



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE
ALIMENTOS

**O POTENCIAL USO DE INSETOS COMESTÍVEIS: BARATA CINÉREA E
TENÉBRIO COMUM**
ANDRESSA JANTZEN DA SILVA LUCAS

Dr. CARLOS PRENTICE-HERNÁNDEZ (*in memoriam*)

Dra. VILÁSIA GUIMARÃES MARTINS

Orientador

RIO GRANDE, RS

2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DE RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE
ALIMENTOS

**O POTENCIAL USO DE INSETOS COMESTÍVEIS: BARATA CINÉREA E
TENÉBRIO COMUM**
ANDRESSA JANTZEN DA SILVA LUCAS

Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do
título de Doutor em Engenharia
e Ciência de Alimentos.

Dr. CARLOS PRENTICE-HERNÁNDEZ (*in memoriam*)
Dra. VILÁSIA GUIMARÃES MARTINS
Orientador

RIO GRANDE, RS

2021

Ficha Catalográfica

L933p Lucas, Andressa Jantzen da Silva.
O potencial uso de insetos comestíveis: barata Cinérea e Tenébrio comum / Andressa Jantzen da Silva Lucas. – 2021.
170 f.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Rio Grande/RS, 2021.
Orientador: Dr. Carlos Prentice-Hernández (*in memoriam*).
Orientadora: Dra. Vilásia Guimarães Martins.

1. Entomofagia 2. Caracterização 3. Lipídios 4. Proteínas
5. Quitina I. Prentice-Hernández, Carlos II. Martins, Vilásia Guimarães
III. Título.

CDU 565.7:612.3

Catálogo na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344

APROVAÇÃO

Tese defendida por Andressa Jantzen da Silva Lucas, com orientação da Prof. Dra. Vilásia Guimarães Martins, aprovada em 05 de outubro de 2021, pela Comissão Examinadora constituída pelos membros:



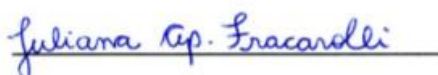
Prof. Dra. Vilásia Guimarães Martins - FURG



Prof. Dra. Myriam de las Mercedes Salas Mellado– FURG



Prof. Dra. Meritane da Rocha – FURG



Prof. Dra. Juliana Aparecida Fracarolli- UNICAMP

À meu avô, por ter me deixado a maior herança que alguém poderia receber: o conhecimento.

À meu marido e filho por compartilharem a vida.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me colocado no lugar certo, na hora certa, rodeada de pessoas especiais, e principalmente por guiar meu caminho.

Agradeço a minha mãe Lisane, por ter abdicado de sua vida para cuidar da minha, por sempre ter estado ao meu lado em todos os momentos, pela amizade verdadeira, pelo apoio de cada dia. Obrigada por todos os pães e bolos de insetos que fizemos juntas! Me espelho em ti e sempre te carrego comigo.

Agradeço imensamente aos meus avós, Frederico (*in memorian*) e Neuza, por terem me dado todo o suporte para que eu conseguisse chegar até aqui. Obrigada por terem me mostrado que o conhecimento é algo que carregaremos para o resto de nossas vidas e com ele chegamos longe. E principalmente obrigado por acreditarem que sou capaz. Você, onde quer que esteja, tenho certeza que está muito orgulhoso por mais esta conquista. Te levo do lado esquerdo do peito, sempre. Saudades.

Agradeço com imenso amor ao meu esposo Hugo, por estar sempre ao meu lado, olhando na mesma direção, mesmo que esta acabe nos levando para caminhos diferentes. Sei que tua torcida e teu apoio são incondicionais, também sei o quanto acreditas em mim e isto com certeza me dá forças para seguir o meu caminho. Obrigada por ter sido meu pai, meu companheiro, meu amigo. Por ter me feito enxergar as coisas quando tudo parecia tão impossível. Por segurar as pontas sempre que eu preciso! Obrigada por acreditar que um dia chegaremos lá. Obrigada pela família que construímos.

Agradeço ao meu filho Francisco, meu pequeno gafanhoto, por me dedicar o amor mais puro que existe neste mundo apenas com um olhar. Obrigada por ter feito eu me tornar uma pessoa melhor. Se eu cheguei até aqui com certeza foi pensando em te dar um futuro digno, em ser exemplo para ti durante tua vida. Tenho certeza que minhas ausências um dia serão entendidas, mesmo que leve algum tempo para isso! Obrigada por ter me escolhido, sigo minha caminhada sempre pensando em ti, na nossa família.

Agradeço a minha sogra Adriana, minha terceira mãe, por ter me dado todo apoio e incentivo que precisei durante esta caminhada. O amor que dedicas ao Francisco não tem preço. Obrigada por se fazer sempre presente nos mais diversos momentos da minha vida, saber que posso contar contigo torna a vida mais leve.

Agradeço a minha irmã Gisele, por estar sempre presente em nossas vidas. És muito especial para mim e para o Francisco. Segue teu caminho que tenho certeza que ele vai ser sempre belo e iluminado.

A todos aqueles que de uma forma ou outra contribuíram para que eu chegasse até aqui, o meu muito obrigada! Palavras não descreveriam o quão agradecida eu sou, levarei sempre cada um de vocês em meu coração. Saber que eu sou rodeada de pessoas especiais e que me querem tão bem faz tudo valer a pena. Obrigada mais uma vez a minha mãe, meus avós e meus sogros. Obrigada a minha irmã Gisele e minha irmã do coração, Juliana. Meus cunhados Juliana e Gabriel. Aos avós do meu marido, Dana Maria José (*In memorian*), Seu Hugo e Dona Marion, e um obrigada também para Lili.

Agradeço saudosamente, ao meu orientador Professor Carlos Prentice (*in memoriam*). Aprender com os grandes nos torna grande. Para mim não existe ato mais grandioso do que o de ensinar. Em um mundo onde cada vez mais as pessoas só olham para si e por si mesmas, querer passar o seu conhecimento para que o outro um dia chegue onde você está é a maior prova de comprometimento consigo e com o próximo! Obrigada por ter me passado seu conhecimento, obrigada por todo ensinamento. Jamais terei palavras para agradecer todo apoio e incentivo em relação a minha pesquisa. Nosso tempo trabalhando juntos foi muito menor do que eu imaginava, porém o suficiente para finalizar o que nos propusemos! Onde quer que esteja: Divirta-se.

Agradeço também a Professora Myriam de las Mercedes Salas Mellado. Sem sua orientação inicial, há 6 anos, nada disso teria sido possível. Obrigada por ter se envolvido, participado e feito de tudo para que nosso pãozinho de barata ganhasse o mundo. Jamais esquecerei a oportunidade e o voto de confiança. A Senhora e o Professor Carlos foram meus maiores incentivadores e disso não esquecerei jamais.

Agradeço a Professora Vilásia Martins, por, no meio de uma pandemia e frente a todas as adversidades, ter aceitado me orientar. Te admiro como profissional e gostaria de ter desenvolvido mais um artigo sob tua orientação. Obrigada por estar ao meu lado durante minha defesa. Obrigada por tornar este momento possível.

Aos meus colegas de laboratório, obrigada por simplesmente serem vocês, obrigada por estarem sempre ao meu lado, por me ensinarem tanto, pelos momentos de risada e pelos momentos de desespero também. Obrigada pelo simples fato estarem ali a qualquer momento. Aprendi com a vida que as pessoas certas aparecem na hora certa! Obrigada pelas conversas, pelos causos compartilhados, pelos almoços da “firma” e também pelos almoços diários, obrigada pelo conhecimento científico compartilhado e pelo inútil também, a final foram estes que fizeram o doutorado ser tão leve! Obrigada pelo tempo de qualidade que passamos juntos, gostaria que ele fosse para sempre!

Agradeço aos “caroneiros”, principalmente à Anelise e Eliezer, por simplesmente fazerem o trajeto Pelotas - Rio Grande ser a melhor hora do dia! Guardei cada risada no meu potinho da felicidade, cada enquete no meu potinho da vergonha, cada fofoca no meu potinho da evolução e cada um de vocês no potinho da amizade! Espero ainda poder compartilhar muitos momentos de risadas e alegrias.

Agradeço a todos aqueles que trabalharam juntamente comigo durante o doutorado. Foram quatro artigos publicados e um livro escrito. Nenhum deles feito sozinha. Acredito que o conhecimento quando compartilhado se torna muito maior. E foi isso que fiz durante minha jornada. Agradeço ao Alan, Anelise, Eliezer, Fabrício, Héctor, Helena, Juliana, Lauren e Meritaine por terem colaborado e engrandecido meu estudo. Para mim é uma honra ter meu nome ao lado do de vocês no meio científico. Seguiremos, sempre.

À minha bolsista de iniciação científica, que mesmo tendo trabalhado pouco comigo sempre se mostrou disposta e curiosa em relação ao trabalho! Carol, valeu por tudo, principalmente pelos “chás de banco” durante as hirólises. Segue teu caminho com dedicação, vais longe!

Obrigada aos meus amigos por entenderem minhas ausências e principalmente por caminharem ao meu lado. Os conselhos de vocês e as palavras de incentivo me fazem chegar

mais longe! Vocês são meus exemplos de pessoas, tenho orgulho do que cada um de nós se tornou! Obrigada por simplesmente estarem aí.

À todos os professores que contribuíram, de alguma maneira, para minha formação durante o doutorado.

Aos membros da banca examinadora pela contribuição valiosa à melhoria do trabalho. Vocês foram escolhidas porque é em profissionais como vocês que me espelho quando olho para o futuro. Obrigada por estarem aqui e terem feito parte da minha jornada.

Agradeço à FURG, por permitir um estudo de qualidade e de referência.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos, CNPq e FAPERGS pelo apoio financeiro ao projeto.

“Sed fugit interea, fugit irreparabile tempus”

Vírgilio Maro

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Comparação entre o grau de desacetilação para amostras de quitosana obtidas a partir de insetos utilizando diferentes métodos de extração.....	46
ARTIGO I	
Tabela 1 – Nutrientes, minerais e composição vitamínica de quatro espécies de insetos comestíveis (base seca).....	58
Tabela 2 – Comparação entre aminoácidos de diferentes fontes.....	60
Tabela 3 - Comparação entre ácidos graxos de diferentes fontes.....	64
ARTIGO II	
Tabela 1- Composição proximal da barata cinérea (<i>Nauphoeta cinerea</i>) fresca em diferentes estágios do desenvolvimento (média $\pm$ desvio padrão) (base seca).....	92
ARTIGO III	
Tabela 1 - Composição proximal de barata cinérea (<i>Nauphoeta cinerea</i>) desidratada e congelada (em base seca).....	103
Tabela 2 – Conteúdo de umidade e proteínas dos diferentes hidrolisados.....	108
ARTIGO IV	
Tabela 1- Caracterização de matéria-prima, quitina e quitosana extraída de cutícula de <i>Tenebrio molitor</i> , comparada com a quitosana comercial (%) (média $\pm$ desvio padrão).....	123
Tabela 2 - Calorimetria diferencial de varredura (DSC) de quitina e quitosana extraída de cutículas de <i>Tenebrio molitor</i> , em comparação com a quitosana comercial.....	130

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ecdise de barata cinérea (<i>Nauphoeta cinerea</i>).....	38
Figura 2 – Barata cinérea (<i>Nauphoeta cinerea</i>) adulta e ninfa.....	38
Figura 3 – Ooteca de barata cinérea (<i>Nauphoeta cinerea</i>).....	38
Figura 4 – Eclosão de ovos de barata cinéres (<i>Nauphoeta cinerea</i>).....	39
Figura 5 – Metamorfose de <i>Tenebrio molitor</i>	41
Figura 6 – <i>Tenebrio molitor</i> adulto.....	41

ARTIGO III

Figura 1 – Grau de hidrólise dos diferentes hidrolisados proteicos obtidos.....	106
--	-----

ARTIGO IV

Figura 1 – Calorimetria diferencial de varredura (DSC) de (A) quitina e (B) quitosana extraídas de cutículas de <i>Tenebrio molitor</i> , e (C) quitosana comercial.....	131
Figura 2 - Espectro de FTIR de (a) quitina e (b) quitosana extraída das cutículas de <i>Tenebrio molitor</i> e (c) quitosana comercial.....	132
Figura 3 - Padrão de DRX de (a) quitina e (b) quitosana extraída das cutículas de <i>Tenebrio molitor</i> e (c) quitosana comercial.....	133
Figura 4 - Curvas TGA de (a) quitina e (b) quitosana extraídas de cutículas <i>Tenebrio molitor</i> e (c) quitosana comercial.....	136
Figura 5 - Imagem MEV de (a) quitina com ampliação de 50 x e (b) ampliação de 500 x, (c) quitosana comercial com ampliação de 50 x e (d) ampliação de 500 x, (e) quitosana obtida a partir de cutículas de <i>Tenebrio molitor</i> com ampliação de 50 x e (f) 500 x ampliação.....	137

SUMÁRIO

CAPÍTULO I: RESUMO GERAL, ABSTRACT GERAL, INTRODUÇÃO GERAL E OBJETIVOS.....	23
RESUMO.....	25
ABSTRACT.....	27
1 INTRODUÇÃO.....	29
2 OBJETIVOS.....	33
2.1 OBJETIVO GERAL.....	33
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
CAPÍTULO II: REVISÃO DA LITERATURA.....	35
1 REVISÃO DA LITERATURA.....	37
1.1 BARATA CINÉREA (<i>Nauphoeta cinerea</i>).....	37
1.2 TENÉBRIO COMUM (<i>Tenebrio molitor</i>).....	40
1.3 INSETOS COMO FONTE DE QUITINA E/OU QUITOSANA.....	44
CAPÍTULO III: DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO.....	49
ARTIGO I: INSETOS COMESTÍVEIS: UMA ALTERNATIVA DE COMPOSTOS NUTRICIONAIS, FUNCIONAIS E BIOATIVOS.....	51
RESUMO.....	53
1 INTRODUÇÃO.....	53
2 RELEVÂNCIA DA ENTOMOFAGIA.....	55
3 RISCOS INERENTES AO SE CONSUMIR INSETOS.....	56
4 INSETOS COMESTÍVEIS COMO COMPONENTE DA DIETA HUMANA.....	57
4.1 INSETOS COMO FONTE DE PROTEÍNA.....	59
4.2 INSETOS COMO FONTE DE LIPÍDIOS.....	63
5 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DOS HIDROLISADOS PROTEICOS DE INSETOS.....	66
6 PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DAS PROTEÍNAS DE INSETOS.....	68
6.1 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE INSETOS.....	68
6.2 PEPTÍDEOS ANTIOXIDANTES.....	70
6.3 ATIVIDADE INIBIDORA DA DIPEPTIDIL PEPTIDASE IV (DPP-IV).....	73
6.4 ATIVIDADE INIBITÓRIA DA ENZIMA CONVERSORA DA ANGIOTENSINA (ECA).....	74
6.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	75

