar o a necessidade energética na
203 dieta humana.

204

205 **3.2. Composição de ácidos graxos**

206 A composição de ácidos graxos dos óleos extraídos das larvas TM1 e TM2 é
207 apresentada na Tabela 2. Os resultados sugerem que as dietas (D1 e D2) não
208 influenciaram o perfil de ácidos graxos obtidos, pois não houve diferença significativa
209 ($P>0,05$) entre os percentuais apresentados.

210

211

212

213 **Tabela 2.** Composição de ácidos graxos dos óleos extraídos de larvas de *Tenebrio*
 214 *molitor* matriz TM1 e das descendentes TM2.

Ácidos graxos	TM 1 (%)	TM 2 (%)
Laurico (C12:0)	0,04 ± 0,01 ^a	0,04 ± 0,01 ^a
Mirístico (C14:0)	2,03 ± 0,06 ^a	2,21 ± 0,05 ^a
Palmítico (C16:0)	17,02 ± 0,02 ^a	16,73 ± 0,04 ^a
Palmitoleico (C16:1)	0,45 ± 0,01 ^a	0,44 ± 0,01 ^a
Estearíco (C18:0)	3,94 ± 0,08 ^a	4,03 ± 0,06 ^a
Oleico (C18:1)	38,97 ± 0,13 ^a	39,19 ± 0,28 ^a
Linoleico (C18:2)	33,58 ± 0,07 ^a	33,33 ± 0,29 ^a
α-linoleico (C18:3)	3,94 ± 0,07 ^a	3,97 ± 0,04 ^a
Araquídico (C20)	0,02 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,01 ^a
∑ AGS	23,05	23,03
∑ AGM	39,42	39,63
∑ AGPI	37,52	37,30

215 (TM1): larvas *T. molitor* matriz; (TM2): larvas *T. molitor* descendentes.
 216 AGS = ácidos graxos saturados; AGM = ácidos graxos monoinsaturados;
 217 AGPI- ácidos graxos poli-insaturados. Resultados expressos com ±
 218 desvio padrão, n = 3. Letras diferentes na mesma linha variam
 219 significativamente entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

220

221 Semelhante aos resultados descritos por Paul et al. (2017) para larvas *T. molitor*,
 222 os ácidos graxos encontrados em maior abundância nos óleos extraídos das larvas TM1
 223 e TM2 foram o ácido oleico (38,97% e 39,19%), seguido do ácido linoleico (33,58% e
 224 33,33%) (Tabela 2).

225 Os ácidos graxos essenciais são poli-insaturados e não são sintetizados pelas
 226 células dos mamíferos e, portanto, têm que ser ingeridos na alimentação. Os ácidos
 227 graxos essenciais presentes nas larvas são o linoleico (ômega-6) e o α-linolênico
 228 (ômega-3) (FAO, 2010). Esses ácidos graxos atuam como precursores para a síntese de
 229 ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa que são necessários para manter, sob
 230 condições normais, as membranas celulares, as funções cerebrais e a transmissão de
 231 impulsos nervosos (JEON, 2016).

232 Os ácidos graxos poli-insaturados das séries ômega-3 (C18:3 e C20:5) e ômega-
 233 6 (C18:2) apresentam principais efeitos na prevenção de doenças cardiovasculares e
 234 câncer (INOCENTTI et al., 2014). A alta concentração de ácidos graxos no óleo afeta

235 sua atividade antioxidante, que é altamente desejada na dieta humana (INOCENTTI et
236 al., 2014).

237

238 **3.3. Composição de aminoácidos**

239 Considerando o alto valor proteico dos insetos, foi analisado o perfil de
240 aminoácidos das larvas TM1 e TM2. A composição de aminoácidos das larvas TM1 e
241 TM2 é apresentada na Tabela 3. Não houve diferença significativa entre os percentuais
242 de aminoácidos das larvas TM1 e TM2. Em sua maioria, os insetos comestíveis podem
243 fornecer boa quantidade de aminoácidos essenciais à nutrição humana (BEDNAROVA et
244 al., 2014; RUMPOLD e SCHLÜTER, 2013).

245

246 **Tabela 3.** Composição de aminoácidos de larvas de *Tenebrio molitor* da primeira
247 geração TM1 e da segunda geração TM2.

Aminoácidos	TM1 (g/100g)	TM2 (g/100g)
Serina	1.07 ± 0.03 ^a	1.05 ± 0.04 ^a
Treonina	1.02 ± 0.04 ^a	1.00 ± 0.03 ^a
Arginina	1.07 ± 0.03 ^a	1.05 ± 0.05 ^a
Alanina	1.33 ± 0.04 ^a	1.45 ± 0.06 ^a
Prolina	-	-
Valina	0.53 ± 0.01 ^a	0.49 ± 0.01 ^a
Metionina	0.19 ± 0.01 ^a	0.21 ± 0.01 ^a
Cisteína	-	-
Isoleucina	-	-
Triptofano	0.37 ± 0.01 ^a	0.40 ± 0.01 ^a

248 (TM1): larvas *T. molitor* da primeira geração/adquiridas; (TM2): larvas *T. molitor* da segunda
249 geração. Resultados expressos com ± desvio padrão, n = 3. Letras diferentes na mesma linha
250 variam significativamente entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

251

252 Os aminoácidos são as unidades formadoras das proteínas e precisam estar
253 presentes nas células para a síntese de polipeptídeos (Wu, 2013). Os aminoácidos
254 essenciais (AAE) são importantes para o desenvolvimento e a manutenção das
255 necessidades metabólicas, pois possuem esqueletos carbônicos que o corpo humano é
256 incapaz de produzir. Sendo assim, precisam ser incluídos na dieta para manter as
257 funções fisiológicas das células, tecidos e do corpo como um todo. Existem onze AAE

258 cisteína, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina,
259 triptofano, tirosina e valina (MOTA et al., 2016; WU, 2014).

260 Dos aminoácidos essenciais as larvas TM1 e TM2 podem fornecer seis: valina,
261 treonina, triptofano, cisteína, isoleucina e metionina. Ainda, considerando que a
262 ingestão diária recomendada de triptofano é de 0,6g/100g (FAO, 2013), ambas as larvas
263 atendem a aproximadamente 65% da IDR de triptofano (0,37 e 0,40 g/100g). Esse AEE
264 é fundamental na síntese da serotonina, metabólito que atua principalmente na
265 regulação do sono (O'MAHONY et al., 2015).

266

267 **4. CONCLUSÕES**

268 A composição nutricional das larvas *Tenebrio molitor* matriz (TM1) e das
269 descendentes (TM2) e de suas respectivas dietas (D1 e D2) demonstrou que não houve
270 diferença significativa no percentual de concentração de seus nutrientes, exceto no teor
271 proteico, cujas larvas TM1 (65,91%) apresentaram valores significativamente maiores
272 que as larvas TM2 (50,65%). Da mesma forma, as larvas TM1 e TM2 não apresentaram
273 diferença significava em relação a composição de ácidos graxos e de aminoácidos.
274 Diante disso, contatou-se a viabilidade de substituição das larvas TM2 pelas TM1 para
275 uso em estudos futuros.

276

277 **5. REFERÊNCIAS**

278 ALVES, A. V., SANJINEZ-ARGANDOÑA, E. J., LINZMEIER, A. M., CARDOSO,
279 C. A. L., & MACEDO, M. L. R. (2016a). Food value of mealworm grown on
280 acrocomia aculeata pulp flour. *PLoS ONE*, *11*(3).
281 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151275>

282 AOAC International. Official methods of analysis of AOAC International. 2003; 17.

283 AOAC International. Official methods of analysis of AOAC International. 2005; 18.

284 ARANCETA J, PÉREZ-RODRIGO C. Recommended dietary reference intakes,
285 nutritional goals and dietary guidelines for fat and fatty acids: a systematic review.
286 *British Journal of Nutrition*. 2012; 107: 8–22.

287 ATWATER WO, WOODS CD. The chemical composition of american food materials.
288 Farmers' Bulletin. 1896; 28.

289 BEDNAROVA, M., BORKOVCOVA, M., & KOMPRDA, T. (2014). Purine derivate
290 content and amino acid profile in larval stages of three edible insects. *Journal of the*
291 *Science of Food and Agriculture*, 94(1), 71–76. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6198>

292 BLIGH EG, DYER WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification.
293 Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. 1959; 37: 911–917. PMID:
294 13671378 29.

295 BOVERA F, PICCOLO G, GASCO L, MARONO S, LOPONTE R, VASSALOTTI G,
296 MASTELLONE V, LOMBARDI P, ATTIA YA, NIZZA A. Yellow mealworms larvae
297 (*Tenebrio molitor*, L.) as possible alternative to soybean meal in growing broiler diet.
298 British Poultry Science. 2015; 56: 569-575.

299 DE FOLIART, G. R. (2002). *The human use of insects as a food resource: a*
300 *bibliographic account in progress*. University of Wisconsin.

301 FAO. (2010a). Forest insects as food: humans bite back. Rap <https://doi.org/ISBN>
302 978-92-5-106488-7

303 FAO. Dietary protein quality evaluation in human nutrition. *In Report of an FAO Expert*
304 *Consultation*, (pp. 27). Auckland, New Zealand.: Food and Agriculture Organization of
305 the United Nations. 2013.

306 GAHUKAR, R. T. (2011). Entomophagy and human food security. *International*
307 *Journal of Tropical Insect Science*, 31(3), 129–144.
308 <https://doi.org/10.1017/S1742758411000257>

309 GHALY, A.E., ALKOAİK, F.N. (2009). The yellow mealworm as a novel source of
310 protein. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 4, 319-331.

311 INGRAM, J. (2011). A food systems approach to researching food security and its
312 interactions with global environmental change. *Food Security*, 3(4), 417–431.
313 <https://doi.org/10.1007/s12571-011-0149-9>

314 INNOCENTI A, FRANZONI F, PRUNETI C. The Role of Nutrients in a Dietary 426
315 Intervention in Improving Blood Cholesterol Profile and Lowering Cardiovascular Risk.
316 *Journal of Basic & Applied Sciences*. 2014; 10: 96–101.

317 JEON Y.-H., SON Y.-J., KIM S.-H., YUN E.-Y., KANG H.-J., HWANG I.-K..
318 Physiochemical properties and oxidative stabilities of mealworm (*Tenebrio molitor*) oils
319 under different roasting conditions. *Food Science and Biotechnology*, 25, pp. 105-110.
320 2016.

321 JONGEMA, Y. (2012). List of edible insects of the world (April 4, 2012). *Wageningen*
322 *Wageningen University, Wageningen, the Netherlands*.

323 LONGVAH T, MANGTHYA K, RAMULU P. Nutrient composition and protein
324 quality evaluation of eri silkworm (*Samia ricinii*) prepupae and pupae. *Food Chemistry*.
325 2011; 128: 400–403. doi: 10.1016/j.foodchem. 2011.03.041 PMID: 25212147

326 MOTA, C., SANTOS, M., MAURO, R., SAMMAN, N., MATOS, A. S., TORRES, D.,
327 & CASTANHEIRA, I. (2016). Protein content and amino acids profile of
328 pseudocereals. *Food Chemistry*, 193, 55–61.
329 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.043>

330 O’MAHONY, S. M., CLARKE, G., BORRE, Y. E., DINAN, T. G., & CRYAN, J. F.
331 Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis. *Behavioural*
332 *brain research*, 277, 32-48. 2015.

333 PAUL, AMAN et al. Insect fatty acids: A comparison of lipids from three Orthopterans
334 and *Tenebrio molitor* L. larvae. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, v. 20, n. 2, p. 337-
335 340, 2017.

336 RUMPOLD, B. A., & SCHLÜTER, O. K. (2013). Potential and challenges of insects as
337 an innovative source for food and feed production. *Innovative Food Science and*
338 *Emerging Technologies*, 17, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.11.005>

339 SHOCKLEY M, DOSSEY AT. Insects for Human Consumption. In: Morales-Ramos
340 JA, Rojas MG, Shapiro-Ilan DI. Mass Production of Beneficial Organisms. Academic
341 Press, 1 ed. 2013. pp. 764.

342 SPANG, B. (2013). Insects as food: assessing the food conversion efficiency of the
343 mealworm (*Tenebrio molitor*). Environmental study master thesis: The Evergreen State
344 College.

345 WU, G. (2013). *Amino acids: biochemistry and nutrition*. CRC Press.

346 WU, G. (2014). Dietary requirements of synthesizable amino acids by animals: a
347 paradigm shift in protein nutrition. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 5(1),
348 34. <https://doi.org/10.1186/2049-1891-5-34>

349 YEHUDA S, RABINOVITZ S, CARASSO RL, MOSTOFSKY DI. The role of
350 polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. *Neurobiology*
351 *Aging*. 2002; 23: 843–53.

Capítulo III

1

2

3

4

5

6

7

8

9

10 **DESENVOLVIMENTO DE BARRA ALIMENTÍCIA DE**
11 **ALTO TEOR PROTEICO COM ADIÇÃO DE LARVAS DE**
12 ***Tenebrio molitor* L. (COLEOPTERA, TENEBRIONIDAE)**

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24 O manuscrito será submetido ao periódico *Food Quality and Preference* de Qualis A1 -
25 Interdisciplinar (área do *Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia*
26 *Ambiental-UFGD*).

27 **Resumo**

28 A elaboração de produtos alimentícios que dinamizem a utilização de insetos
29 comestíveis, especialmente larvas de *Tenebrio molitor*, pode contribuir para transpor a
30 barreira do preconceito contra o uso desses insetos na alimentação. Diante disso,
31 objetivou-se o desenvolvimento de barra alimentícia de alto teor proteico com adição de
32 larvas de *Tenebrio molitor*, destinada a pessoas interessadas em aumentar o consumo de
33 proteínas. Foi utilizado o delineamento experimental simplex-centroide para três
34 componentes variáveis (larvas *T. molitor*, flocos de arroz e flocos de aveia) resultando
35 em sete formulações. Os resultados negativos das análises microbiológicas mostraram
36 que as barras analisadas atenderam às determinações legais. A análise sensorial permitiu
37 selecionar a barra alimentícia mais aceita, elaborada com 20% de larvas *T. molitor* +
38 20% de flocos de arroz + 20% de flocos de aveia. Esse estudo indica o potencial
39 benéfico dos lipídios e das proteínas presentes no produto. De modo geral, essa
40 formulação atendeu aos requisitos que permitem enquadrá-la como barra alimentícia de
41 alto teor proteico, apresentando bom perfil de aminoácidos. Portanto, os resultados
42 permitem classificar a barra alimentícia com adição de larvas *T. molitor* como alimento
43 de alto teor proteico.

44

45

46 **Palavras-chave:** entomofagia, alimento proteico, aminoácidos essenciais, ácidos graxos
47 essenciais.

48

49

50 **1. Introdução**

51 Nas últimas décadas, a crescente preocupação em garantir a segurança alimentar
52 motivou a exploração de novas fontes sustentáveis de proteína animal (FAO, 2010;
53 GAHUKAR, 2011; INGRAM, 2011). É crescente o incentivo ao consumo de insetos
54 como forma de combater a fome e promover a segurança alimentar, por estes serem
55 fonte de proteínas de boa qualidade nutricional para humanos (VAN HUIS et al., 2015).

56 Insetos como o *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera, Tenebrionidae)
57 são candidatos promissores, pois são amplamente consumidos ao redor do mundo,
58 principalmente na América Latina e na Europa (JONGEMA, 2012; EFSA, 2015). Em
59 países como Holanda e China, esses insetos são utilizados como ingredientes *gourmets*
60 e como alternativa à proteína da carne (JEON et al, 2016).

61 *Tenebrio molitor* é uma das espécies de insetos comestíveis que apresentam
62 maiores quantidades de proteínas (47,76 a 53,13%) e lipídios (27,25 a 38,26%)
63 (BOVERA et al., 2015; ALVES et al., 2016). Portanto, o aporte nutritivo desses insetos
64 pode contribuir para a segurança alimentar.

65 Porém, um dos maiores desafios da entomofagia é tornar os insetos comestíveis
66 apetitosos (LOOY et al., 2014). A elaboração de produtos alimentícios que dinamizem a
67 utilização de insetos comestíveis, especialmente larvas de *Tenebrio molitor*, é uma
68 alternativa que pode contribuir para transpor a barreira do preconceito contra o uso
69 desses insetos na alimentação, tornando seu consumo sensorialmente atrativo e prático.

70 Atualmente, há uma maior conscientização quanto à saúde e a alimentação é
71 considerada indicador essencial de qualidade de vida (PEREIRA et al, 2015;
72 GIACALONE et al, 2016). O segmento de alimentos saudáveis cresceu 98% nos
73 últimos cinco anos no Brasil, superando o Reino Unido e a Alemanha, tornando o Brasil
74 o quarto maior mercado para produtos saudáveis desde o ano de 2014 (DATAMARK,
75 2015). Nesse contexto, a indústria alimentícia enfrenta uma competição acirrada no
76 mercado com o desafio de desenvolver alimentos com alegação de benefícios à saúde e
77 explora as mais variadas dimensões dos produtos com foco nas propriedades funcionais
78 inerentes ou construídas para certos alimentos (BRASIL, 2008; MACIEL, 2012).

79 Diante desse mercado, crescente demanda por alimentos saudáveis, impulsionou
80 o desenvolvimento de barras alimentícias como alternativa saudável de fácil acesso ao
81 consumidor (SUN-WATERHOUSE et al., 2010; PECHMANN e CATLIN, 2016). No
82 mercado, o produto é oferecido em três tipos: as barras alimentícias que contêm uma
83 combinação proporcional de carboidratos, proteínas e gorduras, as que contêm muitos
84 carboidratos e poucas gorduras, e as que enfatizam as proteínas. As barras de alto teor
85 proteico (ou, simplesmente, barras de proteínas), foram originalmente desenvolvidas
86 para atletas e competidores, mas hoje são formuladas e vendidas a uma ampla gama de

87 consumidores, frequentemente como suplementos esportivos (BANACH, 2012; SILVA
88 et al., 2016).

89 Suplementos proteicos produzidos à base de insetos enfrentam uma barreira de
90 aceitabilidade relativamente baixa, pois visam consumidores com consciência
91 nutricional e ambiental, e a origem da proteína não é visivelmente ou palatalmente
92 distinguível, como por exemplo, a substituição da soja em pó por inseto em pó não
93 altera a aparência, sabor ou textura do produto (SHOCKLEY e DOSSEY, 2013; ZHAO,
94 et al, 2015). O uso de insetos na indústria alimentícia pode constituir um ingrediente de
95 alta qualidade proteica para um suplemento proteico de elevado padrão.

96 Do exposto, objetivou-se o desenvolvimento de barra alimentícia de alto teor
97 proteico com adição de larvas de *Tenebrio molitor*, destinada a pessoas interessadas em
98 aumentar o consumo de proteínas.

99

100 **2. Material e métodos**

101 **2.1. Material**

102 Larvas de *Tenebrio molitor* foram adquiridas em criadouro particular (Atraki)
103 situado em São Paulo-SP. Após higienização, as larvas foram desidratadas em estufa
104 com circulação de ar a 45°C durante 48 horas. Depois disso, foram trituradas e
105 armazenadas a -20°C até realização das análises.

106 Os frutos de baru (*Dipteryx alata* Vog.) foram coletados durante o mês de
107 setembro de 2016 em Dourados-MS. Após higienização foram separadas as amêndoas,
108 que foram desidratadas, em estufa com circulação de ar a 45°C durante 48 horas,
109 trituradas e armazenadas a -20°C até elaboração das barras.

110 Os demais ingredientes utilizados na elaboração das formulações das barras:
111 flocos de arroz, farelo de aveia, pasta de amendoim, banana, açúcar e ácido cítrico,
112 foram adquiridos no mercado local.

113

114 **2.2. Composição nutricional**

115 Foram realizadas análises de umidade em estufa com circulação de ar (n°
116 950.46B) minerais por incineração (n° 950.46B), proteínas pelo método de Kjeldahl (n°
117 981.10), lipídios pelo método de Soxhlet (n° 960.39) (AOAC, 2003) e fibra alimentar
118 pelo método enzimático-gravimétrico (AOAC, 2005). Os carboidratos foram calculados
119 por diferença. O valor energético foi calculado pela soma das calorias fornecidas dos
120 constituintes energéticos, exceto os carboidratos não digeríveis. Foram utilizados os
121 fatores de conversão de *Atwater* de 4kcal/g para proteínas e carboidratos e 9kcal/g para
122 lipídios (ATWATER, 1896).

123

124 **2.3. Composição de ácidos graxos**

125 Inicialmente foi extraído o óleo das barras alimentícias de acordo com o método
126 de Bligh & Dyer (BLIGH e DYER, 1959). Logo, a composição em ácidos graxos foi
127 determinada por cromatografia gasosa, utilizando-se cromatógrafo a gás com detector
128 de ionização de chama. Para a eluição foi empregada uma coluna capilar de sílica
129 fundida de 100 m x 0,25 mm x 0,20 µm. A temperatura do forno foi programada para
130 iniciar em 100°C e foi mantida assim por 1 minuto, quando foi elevada a 170°C a
131 6,5°C/minuto. Posteriormente, outra elevação de 170°C a 215°C foi realizada a
132 2,75°C/minuto e a temperatura foi mantida por 12 minutos. Finalmente, uma última
133 elevação foi realizada de 215°C para 230°C a 40°C/minuto. As temperaturas do injetor e
134 detector foram de 270°C e 280°C, respectivamente. As amostras de 0,5 µL foram
135 injetadas em modo *split*, utilizando-se nitrogênio como gás carreador a uma velocidade
136 de arraste de 1 mL/min. A identificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi
137 realizada por comparação com os tempos de retenção dos compostos da amostra com os
138 padrões (Sigma-Aldrich, USA) eluídos nas mesmas condições das amostras.

139

140 **2.4. Composição de aminoácidos**

141 Os aminoácidos foram analisados conforme Torres et al. (2018) em um sistema
142 analítico de HPLC Shimadzu LC-6AD, com um solvente binário, um detector de
143 arranjo de díodos (DAD) monitorado em $\lambda = 200-800$ nm. A coluna empregada foi C18

144 Luna Thermo Electron Corporation (15 cm de comprimento x 4,6 mm diâmetro interno
145 x 5 µm tamanho de partícula). Todas as análises cromatográficas foram realizadas a
146 18°C. A eluição foi realizada utilizando fase móvel aquosa A, consistindo em uma
147 mistura de 0,025 mol l⁻¹ de ácido acético ajustada para pH 6 com hidróxido de sódio
148 0,1 mol l⁻¹ e a fase móvel B, consistindo de acetonitrila. A programação de eluição
149 empregada foi descrita por Torres et al. 2018 com volume injetado de 20 µl. A
150 identificação dos aminoácidos foi realizada comparando os tempos de retenção e os
151 espectros dos padrões dos aminoácidos na faixa de 200 a 800 nm com os picos obtidos
152 em amostras reais. A quantificação das amostras foram realizadas utilizando as curvas
153 analíticas feitas para cada aminoácidos (> 98, Sigma-Aldrich).

154

155 **2.5. Delineamento experimental da barra** 156 **alimentícia com adição de larvas *Tenebrio molitor***

157 Decorrente dos ensaios preliminares, os quais buscaram a combinação mais
158 adequada dos ingredientes para obtenção de uma barra com boa consistência, foi obtida
159 a formulação padrão da barra de cereais (Quadro 1).

160

161 **Quadro 1.** Formulação padrão para elaboração de barra alimentícia com adição de
162 larvas *Tenebrio molitor*.

Ingredientes	Quantidade (%)
Flocos de arroz	30,00
Flocos de aveia	30,00
Amêndoa de baru	5,90
Ligante*	34,05
Ácido cítrico	0,05

163 *Ligante: elaborado com manteiga de amendoim (60%), banana (35%) e açúcar (5%). Fonte: A autora
164 (2019).

165

166 Os flocos de arroz e de aveia constituem 60% dos ingredientes totais, nessa
167 porção foram adicionadas as larvas TM. Dessa maneira, as barras alimentícias das sete
168 formulações (Quadro 2) foram elaborada a partir de ingredientes secos (65,95%) e
169 ligante (34,05%). Os ingredientes secos foram: flocos de arroz, flocos de aveia e larvas

170 TM, que representam 60% dos ingredientes totais, e ainda, amêndoa de baru (5,9%) e
171 ácido cítrico (0,05%). A mistura de manteiga de amendoim (60%), banana (35%) e
172 açúcar (5%) foi empregada como ingrediente ligante.

173 Os três componentes: flocos de arroz, flocos de aveia e larvas TM foram
174 considerados como variáveis a serem manipulada nos ensaios experimentais.
175 Conseqüentemente, foi utilizado o delineamento experimental simplex-centroide para
176 três componentes a fim de avaliar os efeitos individuais e binários das larvas TM, dos
177 flocos de arroz e dos flocos de aveia na avaliação sensorial (Quadro 2).