7 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	76
8 CONCLUSÃO.....	77
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	77
ARTIGO II: COMO OS DIFERENTES ESTÁGIOS DO DESENVOLVIMENTO INTERFEREM NA COMPOSIÇÃO PROXIMAL DA BARATA CINÉREA (<i>Nauphoeta cinerea</i>).....	87
RESUMO.....	89
1 INTRODUÇÃO.....	89
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	90
2.1 MATÉRIA-PRIMA.....	90
2.2 ABATE.....	91
2.3 COMPOSIÇÃO PROXIMAL DA BARATA CINÉREA.....	91
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	91
4 CONCLUSÃO.....	93
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93
ARTIGO III: EFEITOS DAS DIFERENTES CONDIÇÕES DE PROCESSO NA AVALIAÇÃO DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BARATA CINÉREA (<i>Nauphoeta cinerea</i>).....	97
RESUMO.....	99
1 INTRODUÇÃO.....	99
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	101
2.1 MATERIAIS.....	101
2.2 MÉTODOS.....	101
2.2.1 Pré-tratamento.....	101
2.2.2 Caracterização da matéria-prima.....	102
2.2.3 Hidrólise enzimática.....	102
2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	103
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	103
3.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA.....	103
3.2 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA.....	105
3.3 CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROLISADOS PROTEICOS.....	108
4 CONCLUSÃO.....	109
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	109

ARTIGO IV: EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E PROPRIEDADES MORFOLÓGICAS DE QUITINA E QUITOSANA OBTIDAS DAS CUTÍCULAS DE INSETOS COMESTÍVEIS.....	113
RESUMO.....	115
1 INTRODUÇÃO.....	115
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	117
2.1 MATERIAIS.....	117
2.2 MÉTODOS.....	117
2.2.1 Obtenção da amostra e pré-tratamento.....	117
2.2.2 Desproteínização enzimática.....	118
2.2.3 Desacetilação da quitina.....	119
2.3 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS E AVALIAÇÃO.....	119
2.3.1 Teor de umidade, cinzas, proteína e lipídios.....	119
2.3.2 Grau de desacetilação.....	119
2.3.3 Solubilidade.....	120
2.3.4 Rendimento.....	120
2.4 CARACTERIZAÇÃO.....	121
2.4.1 Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	121
2.4.2 Espectroscopia no infravermelho (FTIR).....	121
2.4.3 Difração de Raio-X (DRX).....	121
2.4.4 Análise termogravimétrica (TGA).....	122
2.4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	122
2.4.6 Análise estatística.....	122
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	122
3.1 TEOR DE UMIDADE, CINZAS, PROTEÍNA E LIPÍDIOS.....	122
3.2 DESPROTEINIZAÇÃO ENZIMÁTICA.....	124
3.3 GRAU DE DESACETILAÇÃO.....	126
3.4 SOLUBILIDADE.....	127
3.5 RENDIMENTO.....	128
3.6 CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC).....	129
3.7 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FTIR).....	131
3.8 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX).....	133
3.9 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA).....	135
3.10 MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA (MEV).....	137
4 CONCLUSÃO.....	138
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	139
CAPÍTULO IV: CONCLUSÃO GERAL.....	143
1 CONCLUSÃO GERAL.....	145
CAPÍTULO V: CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	147
1.1 RESÍDUOS GERADOS E DESTINO.....	149

1.2 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	149
CAPÍTULO VI: REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	151
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	153

CAPÍTULO I

RESUMO GERAL, ABSTRACT GERAL, INTRODUÇÃO GERAL E OBJETIVOS

RESUMO

A ingestão de insetos tornou-se uma nova tendência nas ciências alimentícias desde 2013, quando a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) publicou um documento intitulado “Insetos comestíveis: perspectivas futuras de segurança alimentar e nutricional”. Desde então, um número crescente de pesquisas relacionando insetos como fonte de alimentos vem surgindo. Nesse sentido, a presente tese teve como objetivo principal aprofundar o conhecimento acerca do tema insetos comestíveis na alimentação humana. Inicialmente foi realizado um estudo teórico descrevendo e comparando a composição nutricional, a funcionalidade e os compostos bioativos presentes em diferentes insetos, bem como assuntos relacionados a entomofagia e os possíveis riscos envolvidos. Na parte prática do estudo foram utilizadas duas espécies diferentes de insetos, barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*) e tenébrio comum (*Tenebrio molitor*). No artigo II, a barata cinérea foi caracterizada em diferentes estágios do seu desenvolvimento (ninfas, adultos e ambos), a fim de se observar diferenças em sua composição. Foram realizadas análises de umidade, cinzas, lipídios e proteínas. O teor de carboidratos foi estimado por diferença. Ao observar os resultados, pôde-se concluir que a barata cinérea apresenta um maior teor de lipídios no estágio de ninfa (41,7 %), bem como um maior teor de proteínas na fase adulta (68,5 %) tornando-se evidente qual estágio do desenvolvimento deve ser utilizado para extração e estudo específicos das frações. No artigo III, foram elaborados hidrolisados proteicos provenientes da barata cinérea em duas condições, desidratada e congelada, utilizando duas enzimas proteolíticas, Alcalase e Protamex, a fim de avaliar o efeito destas na obtenção dos hidrolisados. Os hidrolisados (10 % de proteína; m/v) foram realizados utilizando as duas enzimas (3 %; m/m) em pH 8,0 e a 50 °C pelo método *de pH-Stat*, até grau de hidrólise (GH) constante. Em relação ao GH, verificou-se que o hidrolisado proteico de barata desidratada obtido em 260 min de hidrólise com Alcalase, apresentou o maior GH (17,01 %), em relação aos demais. No entanto, os hidrolisados proteicos de barata congelada e desidratada obtidos com Protamex mostraram conteúdo significativamente superior de proteínas com 74,6 % e 73,2 %, respectivamente, em relação aos hidrolisados elaborados com Alcalase. No artigo IV, a quitina presente nas cutículas de *Tenebrio molitor* foi obtida biotecnologicamente em uma etapa de desproteínização enzimática e após desacetilada. Diferenças nas propriedades físico-químicas e nas características das cutículas, quitina e quitosana foram investigadas. Quitosana comercial com alto grau de desacetilação foi utilizada como referência para validação dos métodos. A desproteínização enzimática utilizada para obter quitina mostrou eficiência de 85 %. O rendimento global do processo (cutícula para quitosana) foi de 31,9%. Os resultados da caracterização desses polímeros utilizando as técnicas DSC, FT-IR, DRX, TGA e MEV demonstraram consistência com o grau de desacetilação da quitosana obtida, permitindo a diferenciação entre quitina e quitosana. Os estudos realizados, demonstraram o potencial uso de diferentes insetos como fonte alternativa na alimentação, no entanto, a suplementação de produtos alimentícios com insetos requer um grande conhecimento das características físico-químicas desses ingredientes, bem como de sua funcionalidade ou bioatividade, deixando claro a necessidade de estudos futuros.

Palavras-chave: Entomofagia. Caracterização. Lipídios. Proteínas. Quitina.

THE POTENTIAL USE OF EDIBLE INSECTS: CINEREOUS COCKROACH AND MEALWORM

ABSTRACT

Insect ingestion has become a new trend in the food sciences since 2013 when the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) published a document entitled “Edible insects: future perspectives for food and nutritional security”. Since then, an increasing number of researches relating insects as a food source has been emerging. In this sense, the present thesis had as main objective to deepen the knowledge about edible insects in human food. Initially, a theoretical study was carried out describing and comparing the nutritional composition, functionality, and bioactive compounds present in different insects, as well as subjects related to entomophagy and the possible risks involved. In the practical part of the study, two different species of insects were used, lobster cockroach (*Nauphoeta cinerea*) and mealworm (*Tenebrio molitor*). In article II, the lobster cockroach was characterized in different stages of its development (nymph, adult, and both), to observe differences in its composition. Analyzes of moisture, ash, lipids, and proteins were carried out. The carbohydrate content was estimated by difference. By observing the results, it was possible to conclude that the lobster cockroach has a higher lipid content in the nymph stage (41.7 %), as well as a higher protein content in the adult phase (68.5 %), becoming evident which stage of development should be used for specific extraction and study of fractions. In article III, protein hydrolysates from the lobster cockroach were made in two conditions, dehydrated and frozen, using two proteolytic enzymes, Alcalase and Protamex, to evaluate their effect on obtaining the hydrolysates. The hydrolysates (10 % protein; m/v) were carried out using the two enzymes (3 %; m/m) at pH 8.0 and 50 °C by the pH-Stat method until the degree of hydrolysis (DH) becomes constant. Regarding DH, it was found that the dehydrated cockroach protein hydrolyzate obtained in 260 min of hydrolysis with Alcalase, presented the highest DH (17.01 %), in relation to the others. However, the frozen and dehydrated cockroach protein hydrolysates obtained with Protamex showed significantly higher protein content with 74.6 % and 73.2 %, respectively, compared to the hydrolysates made with Alcalase. In article IV, the chitin present in the cuticles of mealworm was obtained biotechnologically in an enzymatic deproteinization stage and after deacetylated. Differences in physical-chemical properties and characteristics of cuticles, chitin, and chitosan were investigated. Commercial chitosan with a high degree of deacetylation was used as a reference for validating the methods. The enzymatic deproteinization used to obtain chitin showed an efficiency of 85 %. The overall yield of the process (cuticle to chitosan) was 31.9 %. The results of the characterization of these polymers using the DSC, FT-IR, DRX, TGA, and SEM techniques demonstrated consistency with the degree of deacetylation of the chitosan obtained, allowing the differentiation between chitin and chitosan. The studies carried out showed the potential use of different insects as an alternative source in the food, however, supplementation of food products with insects requires a great knowledge of the physical-chemical characteristics of these ingredients, as well as their functionality or bioactivity, making clear the need for further studies.

Keywords: Entomophagy. Characterization. Lipids. Proteins. Chitin.

1 INTRODUÇÃO

A palavra sustentabilidade vem ganhando força no mundo em que vivemos à medida que a necessidade por novas fontes de alimentos vem surgindo. Estudos recentes sugerem que uma possível alternativa seria utilizar as proteínas, óleos e fibras oriundos de insetos comestíveis como matriz alimentar em substituição aos já existentes (LUCAS et al., 2020b). De acordo com Springmann et al. (2018) o sistema alimentar global é um dos principais impulsionadores dos encargos ambientais e entre os anos de 2010 e 2050, isso poderá aumentar de 50 a 90 % na ausência de mudanças tecnológicas e medidas de mitigação.

A entomofagia, ou ato de comer insetos surgiu com os primeiros homínídeos. Evidências recentes sugerem que há 1,8 milhão de anos atrás os insetos eram considerados uma importante fonte de alimento na Tanzânia, no entanto, no que diz respeito às culturas ocidentais, pode-se observar que o ato de comer insetos aos poucos, vem ganhando impulso. Aproximadamente 113 países em todo o mundo praticam entomofagia. Os insetos são consumidos de diferentes formas por cerca de 2 bilhões de pessoas, predominantemente em partes da Ásia, África e América Latina, tendo mais de 2100 espécies já catalogadas como comestíveis (JONGEMA, 2017).

Nos últimos cinco anos, o conhecimento científico sobre o uso de insetos na alimentação humana ou como uso em rações animais vêm crescendo exponencialmente. O mesmo ocorre com o setor industrial, que está cada vez mais engajado na criação, processamento e comercialização de insetos comestíveis. Prevê-se que a geração de proteína em pó à base de insetos seja ambientalmente mais benéfica do que produtos alimentares convencionais ricos em proteínas (VAN HUIS, 2020). A pergunta que fica é por que essa fonte de alimento foi ignorada por tanto tempo?

Em geral, insetos comestíveis são considerados como boas fontes de proteínas, lipídios, fibras, vitaminas e minerais. O consumo de 100 g de lagartas, por exemplo, fornece 76% da quantidade diária necessária de proteínas e quase 100% da quantidade diária necessária de vitaminas para os seres humanos (AGBIDYE; OFUYA; AKINDELE, 2009). Apenas três pupas do bicho-da-seda são consideradas tão ricas em nutrientes quanto um ovo de galinha, sua composição é de cerca de 50 % de proteínas e 30 % de lipídios (MITSUHASHI, 2010). A concentração de proteína nas várias espécies de insetos é geralmente muito elevada (50-70% em base seca) (SOSA; FOGLIANO, 2017) e apresentam um excelente perfil de aminoácidos e ácidos graxos (OLIVEIRA et al., 2017). A principal

vantagem dos insetos sobre outras fontes de proteína é o baixo custo ambiental da produção, que se torna essencial para satisfazer o aumento da demanda global proteica (VAN HUIS et al., 2013).

A maior parte da atenção dada aos insetos como fonte de alimento concentra-se no conteúdo proteico dos mesmos. No entanto, os lipídios também podem ser considerados um componente principal dos insetos e podem ser obtidos durante o isolamento das proteínas (AMARENDER et al., 2020; YI et al., 2013). Geralmente, o conteúdo lipídico presente nos insetos varia de 10 a 50 % do seu peso seco e apresentam maior quantidade de ácidos linoleico (18: 2 n-6) e α -linolênico (18: 3 n-3) quando comparados a outras fontes animais e vegetais (LUCAS et al., 2020b). O teor de ácidos graxos contido nos insetos está relacionado a diferentes fatores, como por exemplo, o diferente estágio de vida destes artrópodes. Em estudo recente sobre como os diferentes estágios do desenvolvimento interferem na composição proximal da barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*) evidenciou-se tal afirmação, uma vez que o conteúdo lipídico presente na ninfa do inseto foi de 41,7 %, quase o dobro do obtido no inseto adulto (22,5 %) (LUCAS; OLIVEIRA; PRENTICE, 2019).