178

179 **Quadro 2.** Matriz do planejamento experimental simplex-centroide da barra alimentícia
180 com adição de insetos em função das larvas *Tenebrio molitor* desidratadas e trituradas
181 (X₁), dos flocos de aveia (X₂) e dos flocos de arroz (X₃).

Ensaio	Dados codificados			Dados reais		
	X1	X2	X3	TM (%)	AV (%)	FA (%)
F1 (TM)	1	0	0	40	10	10
F2 (AV)	0	1	0	10	40	10
F3 (FA)	0	0	1	10	10	40
F4 (TM+AV)	0,5	0,5	0	25	25	10
F5 (TM+FA)	0,5	0	0,5	25	10	25
F6 (AV+FA)	0	0,5	0,5	10	25	25
F7 (TM+AV+FA)	0,3	0,3	0,3	20	20	20

182 A maior concentração de cada componente representa 40% da formulação total da barra alimentícia.
183 TM: larvas *Tenebrio molitor*; AV: flocos de aveia; FA: flocos de arroz. Fonte: A autora (2019).

184

185 A maior concentração de cada componente representa 40% da formulação total
186 da barra alimentícia. Todas as formulações apresentam adição de larvas TM em
187 diferentes proporções, conforme definido pelo delineamento.

188

189 **2.6. Desenvolvimento das barras alimentícias com** 190 **adição de larvas *Tenebrio molitor***

191 As barras alimentícias com adição de larvas *T. molitor* foram elaboradas no
192 laboratório do Grupo de Estudos em Produtos e Processos Agroindustriais do Cerrado
193 (LABGEPPAC) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

194 Foram produzidas sete formulações de barra alimentícia com adição de larvas de
195 tenebrios, a concentração dos ingredientes de cada formulação seguiu o planejamento
196 simplex-centroide (Quadro 2). Os ingredientes de cada formulação de barra alimentícia
197 são apresentados no Quadro 3).

198

199 **Quadro 3.** Ingredientes das sete formulações (F1, F2, F3, F4, F5 e F7) de barras
200 alimentícias com adição de larvas *Tenebrio molitor*.

Ingredientes	Formulação de barra alimentícia						
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7
TM	40	10	10	25	25	10	20
FA	10	10	40	10	25	25	20
AV	10	40	10	25	10	25	20
Amêndoa	5,90	5,90	5,90	5,90	5,90	5,90	5,90
Ligante*	34,05	34,05	34,05	34,05	34,05	34,05	34,05
Ác. cítrico	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05

201 *Variáveis independentes. **Ligante: elaborado previamente com pasta de amendoim (60%), banana
202 (35%) e açúcar (5%). TM: larvas *Tenebrio molitor*. FA: flocos de arroz. AV: flocos de aveia. Fonte:
203 Autor (2019).

204

205 O processo de elaboração de barras alimentícias consistiu em quatro etapas: a)
206 pesagem e mistura dos ingredientes secos, b) preparo da mistura ligante, c)
207 homogeneização dos ingredientes secos com o ligante, d) formação das barras
208 alimentícias.

209 Para a produção da mistura ligante utilizou-se purê de banana (35%), açúcar
210 (5%) e pasta de amendoim (60%). O purê de banana foi obtido pela cocção (90°C) da
211 fruta madura amassada com o açúcar, até atingir o ponto de liga. Em seguida foi
212 adicionada a pasta de amendoim e misturada até obtenção de uma massa homogênea.

213 A mistura ligante foi adicionada ainda quente aos ingredientes secos,
214 previamente misturados, de maneira lenta e contínua em temperatura ambiente. Após a
215 homogeneização dos ingredientes foi realizada a laminação para formação das barras
216 alimentícias.

217 A massa laminada foi transferida para uma forma de alumínio forrada com filme
218 plástico, onde foi levemente prensada com espátula de polietileno até a espessura de 1,0
219 cm; com posterior corte de 3,0 x 3,0 cm. Logo, procedeu-se a secagem da massa em
220 estufa com circulação de ar a 40°C durante 4h. As barras alimentícias foram embaladas
221 em papel alumínio e armazenadas a -6°C até o momento do uso.

222

223 **2.7. Análise microbiológica**

224 As análises de coliformes totais e termotolerantes à 45°C, pesquisa de
225 *Salmonella* sp em 25 g e de Estafilococos coagulase positiva foram realizadas segundo
226 a RDC nº 12 que regulamenta os Padrões Microbiológicos para Alimentos (BRASIL,
227 2001). As análises microbiológicas seguiram os procedimentos descritos pela American
228 Public Health Association (APHA, 2001).

229

230 **2.8. Atividade de água**

231 A atividade de água das amostras foi medida em higrômetro Aqualab CX-2T
232 (Decagon Devices Inc., USA) previamente calibrado com soluções saturadas de cloreto
233 de sódio (a_w de 0,753), cloreto de potássio (a_w de 0,843) e água deionizada (a_w de
234 1,000). Foram consideradas as leituras com desvios de $\pm 0,003$. Todas as determinações
235 foram feitas em triplicata a 25°C.

236

237 **2.9. Análise sensorial**

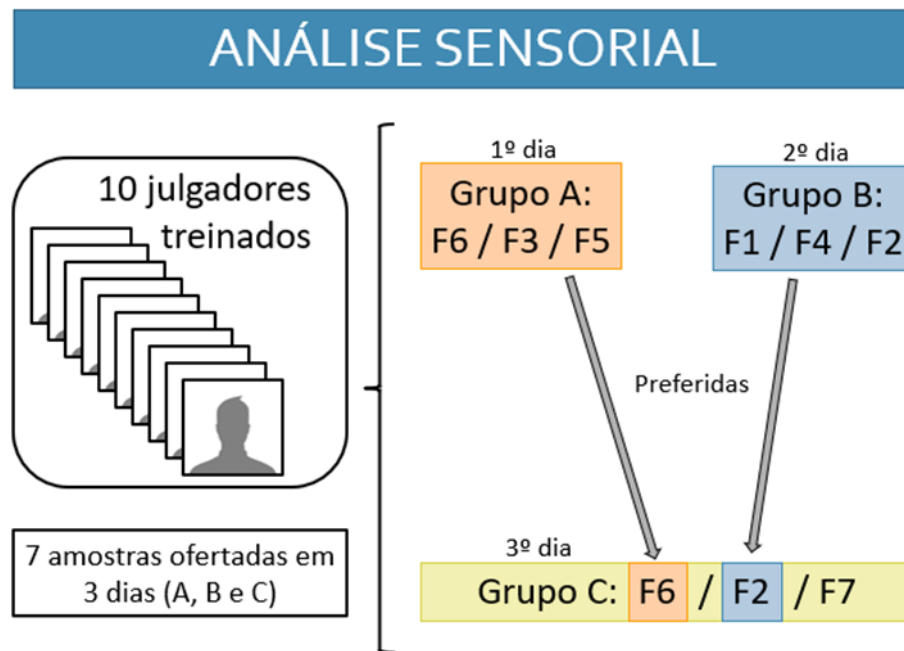
238 A análise sensorial foi realizada na Universidade Federal da Grande Dourados
239 (UFGD). Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres
240 Humanos da mesma instituição (Parecer nº 1.956.699, CAAE nº
241 63518016.0.0000.5160). As barras alimentícias das sete formulações foram produzidas
242 24h antes da avaliação sensorial.

243 Participaram um total de 10 julgadores treinados do curso de Engenharia de
244 Alimento da UFGD. Os mesmos foram informados da pesquisa e assinaram o Termo de
245 Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 1). A cada julgador, foram

246 fornecidas 3 amostras por vez, distribuídas aleatoriamente e codificadas com números
247 de 3 (três) dígitos (IAL, 2008). As amostras de barra alimentícia das sete formulações
248 foram divididas em três grupos, cada grupo foi avaliado em um dia distinto pelos
249 mesmos julgadores, conforme mostra a Figura 5.

250

251 **Figura 1.** Procedimento da análise sensorial das formulações de barra alimentícia com
252 adição de larvas *T. molitor* (F1, F2, F3, F4, F5, F6 e F7).



253

254

Fonte: Autor (2019).

255

256

257

258

259

260

261

262

263

264

Os julgadores receberam uma ficha de avaliação juntamente com as amostras (Anexo 2). A aceitabilidade das amostras foi avaliada através de uma escala hedônica de 9 pontos ancorada nos seus extremos, com os termos: “gostei muitíssimo” (9) e “desgostei muitíssimo” (1), avaliando os atributos: aparência, cor, aroma, textura, gosto residual, doçura e aceitação global. Simultaneamente a intenção de compra foi avaliada por meio de uma escala de 5 pontos, com os termos “certamente compraria” (5) e “certamente não compraria” (1) em seus extremos.

265

2.10. Análise estatística

266

267

268

269

270

Na a análise sensorial, as médias dos testes para cada variável resposta foram submetidas a multiplas análises de regressão utilizando o modelo quadrático $Y = \beta_1X_1 + \beta_2X_2 + \beta_3X_3 + \beta_{12}X_1X_2 + \beta_{13}X_1X_3 + \beta_{23}X_2X_3$. Foi gerado um diagrama triangular para cada variável dependente. As análises foram realizadas utilizando o programa Statistica versão 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

271

272

273

274

275

276

As demais análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como média e desvio padrão. As comparações dos valores médios entre os grupos foram realizadas pela análise de variância (ANOVA) e as diferenças comparadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de $p < 0,05$ com auxílio do programa Statistica versão 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

277

3. Resultados e discussão

278

279

280

3.1. Avaliação microbiológica e atividade de água das barras alimentícias com adição de larvas *Tenebrio molitor*

281

282

283

284

285

Atualmente não há legislação específica para o consumo e a comercialização de insetos comestíveis, conseqüentemente, também não há padrões microbiológicos pré-estabelecidos para análises dos mesmos. Diante disso, torna-se evidente a necessidade de elaboração de uma legislação brasileira para comercialização de insetos comestíveis, estabelecendo seus padrões microbiológicos.

286

287

288

289

290

Com a finalidade de atender os padrões microbiológicos exigidos para alimentos, as barras formuladas foram avaliadas quanto ao conteúdo microbiano: coliformes totais e termotolerantes, *Salmonella* sp. e de Estafilococos coagulase positiva (Tabela 1), segundo a RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 da Agencia Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde - ANVISA (BRASIL, 2001).

291

292

Tabela 1. Análises microbiológicas de barras alimentícias elaboradas com adição de larvas *Tenebrio molitor*.

Barras alimentícias	<i>Salmonella</i> sp. em 25g	Coliformes Totais (NMP/ml)	Coliformes Termotolerantes 45°C (NMP/ml)	Estafilococos coagulase positiva
F1	Ausente	< 3	< 3	Ausente
F2	Ausente	< 3	< 3	Ausente
F3	Ausente	< 3	< 3	Ausente
F4	Ausente	< 3	< 3	Ausente
F5	Ausente	< 3	< 3	Ausente
F6	Ausente	< 3	< 3	Ausente
F7	Ausente	< 3	< 3	Ausente

293 Padrões microbiológicos exigidos pela RDC nº 12 (ANVISA,2001): contagem de coliformes totais e
294 termotolerantes: <5x10 NMP/ml; pesquisa de *Salmonella* sp. em 25g: ausência (BRASIL, 2001). *NMP:
295 número mais provável/ml. (nd): não detectado. F1: 40% de larvas TM + 10% de flocos de arroz + 10% de
296 flocos de aveia; F2: 10% de larvas TM + 10% de flocos de arroz + 40% de flocos de aveia; F3: 10% de
297 larvas TM + 40% de flocos de arroz + 10% de flocos de aveia; F4: 25% de larvas TM + 10% de flocos de
298 arroz + 25% de flocos de aveia; F5: 25% de larvas TM + 25% de flocos de arroz + 10% de flocos de
299 aveia; F6: 10% de larvas TM + 25% de flocos de arroz + 25% de flocos de aveia; F7: 20% de larvas TM +
300 20% de flocos de arroz + 20% de flocos de aveia.

301

302 A detecção de coliformes totais e termotolerantes em alimentos constitui um
303 importante instrumento para verificar a eficiência da aplicação de boas práticas indústria
304 alimentícia, e ainda, é a análise microbiológica mais viável economicamente, pois os
305 coliformes são mais fáceis de serem detectados com análises de menor custo do que
306 outros patógenos específicos (SILVA et al, 2017).

307 Existem mais de vinte espécies de bactérias coliformes que são divididas em
308 dois grupos: totais e termotolerantes. O grupo dos coliformes totais é formado por
309 enterobactérias gram-negativas, que podem ou não necessitar de oxigênio (UBOLDI et
310 al., 2010). Esses microrganismos são comuns em ambientes de fabricação de alimentos.
311 Já o grupo coliformes termotolerantes, comumente chamados de coliformes fecais, é um
312 subgrupo dos coliformes totais. Este grupo é restrito às bactérias capazes de fermentar a
313 lactose a 44,5-45,5°C com produção de gás. Contudo, a presença de coliformes
314 termotolerantes em alimentos não quer dizer necessariamente que exista contaminação
315 de origem fecal, pois hoje sabe-se que esse grupo também inclui organismos de origem
316 não fecal (SILVA et al, 2017).

317 O resultado da análise de coliformes totais e termo tolerantes mostrou que todas a
318 formulações de barras com adição larvas TM de todas as formulações foram
319 manipuladas em boas condições de higiene, estando aptas microbiologicamente para o
320 consumo.

321 Alimentos contaminados pelo agente bacteriano *Salmonella* sp são considerados
322 como fontes potenciais de infecção humana, representando riscos à saúde pública (ENG
323 et al, 2015). Os alimentos de origem animal representam mais de 90% das fontes de
324 infecção por *Samonella* (GUT et al, 2018). A contaminação é resultante da ocorrência
325 da bactéria no ambiente de criação e nas indústrias de processamento. (LEE et al, 2015;
326 ENG et al, 2015). A pesquisa de *Salmonella* sp indicou que a matéria-prima e seu
327 processamento foram eficientes, pois, todos os resultados apresentaram-se negativos
328 para o crescimento de colônias.

329 A enumeração de estafilococos coagulase positiva tem por objetivo substituir a
330 determinação de *Staphylococcus aureus* (BRASIL, 2001). Embora a legislação vigente
331 não exija controle obrigatório para a presença de estafilococos coagulase positiva, é
332 importante a realização desse teste por se tratar de um patógeno de alta virulência e
333 associação a outras doenças, incluindo enfermidades sistêmicas potencialmente fatais,
334 infecções cutâneas, infecções oportunistas e intoxicação alimentar (VOLCÃO et al.,
335 2016). Os resultados se mostraram não detectáveis (nd) para a presença desse
336 microrganismo em todas as formulações testadas.

337 De modo geral, os resultados mostraram-se negativos para todos os
338 microrganismos analisados, indicando que as barras de alto teor proteico com adição
339 larvas TM foram devidamente elaboradas dentro dos padrões das boas práticas de
340 manipulação de alimentos e com ingredientes inócuos à saúde.

341 Os resultados negativos das análises microbiológicas mostraram que as barras de
342 cereais analisadas atenderam às determinações legais. Provavelmente esses resultados
343 tenham sido influenciados pela baixa atividade de água, desfavorável ao
344 desenvolvimento dos microrganismos estudados.

345 A atividade de água das amostras variou entre 0,44 e 0,59, as médias não
346 diferiram estatisticamente entre si ($p < 0,05$). Quando o microrganismo é colocado num
347 habitat hipertônico, a água terá tendência a sair da célula que assim fica plasmolisada, e
348 eventualmente morre. Um microrganismo para crescer num habitat de reduzida a_w gasta
349 energia celular para manter as concentrações de solutos internas elevadas, de modo a
350 reter água. A maioria dos microrganismos necessita condições com a_w superior a 0,60
351 para manter o metabolismo ativo. Considerando que a faixa de atividade de água para o

352 crescimento microbiano é de 0,60 (RAO et al., 2016), todas as formulações podem ser
 353 classificadas como microbiologicamente estáveis.

354

355 **3.2. Análise sensorial das barras alimentícias com** 356 **adição de larvas *Tenebrio molitor***

357 Considerando que o teste de aceitação por escala hedônica pode medir, com
 358 certo nível de segurança, o grau de gostar e a aceitação de um produto, é possível
 359 indicar através dos resultados desses testes, se o produto tem potencial para se tornar
 360 sucesso comercial (WICHCHUKIT, 2015). A Tabela 6 apresenta os resultados médios,
 361 obtidos por escala hedônica de nove pontos, quanto aos atributos sensoriais das
 362 formulações de barras alimentícias de alto teor proteico com adição de insetos, cujas
 363 variáveis independentes foram os ingredientes larvas TM (TM), flocos de arroz (FA), e
 364 flocos de aveia (AV).

365

366 **Tabela 2.** Valores dos atributos sensoriais de barras alimentícias com adição de larvas
 367 *Tenebrio molitor*.

Atributos	Formulação de barra alimentícia						
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7
Aparência	3,6±1,73 ^b	6,9±0,74 ^a	7,0±1,10 ^a	5,1±1,20 ^b	5,3±1,62 ^b	7,2±1,40 ^a	7,5±0,85 ^a
Cor	3,7±1,62 ^b	6,8±1,03 ^a	7,3±1,07 ^a	5,1±1,45 ^c	5,2±1,60 ^{bc}	6,8±1,78 ^{ab}	6,5±1,70 ^a
Aroma	4,2±1,78 ^b	6,0±0,88 ^{ab}	7,3±1,48 ^a	6,2±1,40 ^{ab}	5,7±2,37 ^{ab}	6,8±1,10 ^{ab}	7,0±0,99 ^a
Textura	4,3±1,85 ^b	5,8±1,37 ^{ab}	7,4±1,06 ^a	6,0±2,31 ^{ab}	5,8±1,84 ^{ab}	7,0±0,82 ^a	7,5±0,99 ^a
Gosto residual	2,9±2,02 ^c	5,8±1,06 ^{ab}	6,8±1,52 ^a	4,5±2,55 ^{abc}	5,1±1,93 ^{abc}	6,8±0,48 ^{ab}	7,0±0,84 ^{ab}
Doçura	3,8±1,57 ^b	6,0±1,33 ^{ab}	6,9±1,34 ^a	5,0±1,70 ^{ab}	5,7±1,77 ^{ab}	6,8±1,07 ^a	7,0±1,32 ^{ab}
Aceitação Global	3,6±2,33 ^c	6,8±0,95 ^{ab}	7,4±1,18 ^a	5,3±2,31 ^c	5,2±1,76 ^c	7,4±0,82 ^a	7,0±0,67 ^{ab}

368 Valores expressos em média n=10 e desvio padrão. Médias com sobrescrito diferente na mesma linha
 369 diferem significativamente entre si (p<0,05). F1: 40% de larvas TM + 10% de flocos de arroz + 10% de
 370 flocos de aveia; F2: 10% de larvas TM + 10% de flocos de arroz + 40% de flocos de aveia; F3: 10% de
 371 larvas TM + 40% de flocos de arroz + 10% de flocos de aveia; F4: 25% de larvas TM + 10% de flocos de
 372 arroz + 25% de flocos de aveia; F5: 25% de larvas TM + 25% de flocos de arroz + 10% de flocos de
 373 aveia; F6: 10% de larvas TM + 25% de flocos de arroz + 25% de flocos de aveia; F7: 20% de larvas TM +
 374 20% de flocos de arroz + 20% de flocos de aveia. Fonte: autor (2019).

375 Os resultados médios para aceitação sensorial das formulações variaram de 3,6 a
 376 7,5 para aparência, de 3,7 a 7,3 para cor, de 4,2 a 7,3 para aroma, de 4,3 a 7,5 para

377 textura, de 2,9 a 7,0 para gosto residual, de 3,8 a 7,0 para doçura e de 3,6 a 7,4 para
378 aceitação global (Tabela 2).

379 A formulação com maior concentração de larvas TM (F1= 40% de larvas TM)
380 apresentou as menores médias para todos os atributos avaliados. Por outro lado, entre as
381 formulações com concentrações médias de larvas TM (F4 = 25%, F5 = 25% e F7 =
382 20%), a F7 apresentou maiores resultados para todos os atributos, variando entre 6,5 e
383 7,5. E ainda, em comparação com as formulações com menor concentração de larvas
384 TM (F2 = 10%, F3 = 10% e F6 = 10%), não houve diferença significativa ($p < 0,05$)
385 entre elas e a F7. Esses resultados indicam que a formulação F7 foi a mais bem aceita
386 dentre as formulações com concentração média de larvas TM.

387 Para explicar os efeitos dos três componentes (TM, FA, AV) na aceitabilidade
388 dos atributos sensoriais foi empregado o modelo quadrático por apresentar melhor
389 ajuste aos resultados dos atributos aparência, aroma, cor, textura, gosto residual e
390 doçura (Figura 2). Portanto, somente o diagrama para aceitação global é apresentado
391 separado e discutido para todos os atributos (Figura 3).