A fração insolúvel (sacarídica) dos insetos, normalmente resultante da obtenção de lipídios e proteínas ou obtida após ecdise dos mesmos, também vêm sido discutida como potencial uso para obtenção de quitina/quitosana (LUCAS et al., 2020a, LUO et al., 2019). A quitina é um polímero de cadeia longa de N-acetil glucosamina. Em insetos, serve como um material de suporte que sustenta as cutículas da epiderme, traquéia e peritrófica, matrizes que revestem o epitélio intestinal. O crescimento do inseto é altamente dependente da capacidade de remodelar estruturas contendo quitina, por causa disso, os insetos produzem continuamente quitina sintases e enzimas chinolíticas em diferentes tecidos do corpo do inseto (BERTELSEN, 2016; SHADIDI; ARACHCHI; JEON, 2011).

A quitina pode ser extraída do exoesqueleto de insetos por tratamento com ácido para dissolver o carbonato de cálcio seguido por extração alcalina para solubilizar o conteúdo de proteína presente. Quando o grau de desacetilação da quitina atinge cerca de 50 %, dependendo da origem do polímero, esta, torna-se solúvel em meio ácido aquoso e é denominada quitosana. Esses tratamentos devem ser adaptados a cada fonte de quitina, devido às diferenças na ultraestrutura dos materiais iniciais. Os estudos demonstraram, por exemplo, que a quitina/quitosana extraída de insetos possui melhor característica do que quando extraídas de cascas de camarão ou carapaças de carangueijo (WANG et al., 2004). Estudos também indicam que a quitina e seu derivado quitosana possuem atividade antioxidante, anticancerígena, anti-inflamatória, dentre outras (PARK; KIM, 2010), no entanto, o uso de

quitina/quitosana extraídas a partir de insetos é um campo que ainda precisa ser mais explorado e pesquisado.

Como a maioria dos problemas da ciência, a entomofagia é uma nova idéia com prós e contras. Embora os insetos sejam considerados como uma boa fonte de nutrição, eles também podem apresentar riscos à saúde. Apesar de estes artrópodes sejam consumidos por humanos há milhões de anos, ainda pouco se sabe sobre suas propriedades nutricionais, biológicas e funcionais. Logo, é de extrema importância que estudos mais aprofundados sejam realizados a fim de se tentar compreender os mecanismos desta nova fonte de alimentos que está sendo proposta. Mediante o exposto, este estudo teve como objetivo principal aprofundar o conhecimento sobre o potencial uso de insetos comestíveis na alimentação humana.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Aprofundar o conhecimento sobre o potencial uso de insetos comestíveis na alimentação humana.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Fazer uma revisão bibliográfica a cerca do tema insetos comestíveis na alimentação humana;
- Caracterizar os diferentes insetos utilizados durante este estudo (*Nauphoeta cinerea* e *Tenebrio molitor*) quanto sua composição química;
- Comparar o teor proteico e lipídico da barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*), em diferentes estágios de desenvolvimento;
- Obter hidrolisados proteicos da barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*) utilizando as enzimas Alcalase e Protamex;
- Comparar os diferentes graus de hidrólise obtidos a partir de barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*) desidratada e congelada;
- Obter quitina a partir de exoesqueleto de tenébrio comum (*Tenebrio molitor*) através de processo biotecnológico (enzimático) e caracterizá-la quanto às suas propriedades físico-químicas, estruturais e térmicas;
- Produzir quitosana, a partir da desacetilação química da quitina, e caracterizá-la quanto às suas propriedades físico-químicas, estruturais e térmicas;
- Comparar os resultados obtidos com uma quitosana comercial.

CAPÍTULO II
REVISÃO DA LITERATURA

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 BARATA CINÉREA (*Nauphoeta cinerea*)

As baratas representam um dos insetos mais primitivos e datam de cerca de 340 milhões de anos, de acordo com registros fósseis. Existem mais de 3500 espécies em todo o mundo e novas espécies são adicionadas à lista a cada ano. A maioria das espécies está concentrada ao sul do equador nas florestas quentes e fotossinteticamente ricas. Embora a maioria das espécies existam na natureza (espécies selvagens), aproximadamente 50 são consideradas domésticas (vivem dentro de casa) ou peridomésticas (vivem em torno de estruturas artificiais) (GORDON, 1996).

Dentre as diversas espécies de baratas existentes podemos citar a Barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*), também popularmente conhecida como Barata salpicada ou Barata lagosta (Ordem: Blattodea, Família: Blaberidae). Esta é originária da África apresentando ampla distribuição geográfica devida sua fácil associação com seres humanos. Os indivíduos adultos apresentam uma coloração que varia do cinza matizado ao marrom claro, medindo em média de 2,5 a 2,9 cm de comprimento, apresentando um peso corporal de $0,5 \pm 0,03$ g (SANTOS et al., 2016). O pronoto (segmento torácico) apresenta um desenho característico, as asas são manchadas e não cobrem o abdômen. O corpo das baratas é dividido em cabeça, tórax e abdômen, e possuem três pares de pernas saindo do tórax. As pernas são compostas por coxa, fêmur, tíbia e tarso, recobertas por pelos sensoriais (MONGEAU et al., 2015).

A barata cinérea vive aproximadamente 1 ano e realiza 8 ecdises (Figura 1) em média nesse período, estando aptas para reprodução em torno de 150 dias. Apresentam metamorfose incompleta (Figura 2), passando pelos estágios de ovo, ninfa e adulto, com a ausência do estágio imóvel (pupa). Estas são onívoras e aceitam tanto alimento animal quanto vegetal, embora deem preferência aos vegetais, alimentam-se desde cereais, amidos e açúcares e até mesmo couros. A maioria das espécies são forrageadoras agressivas e, no processo, liberam odores desagradáveis que emanam de alimento regurgitados, excrementos e fluidos exsudados das glândulas odoríferas abdominais. As baratas são ovovivíparas na qual algumas fêmeas são capazes de mudar de um modo de reprodução sexual para um modo assexual quando isoladas dos machos. A partenogênese facultativa pode ocorrer em algumas fêmeas. Na maioria das espécies de baratas os ovos são envolvidos por uma ooteca (Figura 3), que os protege do ambiente. A fêmea carrega os ovos até o momento da eclosão (Figura 4), contudo a membrana isola os ovos da mãe, não havendo troca de nutrientes (BENSON;

ZUNGOLI, 1997).

Figura 1 – Ecdise de barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*)



Figura 2 – Barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*) adulta e ninfa



Figura 3 – Ooteca de barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*)



Figura 4 – Eclosão de ovos de barata cinéres (*Nauphoeta cinerea*)



As baratas podem afetar adversamente a saúde humana por meio da contaminação de alimentos, transmissão de patógenos bacterianos e virais, estresse psicológico e sensibilização alérgica (GOVINDARAJ et al., 2016, KATIAL, 2003). No entanto, parece que este artrópode também pode apresentar usos potenciais para humanos. No oriente, especificamente na China, extrato de baratas da espécie *Periplaneta americana* são comercializados como forma de serem utilizados na medicina alternativa, aplicado especialmente para a cicatrização de feridas e úlceras (YAN et al., 2018). Na ciência, a utilização de baratas como organismo modelo já é bem estabelecida, amplamente aplicada em estudos de toxicologia e neurobiologia, devido ao seu sistema nervoso ser relativamente simples e bem caracterizado, aliado a isto, tem-se o fato da não necessidade de fatores éticos para a utilização dos invertebrados nos ensaios laboratoriais (HUBER; MASLER; RAO, 1990).

Em estudo recente, Oliveira et al. (2017) propuseram o uso de barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*) como forma de enriquecer proteicamente alimentos destinados para humanos. Os autores utilizaram as baratas secas para obtenção de uma farinha com 63,22 % de proteína e lipídios de alta qualidade. Diferentes concentrações (5, 10 e 15 %) desta farinha foram adicionadas na formulação de pão branco a fim de enriquecer proteicamente o produto. Os resultados obtidos demonstram que esta espécie possui um enorme potencial para ser utilizada na alimentação humana, uma vez que apenas 10% de farinha do inseto enriqueceu o pão em 133 % no teor de proteínas (aumentou de 9,7 % para 22,7 %). Os autores ainda reduziram em 64,53 % a quantidade de gordura adicionada na formulação do pão, uma vez que este inseto possui elevada concentração de lipídios de alto valor agregado.

Em estudo sobre como os diferentes estágios do desenvolvimento da barata

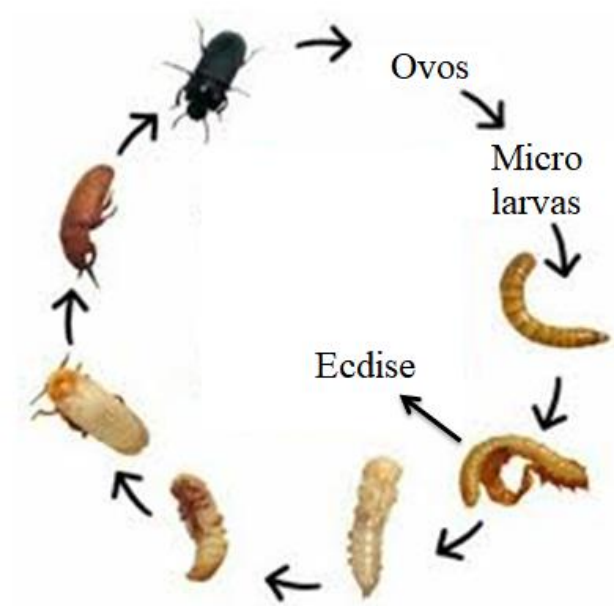
cinérea influenciam na sua composição proximal, Lucas, Oliveira e Prentice (2019) observaram que quanto mais jovem o inseto, maior o seu teor de lipídios e conforme este vai sofrendo mudas até chegar ao estágio adulto, seu teor lipídico diminui e o teor proteico aumenta. Na fase de ninfa o inseto apresentou 41,7 % de lipídios e 50 % de proteínas, já na fase adulta o valor de lipídios foi de 22,5 % e de proteínas de 68,5 %. O perfil lipídico e proteico de barata cinérea foi analisado por Oliveira et al. (2017).

Lucas et al. (2020a) elaboraram hidrolisados proteicos provenientes da barata cinérea em duas condições, desidratada e congelada, utilizando duas enzimas proteolíticas, Alcalase e Protamex, a fim de avaliar o efeito destas na obtenção de hidrolisados proteicos. As condições de hidrólise foram: 10 % (proteína/água, m/v) e 3 % (enzima/substrato, m/m) em pH 8,0 e a 50 °C pelo método de *pH-Stat*, até grau de hidrólise constante. O grau de hidrólise máximo foi obtido com 260 min de hidrólise. O tratamento com enzima Alcalase apresentou o maior grau de hidrólise (GH) para barata seca (17,01 %), em relação a barata congelada (11,34 %). Já o tratamento com enzima Protamex apresentou 6,54 % de grau de hidrólise para barata congelada e 8,75% para barata desidratada. Além disso, os hidrolisados proteicos de barata congelada e desidratada obtidos com Protamex mostraram conteúdo significativamente superior ($p < 0,05$) de proteínas com 74,6 % e 73,2 %, respectivamente, em relação aos hidrolisados elaborados com Alcalase.

1.2 TENÉBRIO COMUM (*Tenebrio molitor*)

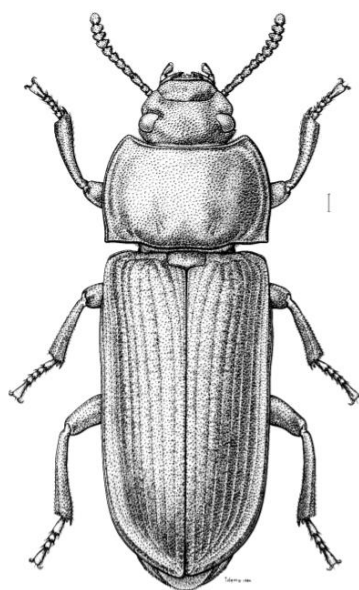
O tenébrio comum (*Tenebrio molitor*) é um coleóptero da família tenebrionidae (OONINCX; DE BOER, 2012). Os besouros do gênero tenébrio são pretos ou marrons escuros e têm de 13 a 17 mm de comprimento, nos estágios larval e adulto alimentam-se de produtos de grãos. As larvas são comumente chamadas de “larvas de farinha” e são bastante semelhantes às minhocas (TRIPLEHORN; JOHNSON, 2005). Possuem metamorfose completa passando por ovo, larva, pupa e adulto (Figura 5). A notável capacidade dos insetos de mudar de forma durante o ciclo de vida, de entrar em dormência em vários estágios de desenvolvimento e de se adaptar às mudanças ambientais, é possibilitada pelos processos de muda e ecdise. Cada estágio do desenvolvimento dos insetos é caracterizado por uma alternância entre alimentação e muda, culminando em ecdise (Figura 5). Durante esse processo, os insetos eliminam a cutícula antiga que circunda a superfície externa e o revestimento do tubo anterior, posterior e traqueal do sistema respiratório. Ocorrem cerca de 20 mudas no estágio larval (ZITNAN; ADAMS, 2012).

Figura 5 – Metamorfose de *Tenebrio molitor*



Adultos (Figura 6) e larvas se alimentam de uma ampla variedade de materiais de origem animal e vegetal, mas têm preferência por grãos e produtos de cereais úmidos e em decomposição (YVES, 1990). O besouro fêmea põe de 5 a 8 ovos por dia e cerca de 300 ovos durante a vida. Os besouros adultos vivem em torno de 1 a 3 meses (TRIPLEHORN; JOHNSON, 2005).