392

393

394

395

396

397

398

399

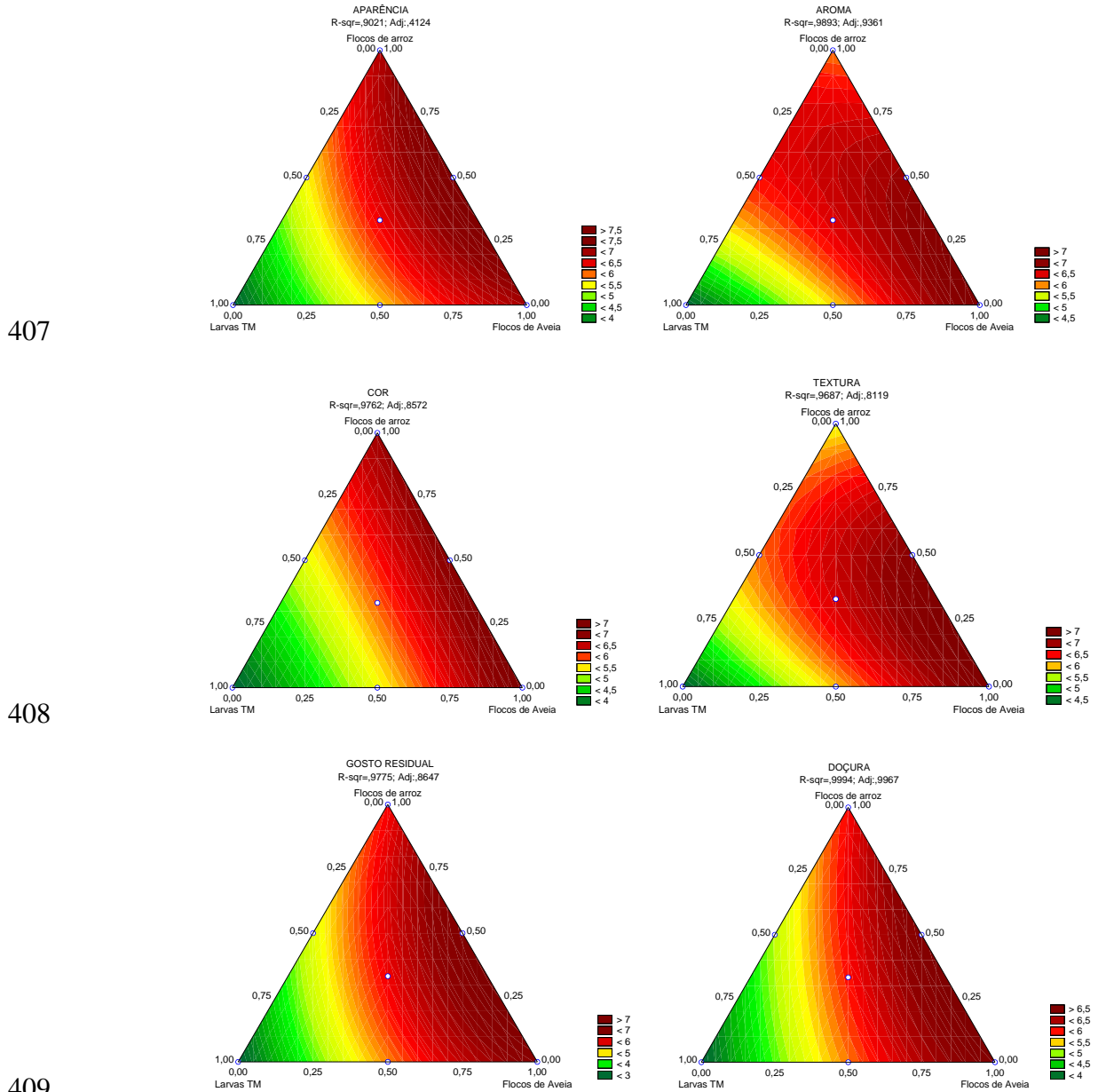
400

401

402

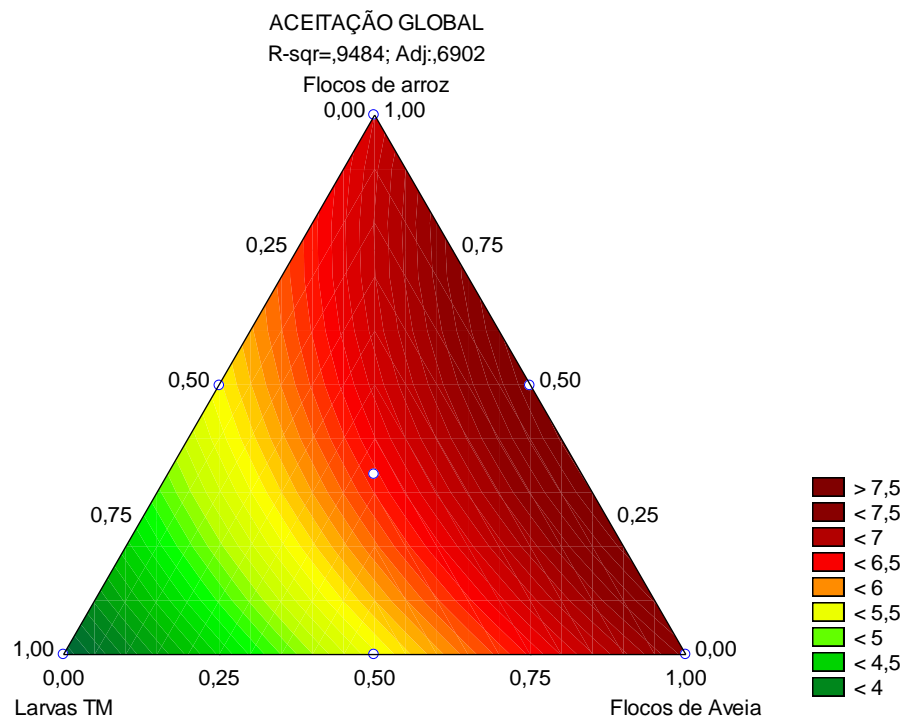
403

404 **Figura 2.** Diagramas triangulares para aceitabilidade dos atributos sensoriais: aparência,
405 aroma, cor, textura, gosto residual, doçura das barras alimentícias com adição de larvas
406 *Tenebrio molitor*.



Fonte: Autor (2019).

415 **Figura 3.** Diagrama triangular para aceitação global das barras alimentícias com adição
416 de larvas *Tenebrio molitor*.



417

418 Fonte: Autor (2019).

419

420 O equilíbrio entre as concentrações de flocos de arroz (FA) e flocos de aveia
421 (AV) aumentaram a aceitabilidade das barras, enquanto a elevação na concentração de
422 larvas (TM) reduziu gradativamente a aceitação global das amostras (Fig. 3). Porém,
423 porções equivalentes dos três componentes variáveis da mistura (TM, FA e AV)
424 permaneceram na região de melhores respostas (faixa < 6,5) no diagrama triangular,
425 essa mistura corresponde à formulação F7 (Fig. 3).

426 A maior concentração de larvas TM (F1 = 40%) diminuiu a aceitabilidade das
427 barras, pois influenciou de maneira negativa, principalmente o gosto residual levemente
428 amargo, proveniente das larvas, e a aparência da barra, que se apresentou mais escura e
429 distante da aparência das barras alimentícias convencionais, além dos outros atributos
430 sensoriais (Tabela 2).

431 Consequentemente, a medida que foram elevadas as concentrações de FA e AV
432 e reduzida a de TM, a aceitabilidade aumentou (Fig. 3). A presença dos flocos de arroz
433 tornou as barras mais semelhantes as barras de cereais comerciais, uma vez que esse

434 ingrediente é comumente utilizado na fabricação desse tipo de produto, portanto, pode
435 ter influenciado a aceitabilidade das amostras (RYLAND et al., 2010; GARCIA et al.,
436 2012; SILVA et al., 2014).

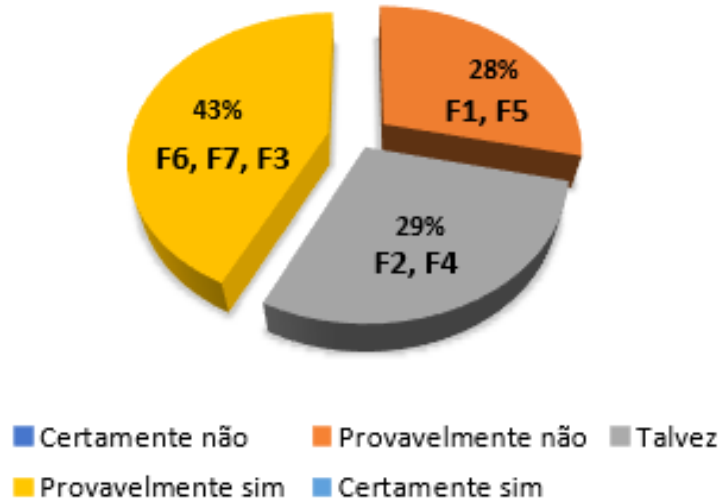
437 O efeito positivo da mistura dos três componentes em mesma proporção também
438 pode estar relacionado ao fato de que as barras de cereais comerciais são constituídas de
439 uma mistura de vários ingredientes (flocos de arroz, de aveia, frutas desidratadas, entre
440 outros) em concentrações proporcionais (CARVALHO e CONTI-SILVA, 2017). Dessa
441 maneira, o resultado explicitado no gráfico mostra que a formulação F7, representada
442 pelo ponto central, tem potencial como barra alimentícia e sugere ainda que as larvas
443 TM podem ser utilizadas na elaboração de barras alimentícias mantendo um índice
444 satisfatório de aceitabilidade ($< 6,5$) que representa gostei moderadamente (Fig. 3).

445 Considerando todos os diagramas triangulares, as formulações F2 (10% de
446 larvas TM + 10% de flocos de arroz + 40% de flocos de aveia), F3 (10% de larvas TM
447 + 40% de flocos de arroz + 10% de flocos de aveia) e F6 (10% de larvas TM + 25% de
448 flocos de arroz + 25% de flocos de aveia) obtiveram melhor aceitação em todos os
449 atributos avaliados sensorialmente. Porém, a formulação F7 (20% de larvas TM + 20%
450 de flocos de arroz + 20% de flocos de aveia), representada pelo ponto central, também
451 está na região de boa aceitabilidade ($< 6,5$) em todos os atributos avaliados. Diante
452 disso, considerando que a F7 possui a maior concentração de larvas TM dentre as
453 amostras que apresentaram boa aceitabilidade (F2, F3 e F6); e ainda, considerando que
454 não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as médias para aceitação global da F7
455 (7,0) e da F2 (6,8), F3 (7,4) e F6 (7,4), a amostra F7 foi a mais aceita sensorialmente,
456 portanto, foi a formulação definida para a elaboração da barra alimentícia com adição de
457 larvas *T. molitor*.

458 De acordo com Carvalho et al. (2006), a análise sensorial constitui um
459 importante e eficaz meio para melhor conhecer a opinião do consumidor em relação a
460 um novo produto. Aliado a isso, a verificação da intenção de compra do produto por
461 parte do painel de avaliadores é extremamente importante. O resultado obtido no teste
462 de intenção de compra das formulações de barras alimentícias de alto teor proteico com
463 adição de insetos está apresentado no Figura 4.

464

465 **Figura 4.** Intenção de compra das formulações de barras alimentícia com adição de
466 larvas *Tenebrio molitor*.



467

468 F1: 40% de larvas TM + 10% de flocos de arroz + 10% de flocos de aveia; F2: 10% de larvas TM +
469 10% de flocos de arroz + 40% de flocos de aveia; F3: 10% de larvas TM + 40% de flocos de arroz +
470 10% de flocos de aveia; F4: 25% de larvas TM + 10% de flocos de arroz + 25% de flocos de aveia; F5:
471 25% de larvas TM + 25% de flocos de arroz + 10% de flocos de aveia; F6: 10% de larvas TM + 25% de
472 flocos de arroz + 25% de flocos de aveia; F7: 20% de larvas TM + 20% de flocos de arroz + 20% de
473 flocos de aveia. Fonte: Autor (2019).

474

475 Os dados revelam que 43% dos avaliadores provavelmente comprariam as barras
476 alimentícias das formulações F3, F6 e F7, que apresentam respectivamente 10%, 10% e
477 20% de larvas TM, corroborando com a boa aceitação da F7. Com exceção da F5, essas
478 três formulações são as que possuem maior concentração de flocos de arroz, que pode
479 ter influenciado na preferência por tornar o produto mais crocante. As formulações F2 e
480 F4 foram consideradas neutras por mostrar que 29% dos julgadores informaram que
481 talvez comprassem/talvez não comprassem as barras elaboradas a partir das
482 formulações F2 e F4, contendo 10% e 25% de larvas, respectivamente.

483 Menos de 30% dos avaliadores indicaram uma posição negativa em relação à
484 intenção de compra das barras alimentícias com larvas. As barras das formulações F1 e
485 F5 foram as menos preferidas, 28% dos julgadores apontaram que provavelmente não as
486 comprariam. Essas duas formulações são as que possuem, respectivamente, as maiores
487 concentrações de larvas TM (40% e 25%). Tal característica pode colaborar para a
488 definição de limite de concentração de larvas TM. Outro dado que merece destaque é
489 que nenhum julgador indicou que certamente não compraria tal produto.

490 O alimento avaliado sensorialmente neste estudo vem ao encontro dos dois
491 principais atributos buscados pelos consumidores atuais, saudabilidade e sensorialidade.
492 A formulação F7, composta por 20% de larvas TM + 20% de flocos de arroz + 20% de
493 flocos de aveia, foi escolhida como a mais bem aceita sensorialmente e também faz
494 parte do grupo com maior intenção de compra (43% de “provavelmente compraria”).

495 Diante disso, para comprovar o seu valor nutricional, e conseqüentemente seu
496 enquadramento como alimento de alto teor proteico, foram avaliados os componentes
497 nutricionais, composição de ácidos graxos e composição de aminoácidos da formulação
498 F7.

499

500 **3.3. Composição nutricional da barra alimentícia** 501 **com adição de larvas *Tenebrio molitor***

502 Foi realizada a composição nutricional da formulação mais aceita (F7) de barra
503 alimentícia com adição de larvas *T. molitor*. Os resultados foram avaliados segundo a
504 legislação vigente, RDC nº 18, de Abril de 2010 da Agencia Nacional de Vigilância
505 Sanitária (BRASIL, 2010) (Tabela 3).

506

507 **Tabela 3.** Composição nutricional da barra alimentícia com adição de larvas *Tenebrio*
508 *molitor* (BA).

Constituintes	BA
Umidade (g/100g)	8,11 ± 0,15
Proteína (g/100g)	20,52 ± 0,52
Lipídios (g/100g)	24,60 ± 0,95
Minerais (g/100g)	2,10 ± 0,47
Fibra real (g/100g)	12,21 ± 0,76
Carboidratos (g/100g)	33,07
Valor energético (kcal)	435,76

509 Valores apresentado em base seca. Os resultados estão expressos com ± desvio padrão, n=3. ¹RDC nº
510 18/2010-ANVISA. ²VDR: Valores Declarados na Rotulagem por porção de barras proteicas nacionais
511 (SILVA et al., 2016). (BA) 20% de larvas TM + 20% de flocos de arroz + 20% de flocos de aveia.

512

513 De acordo com o Regulamento Técnico sobre Alimentos para Atletas, aprovado
514 pela RDC nº 18, de abril de 2010 da Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
515 (BRASIL, 2010), a barra alimentícia para ser classificada como barra de proteína, deve

516 conter no mínimo 10g de proteína por porção. Diante disso, definiu-se 50g como o
517 equivalente à uma porção de barra alimentícia com adição de larvas *T. molitor* por
518 possuir 10,26g/porção de proteína, atendendo ao valor mínimo de estabelecido no
519 regulamento.

520 Por outro lado, em relação ao valor energético, o inciso II do artigo 8º RDC nº
521 18/2010 da ANVISA (Brasil, 2010), estabelece que “o produto pronto para o consumo
522 deve conter, no mínimo, 50% do valor energético total proveniente das proteínas”. A
523 barra alimentícia não atende esse requisito, pois apresenta valor energético proveniente
524 de proteínas (19%) abaixo do exigido. Dessa maneira, a barra alimentícia com adição de
525 larvas *T. molitor* não pode ser classificada como suplemento proteico pela legislação
526 brasileira.

527 Cabe salientar que, segundo Silva et al. (2016), grande parte das barras proteicas
528 comercializadas apresentaram desconformidade com requisito do inciso II, referente ao
529 valor energético. O estudo mostrou que das seis barras proteicas avaliadas, todas
530 apresentaram valor energético por porção elevado em relação (386,11 a 488,23kcal) aos
531 valores declarados na rotulagem (192 a 302kcal), e ainda, estes valores energéticos não
532 são provenientes de 50% das proteínas e sim dos lipídios e dos carboidratos.

533 Contudo, o teor de proteínas (20,52%) da barra alimentícia permite defini-la
534 também como alimento com alto teor de proteínas, uma vez que o conteúdo proteico
535 supera o valor de 12g/100g, conforme estabelecido pela RDC nº 54, de 12 de novembro
536 de 2012 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2012).

537 Sendo assim, a barra alimentícia com adição de larvas *T. molitor* se enquadra na
538 classificação de barra alimentícia de alto teor proteico. Porém, não pode ser denominada
539 barra proteica, pois não atende a determinação de que 50% do valor energético total
540 deve ser proveniente das proteínas (BRASIL, 2010).

541 Na União Europeia, a diretiva 2002/46/CE harmoniza a definição e critérios
542 relativos aos suplementos alimentares (PARLAMENTO EUROPEU E CONSELHO,
543 2002). Entretanto, a harmonização restringe-se a lista de compostos de vitaminas e
544 minerais. Por outro lado, o regulamento (CE) nº 1924/2006 do Parlamento Europeu e do
545 Conselho (PARLAMENTO EUROPEU E CONSELHO, 2006) relativo às alegações
546 nutricionais e de saúde sobre os alimentos, estabelece que o alimento só pode ser
547 classificado como de alto teor proteico se possuir, pelo menos, 20% do valor energético

548 do alimento for fornecido por proteína. A barra alimentícia com adição de larvas *T.*
549 *molitor* está muito próxima de se enquadrar nesse requisito, pois possui 19% do valor
550 energético total fornecido por proteína.

551 Nos Estados Unidos, verifica-se que a legislação não possui requisitos sanitários
552 adequados destinados a garantir a segurança e eficácia desses produtos (FDA, 2003). A
553 Agência de Controle de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos (FDA) é o
554 órgão governamental responsável pelo controle de suplementos dietéticos, ela só pode
555 retirar um produto do mercado após demonstrar que o mesmo representa um risco
556 significativo à saúde da população, sem que possa exigir aos fabricantes informações
557 sobre seus produtos. A legislação americana exige a advertência: “Essa afirmação não
558 foi avaliada pelo FDA”, impressa no rótulo dos suplementos nutricionais quando os
559 fabricantes realizam alegações de estrutura ou função no mesmo, tornando os
560 fabricantes responsáveis sobre sua veracidade (FDA, 2003).

561 Ademais, os minerais são substâncias nutritivas indispensáveis ao organismo,
562 pois promovem desde a constituição de ossos, dentes, músculos, sangue e células
563 nervosas até a manutenção do equilíbrio hídrico. Porém, como o organismo não pode
564 fabricá-los, deve-se utilizar fontes externas, como os alimentos e os suplementos
565 nutritivos para assegurar uma ingestão adequada. A barra alimentícia com adição de
566 larvas *T. molitor* apresentou 2,10% de minerais. Considerando-se a necessidade diária
567 de um indivíduo adulto em relação aos minerais (2,8g), uma porção de 50g da barra
568 alimentícia atenderia 37,5% desse nutriente (BRASIL, 2005; DUTRA-DE-OLIVEIRA
569 E MARCHINI, 2008).

570 Outra importante contribuição são as fibras, a barra alimentícia com adição de
571 larvas *T. molitor* apresentou alto teor de fibras (Tabela 3). O consumo de alimentos
572 ricos em fibras está associado com a redução de risco cardiovascular, redução de níveis
573 glicêmicos e lipídicos associados à diminuição de hiperinsulinemia. O alto consumo
574 acarreta menores riscos para o desenvolvimento da obesidade (WILLHELM et al.,
575 2014). Esse estudo demonstra que a barra alimentícia com adição de larvas *T. molitor* é
576 fonte de fibras, visto que a quantidade apresentada é superior a 6,0g/100g, conforme
577 estabelece a RDC nº 54/2012 da ANVISA (BRASIL, 2012).

578 Os lipídeos intensificam a palatabilidade dos alimentos através da absorção e
579 retenção de sabores (FAO, 2010), bem como influenciam na textura dos alimentos

580 conferindo maciez e crocância. O teor de lipídeos (24,6%) da barra alimentícia com
581 adição de larvas *T. molitor* pode ter colaborado para sua boa aceitação sensorial. Além
582 disso, os lipídeos são importantes porque produzem 9kcal/g quando oxidados no
583 organismo. Esta importante fonte energética para os seres humanos contribui, em alguns
584 países, com 30-40% do total de energia consumida na alimentação (DUTRA-DE-
585 OLIVEIRA, 2008; FAO, 2010).

586

587 **3.4. Composição de ácidos graxos da melhor** 588 **formulação de barra alimentícia com adição de larvas** 589 ***Tenebrio molitor***

590 Quantitativamente, os principais ácidos graxos encontrados no óleo extraído da
591 barra alimentícia e do óleo extraído das larvas *T. molitor* (TM) foram o ácido oleico
592 (53,57% e 38,97%), seguido do ácido linoleico (24,44% e 33,58%) (Tabela 3). Essa
593 tendência foi semelhante à descrita por Paul, et al. (2017) para larvas *T. molitor*.

594

595

596

597

598

599

600

601

602

603

604

605

606

607 **Tabela 4.** Composição de ácidos graxos dos óleos extraídos da barra alimentícia de alto
 608 teor proteico com adição de larvas *Tenebrio molitor* (BA) e das larvas *T. molitor* (TM).

Ácidos graxos (%)	Óleo		BA
	BA	TM	
Ácido Laurico (C12:0)	-	0,04 ± 0,01	-
Ácido Mirístico (C14:0)	0,33 ± 0,00 ^b	2,03 ± 0,06 ^a	0,08
Ácido Palmítico (C16:0)	13,76 ± 0,01 ^b	17,02 ± 0,02 ^a	3,38
Ácido Palmitoleico (C16:1)	0,46 ± 0,01 ^a	0,45 ± 0,01 ^a	0,11
Ácido Esteárico (C18:00)	4,13 ± 0,01 ^a	3,94 ± 0,08 ^a	1,02
Ácido Oleico (Ômega-9) (C18:1)	53,57 ± 0,01 ^a	38,97 ± 0,13 ^b	13,18
Ácido Linoleico (Ômega-6) (C18:2)	24,44 ± 0,01 ^b	33,58 ± 0,07 ^a	6,01
Ácido α-Linolênico (Ômega-3) (C18:3)	1,58 ± 0,01 ^b	3,94 ± 0,07 ^a	0,39
Ácido Araquídico (C20:0)	0,66 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,01 ^b	0,16
Ácido Eicosenoico (C20:1)	0,34 ± 0,01	-	0,08
Ácido Behênico (C22:0)	0,36 ± 0,01	-	0,09
Ácido Lignocérico (C24:0)	0,35 ± 0,01	-	0,09
Σ AGS	14,09	19,05	3,47
Σ AGM	54,37	39,42	13,38
Σ AGPI	26,02	37,52	6,40
P/S			

609 Valores médios em g de ácidos graxos/100g de óleo, n=3 e desvio padrão. (-) Não encontrado. AGS:
 610 ácidos graxos saturados. AGM: ácidos graxos monoinsaturados. AGPI: ácidos graxos poli-insaturados.
 611 BA: larvas TM (20%), flocos de arroz (20%), flocos de aveia (20%). P/S: razão entre ácidos graxos poli-
 612 insaturados/saturados. Médias com sobrescrito diferente na mesma linha diferem significativamente entre
 613 si (p<0,05).

614

615 Dos óleos extraídos da barra alimentícia e das larvas TM, as frações
 616 correspondentes aos ácidos graxos saturados são de 14,09% e 19,05% e aos insaturados
 617 são de 80,39% e 76,94% (Tabela 4). Os resultados confirmam o alto teor de ácidos
 618 graxos insaturados nos óleos da barra alimentícia e das larvas TM, em razão,
 619 principalmente, do alto conteúdo de ácido oleico.

620 Os valores reportados para ácidos graxos sugerem que as larvas TM
 621 contribuíram com 90,51% de oleico (ômega-9), 47,92% de linoleico (ômega-6) e
 622 26,41% de α-linolênico (ômega 3) no produto elaborado.

623 A barra alimentícia apresentou 6,01% de linoleico e 0,39% de α-linolênico
 624 (Tabela 4), ácidos graxos poli-insaturados que são classificados como essenciais, pois
 625 não são sintetizados pelas células dos mamíferos e, portanto, têm que ser ingeridos na
 626 alimentação (JEON, 2016). Esses ácidos graxos atuam como precursores para a síntese

627 de outros ácidos graxos necessários para manter, sob condições normais, as membranas
628 celulares, as funções cerebrais e a transmissão de impulsos nervosos (INOCENTTI et
629 al., 2014). Essa bioconversão tem papel muito importante no organismo humano,
630 principalmente para indivíduos que não consomem peixe, uma das principais fontes de
631 ácidos graxos essenciais (JEON, 2016).

632 A Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (FALUDI
633 et al, 2017), publicada pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC), informa que o
634 consumo diário de ômega-3 (α -linolênico) é um fator importante auxiliar na prevenção
635 da aterosclerose. O ômega 3 é considerado como adjuvante no tratamento da
636 hipertrigliceridemia, a ingestão entre 2 a 4 g ao dia, pode reduzir a concentração dos
637 triglicerídeos no sangue em até 25 a 30% (FALUDI et al, 2017). Sendo assim, duas
638 porções da barra alimentícia (100g) com adição de larvas *T. molitor* pode suprir 20% da
639 necessidade diária de ômega-3.

640 A razão entre ácidos graxos poli-insaturados e saturados (P/S) é um dos
641 indicadores mais importantes da composição lipídica em uma dieta saudável (PAUL et
642 al., 2017). É recomendado o consumo de dieta com razão P/S próxima a um. Uma razão
643 P/S alta (≥ 3) na dieta pode favorecer a formação de tumores, enquanto uma razão P/S
644 baixa ($\leq 0,33$) pode ser aterogênico (TURLEY e THOMPSON, 2015). É interessante
645 notar que as barras alimentícias apresentam razão P/S interpolada dentro da faixa de
646 segurança (Tabela 4), indicando potencial benéfico dos seus lipídios.

647

648 **3.5. Composição de aminoácidos da melhor** 649 **formulação de barra alimentícia com adição de larvas** 650 ***Tenebrio molitor***

651

652 Sob a forma de proteínas, os aminoácidos constituem a segunda componente
653 mais importante do corpo humano. As proteínas são macromoléculas formadas pela
654 combinação de 20 aminoácidos em diferentes proporções. Elas são constantemente
655 sintetizadas a partir dos aminoácidos e, posteriormente, degradadas no organismo numa

656 reciclagem contínua. A barra alimentícia com adição de larvas *T. molitor* mostrou ser
657 uma boa fonte de aminoácidos essenciais (Tabela 5).

658

659 **Tabela 5.** Composição de aminoácidos de barra alimentícia com adição de larvas de
660 *Tenebrio molitor* (BA).

Aminoácidos	BA (mg/g de proteína)	FAO¹ (mg/g de proteína)
Serina	48,9 ± 0,01	-
Treonina	35,8 ± 0,01	23
Arginina	54,9 ± 0,01	-
Alanina	70,4 ± 0,01	-
Prolina	46,8 ± 0,02	-
Valina ²	65,1 ± 0,02	39
Isoleucina ²	50,1 ± 0,01	30
Lisina	58,7 ± 0,02	45
Leucina ²	81,3 ± 0,02	59
Histidina	24,7 ± 0,57	15
Triptofano	8,13 ± 0,01	6
Metionina + cisteína	21,03 ± 0,02	22
Fenilalanina + tirosina	108,9 ± 0,02	38

661 Valores médios de mg de aminoácidos/ g de proteína, n=3 ± desvio padrão. ¹(FAO, 2013). ²Aminoácidos
662 de cadeia ramificada. (-) não se aplica. (F7) 20% de larvas TM + 20% de flocos de arroz + 20% de flocos
663 de aveia.

664

665 Os aminoácidos essenciais (AAE) são importantes para o desenvolvimento e a
666 manutenção das necessidades metabólicas, pois possuem esqueletos carbônicos que o
667 corpo humano é incapaz de produzir (WU, 2014).