Figura 6 – *Tenebrio molitor* adulto



Fonte: YVES (1990)

O tenébrio comum faz parte das espécies de insetos que são consideradas comestíveis. Este é considerado como um item alimentar em diversos países ocidentais e asiáticos, como Bélgica, Holanda, Estados Unidos, Coréia, Japão e China, fato este que o levou a ser legalmente utilizado em produtos alimentares comerciais em países como Estados Unidos, China e Coréia (YOO et al., 2019). O mercado de larvas de farinha nos Estados Unidos era inicialmente para iscas de pesca, mas durante o final dos anos 1970 o mercado de ração para animais de estimação foi aberto, aumentando consideravelmente a demanda por insetos vivos (particularmente para répteis de estimação). Outro mercado importante para larvas de farinha nos Estados Unidos é a ração de aves canoras silvestres. As larvas são vendidas vivas, frescas ou secas e também na forma de pó, enlatadas ou embaladas em sacos (ORTIZ et al., 2016). A larva de *Tenebrio molitor* também é o inseto mais comumente criado na China. Estes são produzidos industrialmente, para uso doméstico e exportação, bem como alimentos para pessoas, animais de estimação e animais de zoológico, incluindo pássaros, répteis, pequenos mamíferos, anfíbios e peixes, e também para pássaros selvagens ao ar livre (RAMOS-ELORDUY; GONZALEZ, 2002). Alguns autores citam as larvas de *Tenebrio molitor* como sendo as mais adequadas para o processamento e consumo humano (NOWAK et al., 2016; VAN HUIS, 2020), além de serem objetos de pesquisas recentes (HAHN et al., 2019; LUCAS et al., 2021; LUO et al., 2019; MEGIDO et al., 2018; WILLIAMS et al., 2016).

Diversos estudos demonstram que esses insetos são ricos em proteínas, gorduras poliinsaturadas e minerais (cobre, sódio, potássio, ferro, zinco e selênio) (GONIL et al., 2012; HAHN et al., 2019; LUCAS et al., 2020b; WILLIAMS et al., 2016). Da mesma maneira como a barata cinérea (e demais insetos), a composição nutricional do *Tenebrio molitor* também varia de acordo com seu estágio de vida. Williams et al. (2016) realizou a comparação entre o adulto (cascudo) e a larva deste inseto e obteve valores de 63,7 % e 61,9 % de umidade, 65,3 % e 49,1 % de proteína, 14,9 % e 35,0 % de lipídios, 20,4 % e 6,6 % de fibras e 3,3 % e 2,4 % de cinzas, respectivamente. Valores de composição proximal da cutícula de larvas de *Tenebrio molitor* também são reportados na literatura (LUCAS et al., 2021). Os autores analisaram o material como fonte de obtenção de quitina e quitosana e obtiveram valores de 5,4 % de umidade, 3,7 % de cinzas, 36,8 % de proteínas, 1,1 % de lipídios e 53 % de carboidratos, os quais estão presentes, quase que em sua totalidade, na forma de fibras. No entanto, autores reportam que, devido a sua composição, um dos principais problemas no uso de larvas de tenébrio é a sua rápida decomposição. Aliado a isso, as larvas também contém níveis elevados de bactérias e enzimas, que podem auxiliar na

deterioração. Assim sendo, as larvas de *Tenebrio molitor* devem ser adequadamente tratadas e processadas (RUMPOLD; SCHLÜTER, 2015).

O *Tenebrio molitor* vem sendo objeto de estudo há anos. Finke et al. (1987) realizaram testes de alimentação avaliando o crescimento de ratos, galinhas e várias espécies de peixes e sugeriram que a proteína do inseto está prontamente disponível e possui qualidade proteica semelhantes ou ligeiramente superiores aos da farinha de pescado ou de soja. Ramos-Elorduy e Gonzalez (2002) sugeriu que as larvas de *Tenebrio molitor* apresentam uso potencial como fonte de proteína para a criação de frangos. Alimentos com três níveis percentuais de larvas de tenébrio (0; 5 e 10 % do peso seco) foram adicionados a dieta à base de farinha de sorgo. Ao final os autores não observaram diferenças significativas no consumo de ração, ganho de peso ou eficiência alimentar entre os tratamentos. Ballitoc e Sangsoo, (2013) conduziram experimentos para determinar o desempenho de crescimento e as características de carcaça de frangos de corte alimentados com ração contendo diferentes níveis percentuais de larvas tenébrio moídas. O estudo utilizou cinco tratamentos nos níveis de inclusão de 0; 0,5; 1, 2 e 10 % de larvas para substituir a ração comercial. Os autores concluíram que a suplementação com insetos produziu um aumento no consumo de ração, no peso corporal e na eficiência da ração consumida devido a uma menor taxa de conversão alimentar. Ainda, o nível de inclusão de melhor desempenho foi baixo (2% larvas de tenébrio). A substituição parcial (25-50%) ou total com farinha de tenébrio comum foi avaliada na alimentação de diferentes peixes (SÁNCHEZ-MUROS et al., 2015). Os resultados obtidos indicaram que o uso de insetos somente afetou os níveis de ingestão, índices biométricos, ou o equilíbrio de aminoácidos essenciais e não essenciais no músculo da tilápia do Nilo. Os autores relacionaram os piores índices nutritivos ao teor de quitina, o que representou 1,4 e 2,8% para 25 e 50% de substituições de farinha de peixe nas rações, respectivamente.

Estudos utilizando *Tenebrio molitor* como fonte de alimento para humanos também são encontrados na literatura. Aguilar-Miranda et al. (2002) observaram um aumento proteico de cinco vezes ao incorporar farinha de tenébrio comum em tortilha. Megido et al. (2016) elaboraram diferentes formulações de hambúrgueres (hambúrguer de carne bovina, hambúrguer de lentilha, hambúrguer de lentilha e de carne bovina preparados com 50% de insetos) adicionando farinha de tenébrio (*Tenebrio molitor*) com o intuito de diminuir a neofobia alimentar relacionada a insetos. Neste estudo foi testado o nível de preferência sensorial dos diferentes hambúrgueres através de testes hedônicos. Essa estratégia diminuiu a neofobia alimentar dos insetos, já que os participantes avaliaram o gosto e a aparência dos

hambúrgueres com resultados mais altos do que os produtos neutros, posicionando-os entre o hambúrguer totalmente de carne e o hambúrguer totalmente vegetal. Além disso, os insetos, como as larvas de *Tenebrio molitor*, são capazes de transformar os resíduos de baixo teor nutritivo em uma dieta rica em proteínas. Presumindo preços competitivos, as larvas de tenébrio podem ser usadas como substitutas à farinha de soja na ração animal. No curto prazo, os insetos como o *Tenebrio molitor* à alimentação animal e humana parecem promissores (ORTIZ et al., 2016).

1.3 INSETOS COMO FONTE DE QUITINA E/OU QUITOSANA

Os insetos, assim como os demais alimentos, são constituídos por três principais frações: proteica, geralmente contida em maior quantidade, lipídica e sacarídica (carboidratos) (LUCAS et al., 2019; LUCAS et al., 2020b; OLIVEIRA et al. 2017). Os carboidratos estão presentes, em sua grande maioria, na forma de fibras e dentre essas, podemos citar a quitina, maior constituinte do exoesqueleto dos insetos estando presente na faixa de 20 a 50 % do peso do exoesqueleto (carapaça) (CHAPMAN, 2013). A quitina é encontrada como elemento de suporte nos exoesqueletos de artrópodes e é especialmente importante nas estruturas extracelulares de insetos. Possui um polímero linear de alta massa molar, um polissacarídeo de amino-açúcar composto predominantemente por unidades de 2-acetamido-2-desoxi- β -D-glucopirranose ligadas a β -(1-4) e parcialmente por β -(1-4)-2-amino-2-desoxi-p-D-glucopirranose ligada. A quitina é o segundo polissacarídeo mais comum no mundo após a celulose (EL KNIDRI et al., 2018).

A quitina é insolúvel em água, ácidos minerais diluídos e na maioria dos solventes orgânicos, possui baixa reatividade e baixa processabilidade. Atualmente, frutos do mar, como caranguejos ou camarões, são a principal fonte industrial de quitina. Estudos demonstraram que a quitina tem efeitos complexos na adaptação inata e adaptativa a respostas imunes, tem propriedades estimulantes do sistema imunológico e a ingestão da mesma, presente na fração insolúvel do inseto, poderia melhorar o estado imunológico de animais e humanos. O potencial uso da quitina obtida de insetos deve ser considerado como um produto secundário de alto valor, pois a produção de quitina a partir de resíduos de insetos após a extração de proteínas é uma nova área a ser estudada (VELDKAMP et al., 2012).

O derivado mais importante da quitina é a quitosana. Este biopolímero é obtido por desacetilação parcial da quitina em condições alcalinas. A quitosana consiste em um amino polissacarídeo linear com unidades de D-glucosamina e N-acetil-D-glucosamina (EL

KNIDRI et al., 2018). Este é solúvel em soluções diluídas de muitos ácidos orgânicos e inorgânicos ($\text{pH} < 6$), devido à protonação de seus grupos amino (PENICHE; ARGÜELLES-MONAL, 2001). A quitosana, diferente da quitina, é caracterizada por sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e não toxicidade (DASH et al., 2011). Suas propriedades biológicas excepcionais (atividades antimicrobiana, antibacteriana, coagulante, bioadesividade e capacidade de cicatrização de feridas) a tornaram um excelente composto para aplicações em cosméticos (VO; NG; KIM, 2013) na área médica (BOUHENNA et al., 2015; DASH et al., 2011; KHOR; WAN, 2013) farmacêutica (AHMED; ALJAEID, 2016), agrícola (BAUTISTA-BANO; ROMANAZZI; JIMÉNEZ-APARICIO, 2016; SHARP, 2013), alimentícia, como filmes para embalagem de alimentos, nanocápsulas e nanopartículas (BAKSHIA et al., 2020; LUO; WANG, 2013), tratamento de águas residuais (NO; MEYERS, 2000), entre outras.

O processo de extração da quitosana envolve três etapas principais, como desmineralização, desproteinização e desacetilação (SRINIVASAN; VELAYUTHAM; RAVICHANDRAN, 2017). Normalmente, a quitina e a quitosana são obtidas por métodos químicos que envolvem o uso de ácidos e bases fortes para dissolver carbonatos de cálcio e proteínas, respectivamente (EL KNIDRI et al., 2018). Condições de reação mais severas em termos de concentração e temperatura resultam em quitosana com maior grau de desacetilação, mas prolongar a reação também provoca despolimerização severa e a perda de algumas propriedades do polímero (DELEZUK et al., 2011). A Tabela 1 apresenta a comparação entre o grau de desacetilação para amostras de quitosana obtidas a partir de insetos utilizando diferentes métodos de extração.

A obtenção de quitina e quitosana de diferentes fontes é bem difundida na literatura (EL KNIDRI et al., 2018; DELEZUK et al., 2011; SAMAR et al., 2013). Inclusive, alguns estudos descrevem a extração de quitina ou quitosana a partir de insetos (LUO et al., 2019, LUCAS et al., 2021; SOON et al., 2018). Lucas et al. (2021) obtiveram quitosana a partir de resíduos da criação de *Tenébrio molitor*. O exoesqueleto proveniente da ecdise do inseto foi desproteinizado utilizando hidrólise enzimática com Alcalase (2 % enzima/substrato). Esta via biotecnológica se mostrou muito eficiente, uma vez que reduziu o teor de proteínas da amostra mais de quatro vezes (36,8 para 8,3 %) reduzindo assim, o uso de solventes orgânicos durante o processo. Os autores obtiveram um grau de desacetilação de 53,9 %, relativamente baixo, quando comparado a outras fontes. No entanto, os autores justificam o fato de o estudo utilizar apenas a cutícula do inseto, sendo este o diferencial em

relação à maioria dos trabalhos relatados na literatura que descrevem a obtenção de quitosana a partir de insetos.

Tabela 1- Comparação entre o grau de desacetilação para amostras de quitosana obtidas a partir de insetos utilizando diferentes métodos de extração.

Fonte de quitosana	Tratamento	GD (%)	Referência
Exoesqueleto de <i>Hermetia illucens</i> (larva)	0,5M ácido fórmico, 1h	72	Hahn et al. (2019)
	2M NaOH, 80 °C por 2h		
	12M NaOH, 140 °C por 6h		
Exoesqueleto de <i>Hermetia illucens</i> (larva)	0,5M ácido fórmico, 1h	34	Hahn et al. (2019)
	2M NaOH, 80 °C por 2h		
	10M NaOH, 4 °C por 12h		
<i>Zophobias morio</i> (larva)	1M HCl, 1:20, 35 °C, banho de água por 30 min	98	Yong et al. (2018)
	2M NaOH, 1:20, 80 °C, banho de água por 20h		
	50 % NaOH, 1:20, 90 °C, banho de água por 30h		
Resíduos de Besouro	1M HCl, 1:15, temperatura ambiente	96	Marei et al. (2016)
	1M NaOH, 1:15, 100 °C, por 8h		
	50 % NaOH, 1:15, 100 °C, por 8h		
Resíduos de abelha	1M HCl, 1:15, temperatura ambiente	95	Marei et al. (2016)
	1M NaOH, 1:15, 100 °C, por 8h		
	50 % NaOH, 1:15, 100 °C, por 8h		
Exoesqueleto de <i>Tenebrio molitor</i> (larva)	Desproteínização enzimática (Alcalase): pH8, 1M NaOH, 55 °C, 2 % (enzima/substrato), 3 % (proteína/água)	53,9	Lucas et al. (2021)
	40 % NaOH, 1:50, 90 °C por 8h		

*GD: Grau de desacetilação

inteiros. Os autores ainda ressaltam que o grau de desacetilação está relacionado a diversos fatores como por exemplo a natureza do material, o processo empregado, o tipo e o estágio de evolução do inseto.

Hahn et al. (2019), também obtiveram quitosana derivada de exoesqueletos de larvas de *Hermetia illucens* e obtiveram grau de desacetilação na faixa de 34 a 72 %. Esses autores comentam que o grau de desacetilação da quitosana à base de insetos é geralmente baixo. Essas informações confirmam o que já havia sido relatado por Odote, Struszczyk e Peter (2005), que mostra valores mais baixos para o grau de desacetilação da quitosana de insetos quando comparada à quitosana de crustáceos. No estudo de Kim et al. (2017), o menor grau de desacetilação da quitosana obtido a partir do exoesqueleto de grilos adultos (*Gryllus bimaculatus*) foi de 14,5 %. Um baixo grau de desacetilação também é relatado por Erdoğan e Kaya (2016), que obtiveram quitosana com desacetilação de 22 e 64 % de ninfas e adultos de gafanhoto, respectivamente.