668 Adicionalmente, o conteúdo de triptofano na barra alimentícia foi de 8,01mg/g
669 (Tabela 5), superior à ingestão diária recomendada para humanos (6mg/g) (FAO, 2013).
670 Os resultados mostram que as barras alimentícias podem fornecer todos os aminoácidos
671 essenciais dentro das quantidades necessárias para humanos (FAO,2013): treonina (35,8
672 mg/g), valina (65,1 mg/g), isoleucina (50,1 mg/g), lisina (58,7 mg/g), leucina (81,3
673 mg/g), histidina (24,7 mg/g), metionina + cisteína (21,03 mg/g), fenilalanina + tirosina
674 (108,9 mg/g), triptofano (8,13 mg/g) (Tabela 5).

675 Dentre os AEE destacam-se os aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA):
676 leucina, isoleucina e valina. Em indivíduos adultos os BCAA são relevantes para a
677 manutenção da proteína corporal total, além de serem fonte de nitrogênio para a síntese

678 de outros aminoácidos. A barra alimentícia possui 196,5mg/g de BCAA, valor que
679 representa 25,40% do total de aminoácidos.

680 Adicionalmente, o conteúdo de triptofano na barra alimentícia foi de 8,01mg/g
681 (Tabela 5), superior à ingestão diária recomendada para humanos (6mg/g) (FAO, 2013).
682 O triptofano é um aminoácido essencial que normalmente constitui proteínas, porém em
683 também pode ser encontrado em porções não-proteicas que permitem acesso imediato a
684 ele. Esse AEE é fundamental na síntese da serotonina, metabólito que atua na regulação
685 do sono e como mediador periférico de sinal (O'MAHONY et al., 2015).

686 Do exposto, esses resultados destacam a qualidade proteica da barra alimentícia
687 com adição de larvas *T. molitor* e permitem classificá-la como alimento de alto teor
688 proteico.

689

690 **4. Conclusões**

691 A barra alimentícia com adição de larvas *Tenebrio molitor* resultante da
692 formulação F7, elaborada com 20% de larvas *T. molitor* + 20% de flocos de arroz +
693 20% de flocos de aveia foi bem aceita sensorialmente e apresentou maior intenção de
694 compra (43% de “provavelmente compraria”), dentre sete formulações. Esse estudo
695 indica o potencial benéfico dos lipídios e das proteínas presentes no produto. De modo
696 geral, essa formulação atendeu aos requisitos que permitem enquadrá-la como barra
697 alimentícia de alto teor proteico, apresentando bom perfil de aminoácidos. Portanto, os
698 resultados permitem classificar a barra alimentícia com adição de larvas *T. molitor*
699 como alimento de alto teor proteico.

700

701 **5. Referências bibliográficas**

702 AGUILAR-MIRANDA ED, LOPEZ MG, ESCAMILLA-SANTANA C, DE LA
703 ROSA BAP. Characteristics of maize flour tortilla supplemented with ground *Tenebrio*
704 *molitor* Larvae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 192-195. 2002.

705 ALVES AV, SANJINEZ-ARGANDOÑA EJ, LINZMEIER AM, CARDOSO
706 CAL, MACEDO MLR. Food Value of Mealworm Grown on *Acrocomia aculeata* Pulp
707 Flour. *Plos One*. 11(3): e0151275. doi:10.1371/journal.pone.0151275. 2016.

708 ANVISA. Ministério da Saúde. Portaria no 27. *Regulamento Técnico sobre*
709 *Informação Nutricional Complementar*. 1998.

710 APHA. American Public Health Association. *Compendium of methods for the*
711 *microbiological examination of foods*. 4th ed. Washington, 2001.

712 ARANCETA J, PÉREZ-RODRIGO C. Recommended dietary reference intakes,
713 nutritional goals and dietary guidelines for fat and fatty acids: a systematic review.
714 *British Journal of Nutrition*. 107: 8-22. 2012.

715 ARAUJO JMA. *Química de alimentos: teoria e prática*. 5. Ed. Viçosa, MG: Ed.
716 UFV; 2011.

717 BEDNÁŘOVÁ M, BORKOVCOVÁ M, MLČEK J, ROP O, ZEMAN L. Edible
718 Insects – Species Suitable For Entomophagy Under Condition Of Czech Republic. *Acta*
719 *Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*. 16. 2013.

720 BELL, R. L., JARVIS, K. G., OTTESEN, A. R., MCFARLAND, M. A., &
721 BROWN, E. W. Recent and emerging innovations in Salmonella detection: a food and
722 environmental perspective. *Microbial biotechnology*, 9(3), 279-292. 2016.

723 BOVERA F, PICCOLO G, GASCO L, MARONO S, LOPONTE R,
724 VASSALOTTI G, MASTELLONE V, LOMBARDI P, ATTIA YA, NIZZA A. Yellow
725 mealworms larvae (*Tenebrio molitor*, L.) as possible alternative to soybean meal in
726 growing broiler diet. *British Poultry Science*. 2015; 56: 569-575. 2015.

727 BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n.12, de 02 de
728 janeiro de 2001. *Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para*
729 *alimentos*. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>.
730 Acesso em: 27 out. 2009.

731 BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução. RDC nº 54, de
732 12 de novembro de 2012 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília, 2001.

733 BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de
734 Gestão Estratégica e Participativa Doenças crônicas não transmissíveis no Brasil:
735 mortalidade, morbidade e fatores de risco. Brasília, 2008.

736 BUKKENS G.F. Insects in the human diet: Nutritional aspects. In M.G. Paoletti,
737 ed. Ecological implications of minilivestock, p. 545–577. Enfi eld NH, *Science Pub.*,
738 USA. 2002.

739 CARVALHO, E. A.; NETO, B. A. M.; AGUIAR, J. C.; CALDAS, M. C.;
740 CAVALCANTI, M. T.; MIYAJI, M. Desenvolvimento e Análise Sensorial de Sorvete
741 de Massa Sabor Café. *I Jornada Nacional Da Agroindústria*. Anais, 2006.

742 DATAMARK (Market Intelligence Brazil). 2015. Barras de Cereais. Acesso em:
743 05 de setembro de 2016.

744 DUTRA-DE-OLIVEIRA JED, Marchini JS. Ciências nutricionais: aprendendo a
745 aprender. 2. Ed. São Paulo: SARVIER; 2008.

746 EFSA SCIENTIFIC COMMITTEE. Risk profile related to production and
747 consumption of insects as food and feed. *EFSA Journal*, 13, pp. 5-60. 2015.

748 FALUDI AA, IZAR MCO, SARAIVA JFK, CHACRA APM, BIANCO HT,
749 AFIUNE NETO A et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e
750 Prevenção da Aterosclerose – 2017. *Arq Bras Cardiol*.109(2Supl.1):1-76. 2017.

751 FAO. Dietary protein quality evaluation in human nutrition. *In Report of an FAO Expert*
752 *Consultation*, (pp. 27). Auckland, New Zealand.: Food and Agriculture Organization of
753 the United Nations. 2013.

754 FAO. Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation.
755 FAO Food and Nutrition Paper. 2010; 91: 1-166.

756 FAO. *Forest insects as food: Humans bite back*. FAO of the United Nations
757 Regional Office for Asia and the Pacific, Bangkok, 2010.

758 FAO/WHO/ UNU. Expert Consultation on Protein and Amino Acid
759 Requirements in Human Nutrition. *WHO Technical Report Series N° 935*. World Health
760 Organization, Geneva, Switzerland. 2007.

761 FDA. *Dietary Supplements*. 2003. <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/ds-faq.html>.

762 FENNEMA, O. R. *Química de los alimentos*. 2. ed. Zaragoza: Acribia. p. 19-
763 110. 2000.

764 FERREIRA, L. G. Avaliação sensorial de barras de cereais com propriedades
765 funcionais, direcionadas a mulheres no período climatérico. *Higiene Alimentar*, São
766 Paulo, (21)15, 33-37. 2007.

767 GAHUKAR, R. T. Entomophagy and human food security. *International*
768 *Journal of Tropical Insect Science*, 31(3), 129–144.
769 <https://doi.org/10.1017/S1742758411000257>. 2011.

770 GARCIA MC, LOBATO LP, BENASSI MT AND SOARES JÚNIOR MS.
771 Application of roasted rice bran in cereal bars. *Ciênc Tecnol Alim*. 32:718–724. 2012.

772 GUT, A. M., VASILJEVIC, T., YEAGER, T., DONKOR, O. N. Salmonella
773 infection – prevention and treatment by antibiotics and probiotic yeasts: a review.
774 *Microbiology* 164:1327–1344, DOI 10.1099/mic.0.000709. 2018.

775 INGRAM, J. A food systems approach to researching food security and its
776 interactions with global environmental change. *Food Security*, 3(4), 417–431.
777 <https://doi.org/10.1007/s12571-011-0149-9>. 2011.

778 JEON Y.-H., SON Y.-J., KIM S.-H., YUN E.-Y., KANG H.-J., HWANG I.-K.
779 Physicochemical properties and oxidative stabilities of mealworm (*Tenebrio molitor*) oils
780 under different roasting conditions. *Food Science and Biotechnology*, 25, pp. 105-110.
781 2016.

782 JONGEMA, Y. *List of edible insects of the world*. Wageningen Wageningen
783 University, Wageningen, the Netherlands. 2012.

784 Klensporf D and Jelén HH, Effect of heat treatment on the flavor of oatflakes. *J*
785 *Cereal Sci*48:656–661. 2008.

786 LEE, K. M., RUNYON, M., HERRMAN, T. J., PHILLIPS, R., & HSIEH, J.
787 Review of Salmonella detection and identification methods: aspects of rapid emergency
788 response and food safety. *Food Control*, 47, 264-276. 2015.

789 LONGVAH T, MANGTHYA K, RAMULU P. Nutrient composition and
790 protein quality evaluation of eri silkworm (*Samia ricinii*) prepupae and pupae. *Food*
791 *Chemistry*. 128: 400-403. 2011.

792 LOOY, H., DUNKEL, F.V. AND WOOD, J.R. How then shall we eat? Insect-
793 eating. *Human Values* 31: 131-141. 2014.

794 MACIEL, E. O gostoso e o saudável: uma análise da utilização de apelos de
795 saúde na rotulagem de alimentos e sua convergência com o conteúdo nutricional. 149 fl.
796 Dissertação (Mestrado em Interunidades em Nutrição Humana Aplicada) - Universidade
797 de São Paulo, São Paulo. 2012.

798 NONAKA K. Feasting on insects. *J. Entomol. Res.*, 39, 304–312. 2009.

799 O’MAHONY, S. M., CLARKE, G., BORRE, Y. E., DINAN, T. G., & CRYAN, J. F.
800 Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis. *Behavioural*
801 *brain research*, 277, 32-48. 2015.

802 PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO. Diretiva 2002/46/CE relativa
803 à aproximação das legislações dos Estados-Membros respeitantes aos suplementos
804 alimentares (Texto relevante para efeitos do EEE). Jornal Oficial nº L 183 de
805 12/07/2002 p. 51 – 57.

806 PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO. Regulamento (CE) nº
807 1924/2006 de 20 de Dezembro de 2006, relativo às alegações nutricionais e de saúde
808 sobre os alimentos. Jornal Oficial nº L 404 de 30/12/2006, p. 9–25.

809 PAUL, AMAN et al. Insect fatty acids: A comparison of lipids from three Orthopterans
810 and *Tenebrio molitor* L. larvae. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, v. 20, n. 2, p. 337-
811 340. 2017.

812 QINCHUN RAO, ANDRE KLAASSEN KAMDAR & THEODORE P.
813 LABUZA. Storage Stability of Food Protein Hydrolysates—A Review, *Critical*
814 *Reviews in Food Science and Nutrition*, 56:7, 1169-1192, DOI:
815 10.1080/10408398.2012.758085. 2016.

816 RUMPOLD BA, SCHLUTER OK. Potential and challenges of insects as an
817 innovative source for food and feed production. *Innovative Food Science Emerging*
818 *Technologies*. 17: 1-11. 2013.

819 RUMPOLD BA, SCHLUTER OK. Potential and challenges of insects as an
820 innovative source for food and feed production. *Innovative Food Science Emerging*
821 *Technologies*. 2013; 17: 1-11.

822 RYLAND D, VAISEY-GENSER M, ARNTFIELD SD AND MALCOLMSON
823 LJ. Development of a nutritious acceptable snack bar using micronized
824 flaked lentils. *Food Res Int* 43:642–649. 2010.