Também foi observada diferença entre as fases do inseto no trabalho de Kaya et al. (2014), que mostraram um grau de desacetilação de 64 e 71 % para a fase larval e adulta de besouro (*Leptinotarsa decemlineata*), respectivamente.

Esses valores obtidos pelos autores estão relacionados ao teor de quitina extraída, que foi de 7 % para a fase larval e 20 % para o inseto adulto. A variação observada entre esses valores pode ser explicada pelas diferentes funções da quitina nas partes do corpo e pelas diferentes fases do ciclo de vida dos insetos. De acordo com estudos na literatura, há uma variação no grau de desacetilação da quitosana de diferentes fontes de insetos (EL KNIDRI et al., 2018; MAREI et al., 2016). Recentemente, Luo et al. (2019) obtiveram quitosana de quatro insetos diferentes com um grau de desacetilação na faixa de 84,1 a 89,7 %.

Finke (2007) estimou o conteúdo de quitina de espécies de insetos criados como alimento para animais na faixa de 2,7 mg a 49,8 mg / kg (fresco) e de 11,6 mg a 137,2 mg / kg (matéria seca). Apenas cerca de 40% da quitina do inseto é composta de fibra. Os dados sobre o conteúdo de fibra de insetos são escassos, mas um estudo conduzido por Bukkens (1997, 2005) mostrou que insetos com exoesqueleto rígido tinham conteúdo de fibra de 4,9-12,1 g / 100 g de peso seco, enquanto insetos com exoesqueleto mole tinham conteúdo de fibra variando de 6,5 –11,4 g / 100 g de peso seco.

Estudos sugerem que a quitina pode afetar a digestibilidade de outros nutrientes, incluindo proteínas (LONGVAH et al., 2011) e lipídios (KROECKEL et al., 2012), levando a uma redução no crescimento de animais, por exemplo. Porém, em estudos experimentais na alimentação de peixes com dietas contendo diferentes níveis de quitina mostraram resultados

altamente variáveis, podendo ser dependentes da espécie de peixe ou da origem da quitina (crustáceo ou inseto) utilizada. Além disso, a quitina pode ter um efeito positivo na função do sistema imunológico. Por exemplo, o uso de insetos para alimentar galinhas pode diminuir o uso de antibióticos na indústria avícola (VAN HUIS et al., 2013). Embora o uso/emprego de quitina e quitosana de outras fontes já esteja bem discutido na literatura ainda pouco se sabe sobre as características destes biopolímeros obtidos através de insetos, apenas sabe-se que esta pode ser uma fonte promissora para a obtenção dos mesmos. Logo, estudos devem continuar sendo realizados para que se possa ter uma compreensão melhor acerca do assunto.

CAPÍTULO III
DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

ARTIGO I:
INSETOS COMESTÍVEIS: UMA ALTERNATIVA DE COMPOSTOS NUTRICIONAIS,
FUNCIONAIS E BIOATIVOS

LUCAS, A. J. S.; OLIVEIRA, L. M.; DA ROCHA, M.; PRENTICE, C. Edible insects: an alternative of nutritional, functional and bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 311, p. 126022, 2020.

DOI:10.1016/j.foodchem.2019.126022

INSETOS COMESTÍVEIS: UMA ALTERNATIVA DE COMPOSTOS NUTRICIONAIS, FUNCIONAIS E BIOATIVOS

RESUMO

A ingestão de insetos se tornou uma nova tendência nas ciências alimentícias desde 2013, quando a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) publicou um documento intitulado “Insetos comestíveis: perspectivas futuras de segurança alimentar e nutricional”. Desde então, um número crescente de pesquisas relacionando insetos como fonte de alimentos vem surgindo, entretanto ainda pouco se sabe sobre a composição de seus nutrientes. Esta revisão descreve e compara a composição nutricional, a funcionalidade e os compostos bioativos presentes em diferentes insetos, já que estes vêm se mostrando ser uma fonte de alimento saudável com alto teor de proteínas, quantidades significativas de lipídios, vitaminas, minerais e fibras, esta última, presente na forma de quitina, no exoesqueleto dos insetos. Também são abordados assuntos relacionados a entomofagia e os possíveis riscos que se deve considerar ao consumir insetos.

Palavras-chave: Entomofagia. Alergenicidade. Proteínas de insetos. Lipídios de insetos.

1 INTRODUÇÃO

A sustentabilidade vem se tornando cada vez mais importante no mundo em que vivemos, logo, fontes alternativas de alimentos devem ser encontradas a fim de substituir ingredientes tradicionais menos sustentáveis. Uma possível alternativa seria utilizar as proteínas, óleos e fibras oriundos de insetos comestíveis como matriz alimentar em substituição aos já existentes (SOSA; FOGLIANO et al., 2017). Os insetos comestíveis podem compensar o aumento da demanda por proteína de origem animal, evitando o desmatamento de florestas para uso como pastagem, possuem uma alta eficiência de conversão de alimentos em comparação com a pecuária convencional e são responsáveis por emissões relativamente baixas de gases de efeito estufa e amônia (POMA et al., 2017). Possuem uma excelente composição nutricional, não somente pela sua alta concentração de aminoácidos, quando comparado a outras fontes, mas também seu potencial para atender todos os chamados princípios sustentáveis, saudáveis, acessíveis e palatáveis (AKHTAR; ISMAN, 2018; RUTTEN et al., 2016; YNSECT, 2018).

A entomofagia, ou ato de consumir insetos surgiu com os primeiros hominídeos, mas apenas recentemente ganhou impulso nas culturas ocidentais. Aproximadamente 113

países em todo o mundo praticam entomofagia (BARENNE; PHIMMASANE; RAJAONARIVO, 2015). Os insetos são consumidos de diferentes formas por cerca de 2 bilhões de pessoas, predominantemente em partes da Ásia, África e América Latina, tendo mais de 2000 espécies já catalogadas como comestíveis (JONGEMA, 2017).

A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) apontou a necessidade de examinar as práticas modernas de ciência de alimentos para aumentar o comércio, consumo e aceitação dos insetos (FAO, 2013). Pesquisadores desta área têm inovado e buscado soluções alternativas para melhorar o processamento e aumentar a vida útil de produtos oriundos de insetos a fim de aumentar a disponibilidade e a aceitação do consumidor. Uma das soluções propostas é o isolamento de proteínas e lipídios de insetos a fim de serem usadas como ingredientes alimentícios, porém, isso requer um profundo conhecimento das características físico-químicas das proteínas e lipídios, sua funcionalidade e uma avaliação da percepção e das motivações do consumidor para aceitar essa nova fonte (SOSA; FOGLIANO, 2017).

A produção, comercialização e uso de insetos comestíveis como alimentos e rações permeiam uma ampla gama de áreas regulatórias, o que deve garantir aspectos como a qualidade e a segurança dos produtos obtidos e a avaliação do impacto ambiental da criação de insetos. Um ponto crucial é que a aceitação do consumidor provavelmente está associada ao desenvolvimento de uma estratégia de processamento apropriada, como a extração, purificação e o uso de proteínas de insetos como aditivo alimentar (VAN HUIS et al., 2013). É muito difícil fazer uma suposição geral sobre o processamento de proteínas de insetos, pois as espécies têm suas peculiaridades (tamanho, cultivo e reprodução, diferentes estágios de vida, conteúdo e digestibilidade de proteínas e disponibilidade de aminoácidos) (HALLORAN et al., 2016).

Estudos mais aprofundados mostram um avanço recente no uso de peptídeos de insetos como agentes anti-hipertensivos, antimicrobianos e antioxidantes, demonstrando a ampla aplicabilidade dessas proteínas (CASTRO et al., 2018; HALL; JOHNSON; LICEAGA, 2018). Como uma tendência futura, promover os insetos como alimento requer que o semi-cultivo e a agricultura se tornem uma prioridade. Além disso, a produção em larga escala de peptídeos bioativos de insetos apresenta um promissor negócio de biotecnologia. Portanto, para alcançar todos esses objetivos, será absolutamente necessária uma abordagem multidisciplinar (CASTRO et al., 2018). Diante do exposto, a presente revisão teve como objetivo descrever e comparar a composição nutricional, a funcionalidade e os compostos

bioativos presentes em insetos comestíveis, bem como discutir assuntos relacionados à entomofagia e os possíveis riscos do consumo dos insetos.

2 RELEVÂNCIA DA ENTOMOFAGIA

Durante a evolução humana era de costume em muitos países e regiões comer insetos, ato este, conhecido como entomofagia. De acordo com a historiadora entomológica, os chineses começaram a comer insetos há mais de 3 mil anos atrás (XIAOMING et al., 2010). Segundo Tan et al. (2016) os maiores entraves ao consumo de insetos são culturais, a ideia de que somos o que comemos está presente em todas as culturas. Essas crenças dificultam a incorporação de insetos na dieta, pois todas as associações e atribuições relacionadas a esses artrópodes influenciam nossa percepção sobre eles como alimento, muito mais do que seu valor nutricional. Na verdade, a entomofagia é uma prática que sempre existiu, muito provavelmente no passado foi uma importante fonte de nutrientes, como ainda é hoje em algumas partes do mundo, por isso, não se trata da introdução de novos alimentos, mas da disseminação de uma possível fonte de nutrição no mundo ocidental (VAN HUIS et al., 2013).

Aparentemente, as sociedades ocidentais consideram a entomofagia um hábito alimentar repugnante, primitivo ou um sinal de pobreza, uma vez que ser capaz de comprar carne de espécies bovinas, por exemplo, é uma forma de demonstrar progresso social e econômico e marcar a diferença para partes economicamente mais fracas de suas sociedades (POOTVLIET et al., 2019). A neofobia alimentar, caracterizada como a tendência de recusar alimentos novos ou desconhecidos é uma característica humana comum, quando se trata da neofobia alimentar em relação a insetos comestíveis, esta é particularmente alta (GERE et al., 2018; MEGIDO et al., 2016).

Insetos podem ser consumidos em diferentes estágios de seu desenvolvimento como: ovos, larvas, pupas e adultos, mas é em forma de larva ou pupa que a maioria das espécies registradas é consumida. Quando consumidos indiretamente, a ingestão ocorre em forma de produtos elaborados e/ou excretados por estes insetos, como: mel, cera, pólen, óleos, corantes, remédios, chás, infusões e farinhas, agregados ou não a outros ingredientes. As principais espécies consumidas são, por ordem de importância, besouros (Coleoptera); lagartas (Lepidoptera); formigas, abelhas e vespas (Hymenoptera); gafanhotos (Orthoptera); pulgões e cigarrinhas (Hemiptera); cupins (Isoptera), moscas (Diptera), dentre outros (STAMER, 2015).

O sucesso industrial em larga escala começa com a exploração das propriedades funcionais, nutricionais e bioativas contidas nos insetos (XIAOMING et al., 2010), pois estes representam uma fonte de alimento saudável com um alto teor de proteínas, principal componente de sua composição nutricional, também possuem quantidades significativas de outros nutrientes importantes, como lipídios, ácidos graxos benéficos, vitaminas, minerais (SUN-WATERHOUSE et al., 2016) e fibras, presentes na forma de quitina, no exoesqueleto dos insetos (YNSECT, 2018).

3 RISCOS INERENTES AO SE CONSUMIR INSETOS

Entre as questões que prejudicam o potencial alimentar com artrópodes/ insetos comestíveis, seus riscos de alergenicidade valem a pena ser avaliados. Nos artrópodes, 239 alergênicos individuais estão registrados, de acordo com as exigências do Subcomitê de Nomenclatura de Alergênicos da Organização Mundial da Saúde e da União Internacional de Sociedades de Imunologia. Tem-se proteínas predominantemente onipresentes ou pan-alergênicas, que, em termos simplificados, podem ser categorizadas como proteínas musculares (tropomiosina, miosina, actina, troponina C), proteínas celulares (tubulina), proteínas circulantes (por exemplo, hemocianina, defensina) e enzimas (arginina quinase, triosefosfato isomerase, α -amilase, tripsina, fosfolipase A, hialuronidase) (SCHLÜTER et al., 2016).

Episódios alergênicos isolados, incluindo reações anafiláticas, foram documentados na literatura médica em relação ao consumo de insetos, bem como, também são encontrados na literatura dados recentes sobre alergias causadas por ingestão de insetos (HALL; JOHNSON; LICEAGA, 2018; KAMEMURA et al., 2019). Estruturas pan-alergênicas foram identificadas em artrópodes (Arthropoda), incluindo insetos (abelhas, besouros, gafanhotos e baratas), aracnídeos (ácaros) e crustáceos (camarões, caranguejos e lagostas) (GIER; VERHOECKX, 2018).

Este efeito foi confirmado em um estudo sobre reatividade cruzada para tenébrio comum (*Tenebrio molitor*) (VERHOECKX et al., 2014) e grilo (*Gryllus bimaculatus*) (KAMEMURA et al., 2019) em pacientes com alergia a inalantes para ácaros e alimentos de crustáceos e camarão. Em ambos os casos, tropomiosina e arginina quinase foram identificadas como proteínas de reação cruzada. Portanto, é possível que pessoas que são alérgicas a crustáceos e ácaros também experimentem uma reação alérgica a alimentos contendo proteínas de tenébrio comum ou grilo.

A tropomiosina, um dos principais alergênicos do camarão, é uma proteína miofibrilar que consiste em um dímero espiralado com massas molares de 35-38 kDa (PEDROSA et al., 2015). Como os ácaros e outros artrópodes, como os grilos, têm uma identidade de 75 a 85 % da sequência da tropomiosina (AYUSO et al., 2002), a reatividade cruzada da imunoglobulina E é muito esperada em espécies de insetos comestíveis. As observações atuais consideram a tropomiosina como o principal alergênico responsável pela reatividade cruzada entre crustáceos, moluscos, ácaros e baratas (PEDROSA et al., 2015).

Outra molécula de risco potencial associada a insetos é a quitina. A quitina é um polissacarídeo que compreende o exoesqueleto de insetos, mas também é encontrado em fungos, parasitas e crustáceos (BERTELSEN, 2016). Demonstrou-se que a quitina funciona como um adjuvante, sendo uma substância que ajuda a induzir a imunidade adaptativa, embora a forma como ela funciona como adjuvante não seja bem compreendida. Diferentes estudos demonstraram diferentes efeitos da imunomodulação da quitina (DUBEY et al., 2015; SIGSGAARD et al., 2015).

Existem mais informações sobre alergia a picadas de insetos ou alergias inalatórias (GIER; VERHOECKX, 2018), sendo a alergia inalatória à barata a mais relatada. Recentemente, uma extensa revisão sobre alergia à barata foi publicada (POMÉS et al., 2017).

4 INSETOS COMESTÍVEIS COMO COMPONENTE DA DIETA HUMANA

Os insetos atualmente estão sendo considerados como uma fonte de alimento promissora, devido a seus altos valores nutricionais (VAN HUIS, 2016). Apesar dessa enorme variedade, e de um grande número de estudos que vem surgindo, ainda pouco se sabe sobre a composição de seus nutrientes. Em geral, insetos comestíveis são considerados como boas fontes de proteínas, gorduras, vitaminas e minerais. O consumo de 100 g de lagartas, por exemplo, fornece 76% da quantidade diária necessária de proteínas e quase 100% da quantidade diária necessária de vitaminas para os seres humanos (AGBIDYE; OFUYA; AKINDELE, 2009). Apenas três pupas do bicho-da-seda são consideradas tão ricas em nutrientes quanto um ovo de galinha, sua composição possui cerca de 50 % de proteínas e 30 % de lipídios (MITSUHASHI, 2010).

No que diz respeito ao conteúdo de micronutrientes de insetos (Tabela 1), pode-se afirmar que a maioria destes apresenta altas quantidades de potássio, cálcio, ferro, magnésio (ZIELIŃSKA et al., 2015) e selênio (FINKE, 2002). Os insetos contêm parcialmente mais ferro e cálcio do que carne bovina, carne de porco e frango (SIRIMUNGKARARAT et al.,

Tabela 1 – Nutrientes, minerais e composição vitamínica de quatro espécies de insetos comestíveis (base seca).

		<i>Rhynchophor usphoenicis</i>	<i>Bombyx mori</i>	<i>Acheta domesticus</i>	<i>Ruspolia differens</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Periplaneta americana</i>
Nutrientes (%)	Proteína	10,3-41,7	48,7-58,0	64,4-70,7	44,3	65,6	49,43
	Gordura	19,5-69,8	30,1-35,0	18,5-22,8	46,2	28,2	38,07
	Fibra	2,8-25,1	2,0	-	4,9	3,0	6,53
	Cinzas	2,5-5,7	4,0-8,6	3,6-5,1	2,6	2,48	2,84
Minerais (mg/100 g)	Cálcio	54,1-208,0	158,0	132,2-210,0	24,5	47,18	-
	Potássio	1025,0-2206,0	-	1126,6	259,7	761,54	-
	Magnésio	33,6-131,8	207,0	80,0-1094,4	33,1	221,54	-
	Fósforo	352,0-685,0	474,0	708,0-957,8	-	697,44	-
	Sódio	44,8-52,0	-	435,1	121,0	125,38	-
	Ferro	14,7-30,8	26,0	6,3-11,2	229,7	5,51	-
Vitaminas [mg/100 g]	Ác. ascórbico	4,2	-	9,5	0,1	36,10	23,84
	Ác. fólico	-	-	0,5	0,9	-	-
	Tiamina	3,4	-	0,1	-	-	-
	Riboflavina	2,2	-	11,1	1,4	-	-
	Niacina	3,4	0,9	12,6	2,4	-	-

Fonte: Adaptado de RUMPOLD; SCHLÜTER (2012, 2013).

2010). Por exemplo, uma média de 100 g de lagartas fornece 335% da quantidade mínima diária de ferro necessária (DEFOLIART, 1992). Estudos recentes mostram que existe uma maior disposição para se consumir produtos com insetos triturados em vez de insetos inteiros (FURG, 2017; HALL et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2017). Oliveira et al. (2017) utilizaram barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*) para obter farinha com 63,22 % de proteína e lipídios de alta qualidade. Diferentes concentrações (5, 10 e 15 %) desta farinha foram adicionadas na formulação de pão branco a fim de enriquecer proteicamente o produto. Com 10 % de adição de farinha de barata cinérea na formulação do pão branco o aumento proteico obtido foi de 133 % (aumentou de 9,7 % para 22,7 %) bem como redução de 64,53 % na gordura adicionada na formulação do pão. Megido et al. (2016) elaboraram diferentes formulações de hambúrguers (hambúrguer de carne bovina, hambúrguer de lentilha, hambúrguer de lentilha e de carne bovina preparados com 50 % de insetos) adicionando farinha de tenébrio (*Tenebrio molitor*) com o intuito de diminuir a neofobia alimentar relacionada a insetos. Neste estudo foi testado o nível de preferência sensorial dos diferentes hambúrgueres através de testes hedônicos. Essa estratégia diminuiu a neofobia alimentar dos insetos, já que os participantes avaliaram o gosto e a aparência dos hambúrgueres com resultados mais altos do que os produtos neutros, posicionando-os entre o hambúrguer totalmente de carne e o hambúrguer totalmente vegetal.

O uso de proteínas e lipídios oriundos de insetos como ingredientes alimentares requer uma compreensão profunda sobre as características físico-químicas desses ingredientes, bem como sua funcionalidade. Cientistas da área de alimentos precisarão enfrentar, em um futuro próximo, o desafio da segurança alimentar para assegurar uma produção suficiente de proteína para os 2 a 3 bilhões de pessoas adicionais que povoarão o planeta nas próximas décadas (VELDKAMP et al., 2012).

4.1 INSETOS COMO FONTE DE PROTEÍNA

Insetos têm sido propostos como uma das mais promissoras fontes alternativas de proteínas para resolver o problema global da escassez proteica: a principal vantagem dos insetos sobre outras fontes de proteína é o baixo custo ambiental da produção, que se torna essencial para satisfazer o aumento da demanda global proteica (VAN HUIS et al., 2013), bem como, do ponto de vista nutricional, pela alta concentração de aminoácidos, quando comparado a outras fontes (Tabela 2).

Tabela 2 – Comparação entre aminoácidos de diferentes fontes.

Fonte proteica (mg/g_{proteína})	Histidina	Isoleucina	Leucina	Lisina	Metionina	Cisteína	Treonina	Triptofano	Valina	Metionina + cisteína	Fenilalanina + tirosina
<i>Acheta domesticus</i>	22,7	36,4	66,7	51,1	14,6	8,3	31,1	6,3	48,4	22,9	74,2
<i>Tenebrio molitor</i>	31,6	50,3	106,4	54,5	12,8	8,6	41,8	8,0	58,8	21,4	109,8
Carne bovina	38,1	39,43	92,24	95,28	-	-	-	-	43,0	35,59	83,86
Ovo em pó	22,12	34,64	83,9	91,44	-	-	-	-	47,5	40,05	98,64
Caseína	18,99	46,91	93,05	78,66	-	-	-	-	54,95	30,14	109,71
Soja	32,88	45,71	81,34	82,69	-	-	-	-	48,16	18,65	96,99
Feijão	28,55	31,39	78,28	94,36	-	-	-	-	40,81	19,95	113,08
Aminoácidos requeridos na nutrição humana (FAO)	15,0	30,0	59,0	45,0	16,0	6,0	23,0	6,0	39,0	22,0	30,0

Fonte: Adaptado de RUMPOLD; SCHLÜTER (2013); PIRES et al. (2006).

A extração e o fracionamento proteico são etapas necessárias para produzir ingredientes oriundos de proteínas de insetos. A concentração de proteína nas várias espécies de insetos é geralmente muito elevada (50-70 % em base seca), o que facilita o processo de concentração da mesma (SOSA; FOGLIANO, 2017). Dados sobre a quantidade de proteínas que podem ser extraídas em pó de insetos previamente secos e moídos em soluções aquosas mostraram uma enorme variabilidade. Fatores como a relação sólido/ água, bem como o pH e a temperatura desempenham um papel importante (ZHAO et al., 2016). O método mais utilizado para obtenção da fração proteica é a extração alcalina seguida de precipitação ácida de proteínas no ponto isoelétrico (FOSTE et al., 2015). O teor de proteína bruta em uma fração rica em proteína de tenébrio comum (*Tenebrio molitor*) obtidas por extração alcalina e precipitação isoelétrica no pH 4 aumentou 14,4 % em relação ao extrato inicial (BUBLER et al., 2016).

A estimativa do teor de proteína em insetos comestíveis pode ser obtida pelo método de Kjeldahl utilizando fator de conversão de nitrogênio (N) em proteína (6,25). No entanto, recentemente, Jonas-Levia e Martinez (2017) apontaram que este fator pode não ser adequado para insetos levando à superestimação de proteínas, pois o conteúdo do exoesqueleto do inseto contém grande quantidade de fibra de quitina, rica em polissacarídeos e nitrogênio, e proteínas firmemente incorporadas em sua matriz. Por exemplo, Kaya et al. (2015) determinaram que algumas espécies de gafanhotos contêm de 5,3 a 8,9 % em peso seco de quitina. Por esta razão, um novo fator de conversão de nitrogênio para proteína teria que ser recalculado para os insetos.

No entanto, o estudo de Finke (2007) relata que embora a análise detalhada de aminoácidos seja preferida, o nitrogênio 6,25 fornece uma estimativa razoável da proteína total para a maioria dos insetos. Ao analisar a quantidade de quitina contida em insetos inteiros o autor observou que a recuperação de proteínas para estas espécies é relativamente alta, com uma média de 92,4 %. Na maioria dos casos, quando os insetos são analisados quanto a aminoácidos e onde todos os aminoácidos são relatados, a recuperação relativamente alta de nitrogênio sugere que o nitrogênio da quitina é uma fração relativamente pequena do conteúdo total de nitrogênio do inseto, uma vez que a quitina está presente em maiores quantidades na exocutícula e endocutícula do inseto. Todos esses dados indicam a necessidade de mais estudos nesta área, uma vez que o teor de proteína contido nos insetos influencia diretamente nas demais pesquisas envolvendo este assunto.

Foram encontrados na literatura estudos que avaliaram as propriedades nutricionais e funcionais das proteínas de diferentes insetos (HALL et al., 2017; MISHYNA et al., 2019;

OLIVEIRA et al., 2017; ZIELIŃSKA et al., 2015; ZIELIŃSKA; KARASÍ; BARANIAK, 2018; ZHAO et al., 2016), mas infelizmente, devido à falta de um processamento padronizado de fracionamento, estudos sobre a funcionalidade tecnológica de proteínas de insetos ainda são escassos. Autores ainda citaram a necessidade da qualidade das proteínas de insetos (em comparação com outras proteínas animais e vegetais) ser avaliada em testes fisiológicos (FINK; DEFOLIART; BENEVENGA, 1989).

Sosa e Fogliano (2017) estudaram não só os benefícios nutricionais, mas também os funcionais das proteínas de insetos e citaram que as principais propriedades funcionais que devem ser avaliadas são capacidade de retenção de água e de óleo, capacidade de espessamento, capacidade de emulsificação, capacidade de formação de espuma, capacidade de gelificação e capacidade de estruturação. Yi et al. (2016) confirmaram que as proteínas de insetos apresentam boa digestibilidade, dados *in vitro* mostraram que o tempo da digestão também depende da fração das proteínas consideradas. Beverly et al. (2012) analisaram química e nutricionalmente dois tipos de insetos e encontraram valores de proteína de 31,23% em larvas de gusano branco (*Aegiale hesperiaris*) e 37,79 % em larvas de gusano vermelho (*Comadia redtem-bacheri*). Oliveira et al. (2017) analisaram o perfil de aminoácidos nas proteínas da barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*), e também calcularam 68,50% de proteína total em sua composição.

Mishyna et al. (2019) utilizaram proteínas solúveis de gafanhoto (*Schistocerca gregaria*) e de ninfa de abelha melífera (*Apis mellifera*). As amostras foram desengorduradas e a proteína foi extraída por sonicação (ultrassom). Novos fatores de conversão de nitrogênio para proteína baseados na análise de aminoácidos foram estimados para ambos os insetos: 4,5 para gafanhoto adulto, e 4,9 e 5,6 para pupas e larvas de abelha, respectivamente, ao contrário de 6,25 comumente usados. Todas as frações foram caracterizadas pela sua composição, rendimento, cor, solubilidade proteica e propriedades funcionais. Houve um aumento no teor de proteína até 57,5 e 55,2 % para gafanhoto e abelha, respectivamente. A maior estabilidade de emulsão após 120 min foi determinada para o pó de gafanhoto extraído por sonicação (85,5 %), também foram observadas mudanças na funcionalidade da proteína relacionadas à alteração na carga proteica, hidrofobicidade superficial e distribuição de proteínas, de acordo com sua massa molar.

Zhao et al. (2016), utilizaram um planejamento fatorial fracionado (dois níveis, quatro fatores) para avaliar o impacto simultâneo de quatro variáveis durante a extração de proteínas da larva tenébrio comum (*Tenebrio molitor*) com NaOH. Foram estudados quatro fatores: concentração de NaOH (0,1 M até 0,5 M), razão entre a solução de NaOH e larva

desengordurada (6: 1 mL / g até 20: 1 mL / g), temperatura (20 °C e 80 °C) e tempo (30 min e 120 min). O teor real de proteínas do extrato proteico foi de cerca de 75 %, com uma taxa de extração de 70 % sob condições de extração otimizadas usando NaOH 0,25 M, uma solução de NaOH: etanol sem gordura de 15: 1 mL/ g, 40 °C por 1 h extração. A menor solubilidade proteica em solução de água destilada foi obtida entre pH 4 e 5, e se incrementou com o aumento ou diminuição do pH. A menor solubilidade foi observada em solução de NaCl a 0,5 M, demonstrando que as propriedades funcionais de larvas de tenébrio podem ser modificadas conforme as diferentes aplicações alimentares.