825 SAMPAIO, C. R. P. Desenvolvimento e Estudo das Características Sensoriais e
826 Nutricionais de Barras de cereais fortificadas com Ferro. Dissertação de Pós- Graduação
827 da Universidade Federal do Paraná. 2009

828 SHOCKLEY M, DOSSEY AT. Insects for Human Consumption. In: Morales-
829 Ramos JA, Rojas MG, Shapiro-Ilan, DI. Mass Production of Beneficial Organisms.
830 *Academic Press*, 1 ed. pp. 764. 2013.

831 SHU-KEE ENG, PRIYIA PUSPARAJAH, NURUL-SYAKIMA AB
832 MUTALIB, HOOI-LENG SER, KOK-GAN CHAN & LEARN-HAN LEE. Salmonella:
833 A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life*
834 *Science*, 8:3, 284-293, DOI: 10.1080/21553769.2015.1051243. 2015.

835 SILVA AS, LORENZO ND, SANTOS OV. Comparação dos parâmetros de
836 rotulagem e composição nutricional de barras proteicas. *Revista Brasileira de Nutrição*
837 *Esportiva*, São Paulo. v. 10. n. 57. p.350-360. 2016.

838 SILVA EP, SIQUEIRA HH, LAGO RC, ROSELL CM AND VILLAS BOAS
839 EVB. Developing fruit-based nutritious snack bars. *J Sci Food Agric*. 94:52–56. 2014.

840 SILVA, N. et al. *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e*
841 *Água*. 5ª edição. São Paulo. Editora Bluncher. 2017.

842 TORRES, V. DE O., PIVA, R.C., ANTONIALI JUNIOR, W.F., CARDOSO,
843 C.A.L. Free Amino Acids Analysis in the Venom of the Social Wasp *Polistes lanio*
844 Under Different Forms of Preservation. *Orbital: The Electronic Journal of Chemistry*
845 10, 1–8. <https://doi.org/10.17807/orbital.v10i1.1005>. 2018.

846 UBOLDI EIROA, Mirta Nelly. Coord. et al. Curso de Microbiologia de
847 Alimentos. Campinas: ITAL. 83p. 2010.

848 VAN HUIS, A., DICKE, M. AND VAN LOON, J.J.A. Insects to feed the world.
849 *Journal of Insects as Food and Feed* 1: 3-5. 2015.

850 WICHCHUKIT, S., & O'MAHONY, M. The 9-point hedonic scale and hedonic
851 ranking in food science: some reappraisals and alternatives. *Journal of the Science of*
852 *Food and Agriculture*, 95(11), 2167-2178. 2015.

853 WILLHELM FF, OLIVEIRA RB, COUTINHO VF. Composição nutricional de
854 dietas para emagrecimento publicadas em revistas não científicas: comparação com as
855 recomendações dietéticas atuais de macronutrientes. *Nutrire*. 39: 179-186. 2014.

856 YOO J, HWANG J, GO T, YUN E. Comparative Analysis of Nutritional and
857 Harmful Components in Korean and Chinese Mealworms (*Tenebrio molitor*). *Journal*
858 *of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 42: 249-254. 2013.

Conclusão geral

1

2

3

4

5

Os resultados do primeiro capítulo mostraram que os óleos extraídos de larvas *Tenebrio molitor* e *Pachymerus nucleorum* não apresentaram toxicidade nos testes agudo e subagudo realizados *in vivo*, uma vez que não houve letalidade ou alterações em parâmetros hematológicos.

9

No segundo capítulo, demonstrou-se que não houve diferença significativa no percentual de concentração de nutrientes das larvas criadas em dietas distintas (TM1 e TM2), exceto no teor proteico, cujas larvas TM1 (65,91%) apresentaram valores significativamente maiores que as larvas TM2 (50,65%). As larvas TM1 e TM2 não apresentaram diferença significativa em relação a composição de ácidos graxos e de aminoácidos. Dessa maneira, os resultados sugerem a substituição das larvas não ocasiona grandes interferências nutritivas.

16

O terceiro capítulo, indica o potencial benéfico dos lipídios e das proteínas presentes na barra alimentícia elaborada com elaborada com 20% de larvas *T. molitor* + 20% de flocos de arroz + 20% de flocos de aveia. De modo geral, essa formulação atendeu aos requisitos que permitem enquadrá-la como barra alimentícia de alto teor proteico e apresentou bom perfil de aminoácidos, permitindo classificar a barra alimentícia com adição de larvas *T. molitor* como alimento de alto teor proteico.

22

O conhecimento gerado por esses três estudos colabora no incentivo ao uso de larvas de insetos na alimentação, visando contribuir na garantia da segurança alimentar, principalmente das populações da região. Além de agregar perspectivas de produtos para o uso em suplementos proteicos ecologicamente corretos, com custo de produção reduzido e agradável ao paladar, destinados a atletas e pessoas interessadas em aumentar o consumo de proteínas.

27

ANEXO 1

23/01/2019

Rightslink® by Copyright Clearance Center



RightsLink®

Home

Account
Info

Help



Title: Safety evaluation of the oils extracted from edible insects (*Tenebrio molitor* and *Pachymerus nucleorum*) as novel food for humans

Author: Ariana Vieira Alves, Fernando Freitas de Lima, Tânia Granzotti da Silva, Vinícius Soares de Oliveira, Cândida Aparecida Leite Kassuya, Eliana Janet Sanjinez-Argandoña

Publication: Regulatory Toxicology and Pharmacology

Publisher: Elsevier

Date: March 2019

© 2019 Elsevier Inc. All rights reserved.

Logged in as:
Ariana Alves

LOGOUT

Please note that, as the author of this Elsevier article, you retain the right to include it in a thesis or dissertation, provided it is not published commercially. Permission is not required, but please ensure that you reference the journal as the original source. For more information on this and on your other retained rights, please visit: <https://www.elsevier.com/about/our-business/policies/copyright#Author-rights>

BACK

CLOSE WINDOW

Copyright © 2019 Copyright Clearance Center, Inc. All Rights Reserved. [Privacy statement](#), [Terms and Conditions](#). Comments? We would like to hear from you. E-mail us at customer@copyright.com

ANEXO 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar do projeto de pesquisa: Entomofagia: elaboração de alimento proteico com adição de *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera, Tenebrionidae) e frutos do Cerrado.

A JUSTIFICATIVA, OS OBJETIVOS E OS PROCEDIMENTOS: Em 2013, após a Conferência Internacional sobre Florestas para Segurança Alimentar e Nutricional, a FAO publicou um relatório que incentiva o consumo de insetos como forma de combater a fome e promover a segurança alimentar, por estes serem fonte de proteínas de boa qualidade nutricional para humanos. Dentre as espécies de insetos comestíveis destaca-se o besouro das farinhas *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera, Tenebrionidae), por ser mais consumido, especialmente na África, Ásia, Américas e Austrália. É uma das espécies de insetos que apresenta maior quantidade de proteínas (47,76 a 53,13%) e lipídios (27,25 a 38,26%), cuja contribuição energética varia de 379 a 573 kcal/100g. O objetivo deste estudo é estabelecer as bases científicas e tecnológicas para elaborar uma barra alimentícia de alto valor proteico com adição de *Tenebrio molitor* e de farinha de polpa de bociuva e de baru. As amostras serão servidas individualmente em copos plásticos codificados juntamente com a ficha de avaliação, também será oferecido água e solicitado que a bebam entre uma amostra e outra. A aceitabilidade das amostras será avaliada por meio de escala hedônica de 9 pontos variando de 1 (desgostei muitíssimo) a 9 (gostei muitíssimo). Os atributos avaliados serão aparência, cor, aroma, textura, sabor, doçura, qualidade global. Cada julgador deverá também indicar a intenção de compra para as amostras avaliadas, em uma escala de cinco pontos que varia de “certamente compraria” a certamente “não compraria” e qual a frequência de consumo do produto. O tempo necessário para a sua participação na pesquisa será de 10 minutos.

DESCONFORTOS E RISCOS E BENEFÍCIOS: A pesquisa pode causar um desconforto já que ela envolve a introdução de insetos como novos itens alimentares. Para minimizar esse desconforto, o pesquisador estará atento à sua receptividade às perguntas realizadas, se necessário, interromperá a pesquisa em qualquer momento, respeitando sua autonomia e garantindo o seu bem-estar. Por outro lado, a possibilidade de quebra de barreiras de preconceito em relação à entomofagia poderá constituir-se em benefícios a você. Estudos apontam que existe a possibilidade de pessoas alérgicas a crustáceos e a ácaros de poeira doméstica sofrerem reações ao ingerirem larvas de *Tenebrio molitor*. Portanto, **recomendamos que pessoas alérgicas a crustáceos ou ácaros não participem dessa pesquisa.**

FORMA DE ACOMPANHAMENTO E ASSISTÊNCIA: Após a pesquisa, caso você apresente alguma dúvida quanto às perguntas e queira melhor esclarecimento sobre o tema, você poderá entrar em contato com a pesquisadora responsável através de telefone ou email. Caso, após a pesquisa, a pesquisadora identifique necessidade de acompanhamento por parte de profissional da saúde em quaisquer aspectos relacionados à participação na pesquisa, você será encaminhado adequadamente para assistência integral, imediata e gratuita de sua cidade.

GARANTIA DE ESCLARECIMENTO, LIBERDADE DE RECUSA E GARANTIA DE SIGILO: Você será esclarecido(a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios. O(s) pesquisador(es) tratará(ão) a sua identidade, seus dados e as informações obtidas nesse estudo com padrões profissionais de sigilo. Os resultados dessa pesquisa serão enviados para você através

de email, após sua completa conclusão e publicação. Sua identidade será mantida em sigilo. Qualquer material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. Você não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Uma via deste consentimento informado será arquivada pelo pesquisador pelo prazo de 5 anos e outra será fornecida a você.

CUSTOS DA PARTICIPAÇÃO, RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO POR EVENTUAIS DANOS: A participação no estudo não acarretará custos para você. Caso a sua participação na pesquisa implique em despesas ou dela decorrentes (referentes à alimentação e transporte), essas serão ressarcidas pelo pesquisador, mediante comprovação das mesmas, no entanto não haverá pagamento a você pela sua participação nessa pesquisa. Caso você venha a sofrer qualquer tipo de dano resultante de sua participação na pesquisa ou dela decorrente, previsto ou não nesse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, lhe é garantida indenização por parte do pesquisador.

DECLARAÇÃO DO SUJEITO E/OU DO RESPONSÁVEL LEGAL:

Eu, _____ fui informado(a) dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações e motivar minha decisão se assim o desejar. Os pesquisadores certificaram-me de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais. Também sei que caso existam gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa. Em caso de dúvidas e esclarecimentos poderei contatar a pesquisadora Eliana Janet Sanjinez Argandoña ou ainda o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Grande Dourados.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma via desse termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer todas as minhas dúvidas.

_____, ____ de _____ de ____.

Assinatura do participante

Assinatura do pesquisador

RG: _____

Telefone: _____

PESQUISADORA RESPONSÁVEL:

Eliana Janet Sanjinez Agandoña – Professora da Universidade Federal da Grande Dourados/
Fone: (67) 98143-5222/ email: elianaargandona@ufgd.edu.br

**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS.**

Endereço: rua Melvin Jones, 940 - Jardim América, Dourados-MS. CEP: 7.9803-010. [Telefone: \(67\) 34102853](tel:(67)34102853) / E-mail: cep@ufgd.edu.br.

ANEXO 3

FICHA DE ANÁLISE SENSORIAL

Nome: _____

Idade: _____ Sexo: ()M ()F Data: __/__/__

Você está recebendo três amostras ordenadas e codificadas de barra alimentícia. Avalie cada amostra conforme a escala à esquerda. Preencha também o código de cada amostra.

- 1 – Desgostei muitíssimo
- 2 – Desgostei muito
- 3 – Desgostei regularmente
- 4 – Desgostei ligeiramente
- 5 – Indiferente
- 6 – Gostei ligeiramente
- 7 – Gostei regularmente
- 8 – Gostei muito
- 9 – Gostei muitíssimo

	Valor dos atributos		
Nº da amostra			
Aparência			
Cor			
Aroma			
Textura			
Gosto residual			
Doçura			
Aceitação global			

Se você encontrasse estes produtos à venda, <u>considerando que possuem elevado teor proteico e que o preço não seja problema</u> , indique a sua intenção de compra: 5- Certamente compraria 4- Provavelmente compraria 3- Talvez compraria/talvez não compraria 2- Provavelmente não compraria 1- Certamente não compraria	Nº da amostra	Nota

Comentários (opcional):