4.2 INSETOS COMO FONTE DE LIPÍDIOS

Os lipídios representam a segunda maior fração da composição nutricional de insetos comestíveis e seu conteúdo é maior no estágio larval da vida dos insetos, podendo variar entre de 10 a 50 % em base seca (XIAOMING et al., 2010). O teor de ácidos graxos e a composição lipídica dos insetos estão relacionados a espécies, sexo, estágio da vida, dieta, temperatura ambiental e vôo migratório (OONINCX et al., 2015). Para as larvas de insetos, os principais ácidos graxos dos óleos são os ácidos palmítico e oleico, enquanto que para um inseto maduro, os principais ácidos graxos são os ácidos palmítico e linoléico (EKPO; ONIGBINDE; ASIA, 2009). Não é incomum encontrar uma grande variabilidade dos perfis de ácidos graxos entre os próprios insetos (Tabela 3). Os lipídios nos insetos vêm de sua dieta ou são sintetizados por eles. Esses lipídios são armazenados na gordura corporal, degradados, processados e transportados para o local de uso (BEENAKKERS; VANDERHORST; VANMARREWIJK, 1985). Estes são compostos principalmente de triacilglicerol, outros tipos de lipídios presentes em menores quantidades incluem colesterol, glicerídios parciais, ácidos graxos livres, fosfolipídios e ésteres de cera (DOWNER; MATHEWS, 1976). No entanto, cerca de 80% do conteúdo lipídico está presente na forma de triacilglicerol (GILBY, 1965), que serve como depósito de energia por períodos de alta demanda energética (BEENAKKERS et al., 1985). A segunda classe lipídica mais importante são os fosfolipídios, que têm um papel importante na estrutura da membrana celular. O teor de fosfolipídios na gordura bruta é geralmente inferior a 20 %, variando de acordo com o estágio da vida e as espécies de insetos.

Os ácidos graxos essenciais linoléico (18: 2 n-6) e α -linolênico (18: 3 n-3), são poliinsaturados e não são sintetizados pelas células de mamíferos e, portanto, devem ser ingeridos na dieta (BAZINET; LAYÉ, 2014). Estes podem atuar na prevenção de doenças

Tabela 3 - Comparação entre ácidos graxos de diferentes fontes.

	Ácido graxo (g/ 100g)													
	C12:0	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1 n9	C18:2 n6	C18:3 n3	C20:0	C20:1	C20:2	C22:0	C22:1	C22:4
<i>Tenebrio molitor</i>	0,23	3,11	18,52	2,09	2,43	49,50	21,82	0,84	0	0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>Alphitobius diaperinus</i>	0	0,65	25,18	0,22	8,55	38,49	23,28	1,14	0,38	0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>Acheta domesticus</i>	0,30	1,80	25,99	2,09	6,09	29,14	29,11	1,56	0	0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>Blaptica dubia</i>	0,16	1,05	18,05	5,17	3,71	51,38	17,36	1,24	0,14	0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>Eucommia ulmodie</i>	N.D.	N.D.	6,21	0,11	2,46	16,00	11,68	61,85	N.D.	0,31	N.D.	0,26	0,06	0,05
<i>Salmo solar</i>	0	2,20	8,50	N.D.	3,00	40,00	14,00	6,5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>Camellia sinensis</i>	N.D.	N.D.	14,15	0,09	3,48	61,62	18,05	0,37	0,10	0,97	0,03	N.D.	0,10	0,08
<i>Mylossoma paraguayensis</i>	0,06	0,25	15,14	3,26	9,21	32,97	18,96	9,55	0,49	0,30	N.D.	0,55	0,01	N.D.

*N.D.: não detectado

Fonte: Adaptado de TZOMPA-SOSA et al. (2014); MELO et al. (2019); BELGHIT et al. (2018); ZHANG et al. (2020)

cardiovasculares e cânceres (BAKER et al., 2016). Esses ácidos graxos agem como precursores para a síntese de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, como ácido araquidônico, ácido eicosapentaenóico e ácido docosahexaenóico, sendo estes necessários para manter em condições normais as membranas celulares, a função cerebral e as transmissões de impulso nervoso (BAZINET; LAYÉ, 2014; NAKAMURA; YUDELL; LOOR, 2014). Alguns estudos relatam a presença desses ácidos graxos poliinsaturados em insetos comestíveis (EKPO et al., 2009; ZHANG et al., 2020). Além disso, de acordo com a Tabela 3, os insetos apresentam maior quantidade de ácidos linoléico (18: 2 n-6) e α -linolênico (18: 3 n-3) quando comparados a outras fontes. A extração de lipídios de insetos para aplicação como óleos comestíveis foi investigada pelo método de Soxhlet, extração de Folch e extração supercrítica de CO₂ (PURSCHKE et al., 2016; TZOMPA-SOSA et al., 2014). Os solventes possíveis de serem utilizados incluem dissulfeto de carbono, nafta de petróleo, benzeno, tricloroetileno, álcool, pentano, dióxido de carbono supercrítico e hexano comercial (KEMPER, 2013). O processo de extração lipídica não tem grande impacto na composição de ácidos graxos do extrato, mas influencia fortemente o rendimento da extração lipídica e os tipos de lipídios extraídos. Por exemplo, quando a extração aquosa é usada, apenas triacilgliceróis são extraídos. Por outro lado, quando são utilizados solventes orgânicos, são extraídos fosfolipídios, glicéridos e triacilgliceróis (TZOMPA SOSA et al., 2014).

A extração aquosa de lipídios de insetos fornece uma alta qualidade do óleo, semelhante aos óleos virgens (PURSCHKE et al., 2016; TZOMPA-SOSA et al., 2014). Portanto, o processo de extração deve ser cuidadosamente selecionado de acordo com a aplicação desejada e os custos de cada processo de extração. São relatadas as principais vantagens do uso da extração supercrítica de CO₂: (i) redução da oxidação de solutos; (ii) extração de componentes termicamente sensíveis devido à baixa temperatura crítica; (iii) modulação da seletividade do solvente pelas condições operacionais; (iv) resíduos sem solvente; e (v) propriedades apropriadas do solvente (químico inerte, não tóxico e não explosivo) (MARIOD et al., 2010; ROY; SASAKI; GOTO, 2006; STAHL; SCHUETZ; MANGOLD, 1980).

A maioria dos lipídios de insetos é líquida à temperatura ambiente (25 °C), sendo chamados de "óleo de inseto". Esses óleos são ricos em ácidos graxos insaturados essenciais, como ácido linoléico, ácido alfa-linolênico e ω -3. A natureza líquida dos óleos de insetos os torna ideais para uso em maionese, óleos de fritura, lubrificantes de qualidade alimentar, entre outros. Os lipídios de insetos sólidos à temperatura ambiente são chamados de "gordura de inseto". O estado sólido dessa gordura de inseto confere um alto teor de ácidos graxos

saturados, variando de 57 a 75 % do total (USHAKOVA et al., 2016), sendo especialmente interessante para aplicação em massas, confeitaria e margarina, entre outros sistemas alimentares (SOSA; FOGLIANO, 2017).

Até a presente data, apenas dados limitados estão disponíveis sobre a extração de lipídios de insetos. DeFoliart (1991) avaliou o teor de gordura dos insetos e concluiu que geralmente varia de menos de 10 % a mais de 30 %, com base na massa úmida, e esse conteúdo é maior nos estágios de larvas e pupas do que nos estágios adultos. Os cupins vivos têm 350 kcal/ 100 g e são compostos por 28 % de gordura, sendo o segundo inseto mais consumido no mundo, depois dos gafanhotos (CHUNG, 2010). Oliveira et al. (2017) analisaram o perfil de ácidos graxos da barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*) e obtiveram 18,45 % de lipídios em sua composição e 10,94 % de ácidos graxos insaturados. Para mostrar as possíveis aplicações de lipídios de insetos, Sosa e Fogliano (2017) fracionaram os lipídios extraídos de tenébrio comum (*Tenebrio molitor*) e realizaram análises físico-químicas desse extrato lipídico original e de suas frações.

5 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DOS HIDROLISADOS PROTEICOS DE INSETOS

O sucesso industrial em larga escala começa com a exploração das propriedades funcionais e nutricionais de potenciais ingredientes de insetos como hidrolisados de proteínas. No entanto, existem poucos estudos sobre as propriedades funcionais das proteínas de insetos (HALL et al., 2017). O uso bem-sucedido de tais ingredientes proteicos depende de suas habilidades para cumprir um ou mais dos requisitos de funcionalidade, por exemplo, boa solubilidade, estabilização da emulsão/ espuma e/ ou formação de gel. Estudos sobre as propriedades funcionais dos insetos são muito limitados. A modificação enzimática de proteínas é um mecanismo útil para melhorar sua funcionalidade em comparação com as proteínas nativas não hidrolisadas (HALL et al., 2018).

A solubilidade é um pré-requisito importante das proteínas funcionais dos alimentos, pois influencia as aplicações potenciais de proteínas específicas e está relacionada às suas propriedades emulsificantes e espumantes (ZHAO et al., 2012). De acordo com Akpossan et al. (2015), as frações proteicas lipídicas e desengorduradas de farinha e de larvas de lagarta (*Imbrasia oyemensis*) apresentaram boa funcionalidade. Além disso, foi observada baixa solubilidade em ambas as farinhas, o que foi atribuído ao ponto isoelétrico da proteína. Esses resultados também mostraram que a farinha integral (lipídica ou desengordurada) não

apresentou capacidade de formação de espuma e baixa estabilidade da espuma, enquanto a farinha desengordurada apresentou baixas propriedades espumantes. No entanto, ambas as farinhas exibiram boas características emulsionantes e retenção de água. A solubilidade da fração de hidrolisado foi superior a 80%, sendo que esta foi independente do valor do pH (pH 2,0 - 10,0) (NONGONIERMA; FITZGERALD, 2017).

O grilo africano (*Gryllidae* sp.) também apresentou baixa solubilidade nos pH 3 e 4. No entanto, em ambos os valores de pH, as proteínas dos insetos não foram hidrolisadas enzimaticamente. Os resultados deste estudo sugerem que o ponto isoelétrico da proteína do grilo (*Grylloides sigillatus*) tem pH igual ou próximo a 3,0. Este valor é semelhante ao ponto isoelétrico da proteína do grilo africano, que é relatada como sendo de pH 3,5 (masculino) e 4,4 (feminino) (ADEYEYE; AWOKUNMI, 2010). De acordo com Nongonierma e FitzGerald (2017), peptídeos de insetos geralmente têm solubilidade limitada em água. No entanto, maior solubilidade ($p < 0,05$) a pH 3,0, 7,0, 8,0 e 10,0 foi relatada após a hidrólise.

Geralmente, a atividade emulsificante das proteínas é afetada por sua massa molar, hidrofobicidade, estabilidade da conformação, carga superficial e suas propriedades físico-químicas, como pH, força iônica e temperatura (ZHAO et al., 2012). Existem alguns relatos na literatura sobre as propriedades emulsificantes de insetos que podem servir como comparação. Maior índice de atividade emulsificante (IAE) representam um número menor de gotículas dispersas de óleo e alta capacidade de adsorção da proteína na interface óleo-água (PACHECO-AGUILAR et al., 2008). Hall et al. (2018) verificaram que os tratamentos que apresentaram a maior capacidade de emulsão ($27-32 \text{ m}^2/\text{g}$) foram os ensaios 1 e 2 (0,5 % E/S por 30 e 60 min, respectivamente) e ensaio 8 (3% E/S, 60 min). Os ensaios, 5-7 e 9 (1,5 % E/S, 30- 90 min e 3 % E/S por 90 min, respectivamente), mostraram um AIE menor em relação aos outros tratamentos e os valores de proteína não hidrolisada foram significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre as emulsões estabilizadas pelos hidrolisados de grilos (*Grylloides sigillatus*).

As espumas são sistemas coloidais bifásicos com uma fase aquosa contínua e uma fase gasosa dispersa. Uma boa expansão de espuma requer rápida migração, desdobramento e reorganização na interface ar/ água para reduzir a tensão superficial (KHALED et al., 2014). A proteína hidrolisada de grilo deste estudo mostrou propriedades espumantes superiores às de outros insetos encontrados na literatura. Por exemplo, farinha de grilo africano (*Gryllidae* sp.) foi relatada como tendo uma capacidade de espuma de apenas 6% após duas horas. Yi et al. (2013) relataram baixa ou nenhuma capacidade de espuma, em uma faixa de pH, para frações de proteínas extraídas com ácido de cinco espécies diferentes de insetos, incluindo a

proteína de grilo (*Acheta domesticus*).

6 PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DAS PROTEÍNAS DE INSETOS

6.1 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE INSETOS

Em muitos organismos, há várias evidências de que peptídeos bioativos são produzidos naturalmente por proteínas da dieta durante o processo gastrointestinal. No entanto, essa produção não pode ser controlada e uma resposta fisiológica mais baixa pode ser obtida. Nas últimas décadas, surgiu um interesse crescente em identificar e caracterizar peptídeos bioativos de fontes vegetais e animais (SARMADI; ISMAIL, 2010). Hidrolisados de proteínas são proteínas digeridas em pequenos fragmentos, peptídeos e aminoácidos. Esses fragmentos de peptídeos podem conter de 2 a 20 aminoácidos que são inativos na sequência da proteína original, que pode ser liberada por hidrólise enzimática, extração por solvente e fermentação microbiana (NAJAFIN; BABJI, 2012). O processo de hidrólise enzimática é uma quebra da ligação entre os aminoácidos que compõem uma cadeia peptídica, consumindo uma molécula de água para cada quebra da ligação, resultando em peptídeos menores. A hidrólise enzimática tem uma curva típica: ocorre inicialmente uma hidrólise rápida, indicando que numerosas ligações peptídicas foram hidrolisadas, seguidas por uma diminuição na taxa de reação (NAJAFIN; BABJI, 2012; SARMADI; ISMAIL, 2010).

Vários hidrolisados foram desenvolvidos com proteínas de várias fontes animais, como por exemplo, a Castanha (*Umbrina canosai*) (DA ROCHA et al., 2018), proteína de subproduto de tilápia (*Oreochromis niloticus*) (ROSLAN et al., 2017), e de fontes vegetais, como arroz, soja, ervilha e trigo (RUDOLPH et al., 2017). Os peptídeos bioativos de insetos e outras fontes apresentam efeitos benéficos na saúde humana e nos sistemas alimentares por apresentar ação antioxidante, antimicrobiana, atividade inibidora da enzima conversora da angiotensina I, atividade antidiabética, dentre outras, podendo assim ser usados como ingredientes funcionais em alimentos (YANG et al., 2013; ZIELIŃSKA et al., 2015). No entanto, existem poucas pesquisas relacionadas à obtenção de peptídeos bioativos a partir de hidrolisados de proteínas de insetos. Os insetos são altamente nutritivos e possuem maior teor de proteínas, como mencionado anteriormente.

Segundo de Castro et al. (2018) a produção, apreciação e importância de um peptídeo específico extraído de inseto com propriedades bioativas (por exemplo, antioxidante, antimicrobiano, anti-hipertensivo) pode motivar investimentos e pesquisas sobre a extração de proteínas de insetos e suplementação de alimentos como processo de hidrólise. A bioatividade

desses peptídeos pode ser influenciada por diferentes parâmetros, como fonte de proteína, grau de hidrólise (GH), estrutura peptídica, composição de aminoácidos e tipo de protease utilizada. Além disso, a composição de aminoácidos de peptídeos em um hidrolisado de proteína é totalmente dependente dos substratos proteicos e proteinases utilizados (NAJAFINAN; BABJI, 2012).

A hidrólise enzimática de um inseto geralmente é realizada com insetos homogeneizados ou em isolados de proteínas de insetos (DE CASTRO et al., 2018). De acordo com Xiaoming et al. (2010) os insetos comestíveis também são uma importante fonte de lipídios, variando de 10 a 50 % em base seca. Assim, este composto pode ter vários pró-oxidantes, como substratos lipídicos oxidados instáveis, e pode ser removido por processo de mudança de pH. Antes da hidrólise enzimática pode ser elaborado um isolado de proteína que pode ser realizado seguindo algumas etapas: homogeneização, desengorduramento, solubilização de proteínas, precipitação isoeletrica de proteínas, ressolubilização de proteínas seguidas por uma etapa de secagem (NONGONIERMA; FITZGERALD, 2017).

As enzimas proteolíticas mais comumente usadas no processo de hidrólise de proteínas de insetos são de diferentes fontes, incluindo animais, vegetais e microbianas, respectivamente. As enzimas animais como pepsina e tripsina foram utilizadas no processo de hidrólise de *Bombyx mori chrysalises* (YANG et al., 2013). Algumas enzimas microbianas como Alcalase, Flavourzyme e termolisina foram descritas durante a hidrólise de insetos como *Bombyx mori*, *Bombus terrestris*, *Schistocerca gregaria*, *Grylloides sigillatus* e *Spodoptera littoralis* (HALL et al., 2017; YANG et al., 2013).

As proteases obtidas de fontes microbianas possuem baixo custo devido às exigências nutricionais mínimas e ao curto tempo de obtenção dos micro-organismos envolvidos. As enzimas microbianas são utilizadas na indústria de alimentos por apresentarem variabilidade de ação catalítica e fácil manipulação genética. Além disso, as proteases microbianas são tão diversas quanto existem micro-organismos na natureza (CARRASCO-CASTILLA et al., 2012). No entanto, o uso de enzimas de fontes vegetais no processo de hidrólise de proteínas de insetos parece ser raro. Yang et al. (2013) hidrolisaram *Bombyx mori chrysalises* usando papaína como enzima.

A ação catalítica da protease permite que as ligações peptídicas se clivem durante a reação que pode ser monitorada por grau de hidrólise (GH). O GH pode ser definido como a razão percentual do número de ligações peptídicas clivadas com o número total de ligações peptídicas no substrato estudado (DE CASTRO; SATO, 2014). O GH pode ser influenciado pela atividade específica da protease, pelas características do substrato (proteína) e pelas

condições da reação (NAJAFIAN; BABJI, 2012). A espécie de inseto também influencia o GH alcançado (NONGONIERMA; FITZGERALD, 2017). Zielińska et al. (2015) elaboraram hidrolisados a partir de *Gryllodes sigillatus* cozidos e *Schistocerca gregaria* fervida usando α -amilase, pepsina e pancreatina com GH de 37,76 % e 37,65 %, respectivamente. Os mesmos autores verificaram que as amostras cozidas e frescas de *Tenebrio* apresentaram GH de 11,32 e 14,78 %, respectivamente. Hall et al. (2017) elaboraram hidrolisados com grilos inteiros (*Gryllodes sigillatus*) usando Alcalase como enzima com um GH variando de 15 a 85 %. O GH influencia a bioatividade dos hidrolisados proteicos, pois a cadeia peptídica e a exposição dos grupos aminas terminais dos peptídeos produzidos dependem do GH ou/e estão relacionados a ele (NAJAFIAN; BABJI, 2012).

6.2 PEPTÍDEOS ANTIOXIDANTES

O oxigênio é essencial para manter a vida e a produção de energia, mas ao mesmo tempo espécies reativas de oxigênio (ERO), como ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila ($\bullet OH$), são continuamente geradas no metabolismo celular, que em altas concentrações podem ser extremamente prejudiciais aos constituintes celulares (NAJAFIAN; BABJI, 2012). Os organismos se protegem desses efeitos nocivos com um complexo sistema de defesa antioxidante que inclui várias defesas enzimáticas e não enzimáticas. O estresse oxidativo tem sido relacionado a processos tóxicos celulares como peroxidação lipídica da membrana, inativação enzimática, quebra do DNA dentre outros, que podem resultar em inúmeras patologias, incluindo carcinogênese, doenças cardíacas, lesões por reperfusão, artrite reumatóide e envelhecimento (RAHAL et al., 2014).

O Quadro 1 apresenta as diferentes propriedades bioativas dos hidrolisados de proteínas de insetos. As propriedades antioxidantes dos peptídeos obtidos pela digestão gastrointestinal *in vitro* dos insetos comestíveis foram relatadas por Zielińska, Karaś e Jakubczyk (2017). Os autores relataram as atividades antioxidantes de hidrolisados de barata dubia, barata silvestre de madagascar, gafanhotos, tenébrio gigante e grilo avaliadas por diferentes métodos, como capacidade de quelação dos metais, sequestro do radical livre DPPH $\bullet$ e capacidade de redução do ferro (FRAP). Esses hidrolisados foram obtidos utilizando diferentes soluções: α -amilase, pepsina, simulador de saliva, suco intestinal e sistema digestivo humano. Os hidrolisados de *Amphiacusta annulipes* apresentaram alta atividade antioxidante medida pela atividade antirradical contra DPPH ($IC_{50} = 19,1 \text{ l g / mL}$), capacidade de quelação de Fe_2^+ (58,82 %) e poder redutor (0,652).

Quadro 1 – Proteínas de insetos com propriedades bioativas

Matéri-prima	Enzima	Grau de hidrólise (%)	Concentração ou volume testado	Bioatividades	Referências
<i>Tenebrio molitor</i> , <i>Schistocerca gregaria</i> e <i>Gryllodes sigillatus</i>	α -amilase, pepsina e pancreatina	12 a 37	0,88 a 5,88 mg/mL	Citotoxicidade	Zielińska, Karaś e Jakubczyk (2017)
<i>Gryllodes sigillatus</i>	alcalase	15 a 85	1 mg/mL	Atividade inibidora da dipeptidil peptidase IV, Atividade inibidora da enzima de conversão da angiotensina e Atividade antioxidante	Hall et al. (2018)
<i>Spodoptera littoralis</i>	termolisina, alcalase e simulador de digestão gastrointestinal	não citado	211 a 1392 μ g/mL	Atividade inibidora da enzima de conversão da angiotensina e Atividade antioxidante	Vercruysse et al. (2009)
<i>Bombyx mori</i>	alcalase	1 a 30	5 mg/mL	Atividade antioxidante	Yang et al. (2013)
<i>Tenebrio molitor</i>	alcalase	20	0,017 a 0,39 mg/mL	Atividade inibidora da enzima de conversão da angiotensina	Dai et al. (2013)
<i>Bombyx mori</i> , <i>Spodoptera littoralis</i> , <i>Schistocerca gregaria</i> e <i>Bombus terrestris</i>	pepsina, tripsina e quimotripsina	52,6 a 105,5	25 e 50 μ g/mL	Atividade inibidora da enzima de conversão da angiotensina	Vercruysse et al. (2005)
<i>B. pascuorum</i> e <i>B.</i> <i>terrestris</i>	-	-	200 μ m	Atividade inibidora da enzima de conversão da angiotensina	Rahnamaeian et al. (2015)

Vercruyssen et al. (2009) relataram as atividades antioxidantes de peptídeos de *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera) usando termolisina, Alcalase e um simulador de digestão gastrointestinal contendo várias peptidases. As propriedades antioxidantes desses hidrolisados proteicos foram avaliadas por diferentes métodos, tais como FRAP e DPPH. Os hidrolisados proteicos apresentaram, após digestão gastrointestinal, atividade antioxidante de 14 % medida por FRAP e 24 % por DPPH.

Hall et al. (2018) elaboraram hidrolisados de grilos (*Gryllobates sigillatus*) utilizando Alcalase com GH variando de 15 a 85 %. Esses autores verificaram que os hidrolisados apresentaram valores mais baixos ($p < 0,05$) de eliminação de ABTS (exceto hidrolisados de proteína de grilo com GH de 85 %) em comparação com a proteína de grilo não hidrolisada (controle). No entanto, o hidrolisado proteico de grilo com GH variando de 15 a 40 % apresentou valores mais altos, enquanto GH de 50-85 % e controle apresentaram os menores valores de radicais DPPH, respectivamente. No entanto, Zielińska, Karaś e Jakubczyk (2017) avaliaram o potencial antioxidante de várias proteínas de insetos digeridas com proteases gastrointestinais, e descobriram que a atividade variava dependendo do inseto e não do GH. No entanto, os hidrolisados de proteínas do bicho-da-seda (*Bombyx mori*) foram preparados com diferentes proteases, incluindo Alcalase, e os resultados mostraram uma correlação entre GH e atividade sequestradora (YANG et al., 2013). De acordo com Chalamaiah et al. (2012), o ABTS é mais acessível aos peptídeos hidrofílicos, enquanto que os peptídeos hidrofóbicos podem interagir rapidamente com radicais peróxido, como o é o caso do DPPH. O mecanismo pelo qual a proteína hidrolisada exerce a atividade antioxidante não é totalmente conhecido, no entanto, sabe-se que os constituintes de aminoácidos e a sequência dos peptídeos resultantes são muito importantes por sua atividade antioxidante (SARMADI; ISMAIL, 2010). Alguns autores relataram que aminoácidos hidrofóbicos e aromáticos, bem como histidina, metionina, tirosina, lisina e cisteína, aumentam a potência dos peptídeos antioxidantes através da capacidade de doação de prótons, capacidade de doação de elétrons e/ou capacidade de eliminação direta de radicais lipídicos (CHALAMAIAH et al., 2012; DA ROCHA et al., 2018; NAJAFIAN; BABJI, 2012). De acordo com Hall et al. (2017), peptídeos de insetos com baixa massa molar têm mais aminoácidos expostos para interagir com os radicais livres e isso melhora seu efeito antioxidante. De acordo com Hall et al. (2018), as altas capacidades de eliminação apresentadas pelos hidrolisados de insetos podem ser resultado de peptídeos de menor massa molar (provavelmente di ou tri-peptídeos), os quais demonstraram conferir maior potencial antioxidante.

6.3 ATIVIDADE INIBIDORA DA DIPEPTIDIL PEPTIDASE IV (DPP-IV)

O diabetes é um problema importante entre os vários distúrbios metabólicos, e sua incidência está aumentando em todo o mundo. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de 3% da população mundial tem diabetes, e a prevalência deve dobrar até o ano 2025 (ABDELATIF; MARIAM; AMAL, 2012). Cerca de 50-60 % do total de insulina secretada após uma refeição resulta da resposta da incretina, mediada principalmente pelos efeitos combinados do polipeptídeo insulínico dependente de glicose (GIP) e peptídeo 1 do tipo glucagon (GLP-1), e são secretados em resposta à presença de nutrientes no lúmen intestinal (SILA et al., 2016). Incretinas, como GLP-1 e GIP, são clivadas por DPP-IV, resultando em uma perda de atividade insulínica. Assim, para aumentar a meia-vida do GLP-1 e GIP ativo, inibidores sintéticos da DPP-IV são usados como medicamentos. Assim, o bloqueio da dipeptidil peptidase-IV (DPP-IV) representa uma alternativa para o tratamento com DT2 (HALIM; YUSOF; SARBON, 2016; KETNAWA et al., 2017).

O GIP e o GLP-1 podem ser inativados por clivagem e / ou pela ação de serino proteases, como DPP-IV (SILA et al., 2016; NONGONIERMA; FITZGERALD, 2017). Vários inibidores de DPP-IV surgiram recentemente como uma nova classe de agentes orais para o tratamento de DT2, incluindo hidrolisados de proteínas de insetos produzidos a partir de grilos (*Grylloides sigillatus*) (HALL et al., 2018), além de hidrolisados de outras proteínas. No entanto, existem poucos estudos avaliando as propriedades antidiabéticas de outras proteínas derivadas de insetos (HALL et al., 2018).

Nongonierma, Lamoureux e FitzGerald (2018) estudaram a capacidade de inibição de DPP-IV de hidrolisados de proteína de grilo em faixas tropicais (*Grylloides sigillatus*) e verificaram a inatividade da melhora de amostras hidrolisadas e não hidrolisadas. A atividade catalítica do DPP-IV é determinada principalmente pela sequência de aminoácidos e pelas características estruturais do substrato, conforme relatado por vários autores (HALL et al., 2017; KETNAWA et al., 2016; NEVES et al., 2017; SILA et al., 2016).

Hall et al. (2018) elaboraram hidrolisados de proteína a partir de grilos (HPG) e avaliaram a capacidade de inibição da DPP-IV antes e depois da digestão gastrointestinal simulada (DGS). Após o DGS, a inibição de DPP-IV aumentou para todas as amostras, com HPG de GH de 60-85 % exercendo a maior inibição ($p < 0,05$) entre 62-69 % de GH. A HPG composta por peptídeos de menor massa molar (GH de 60-85 %) apresentou a maior atividade inibitória antes e depois da DGS. Além disso, de acordo com esses autores, a atividade inibitória pode ser atribuída a características semelhantes a substratos de peptídeos HPG que

interferiram na combinação de DPP-IV e Gly-Pro-pNa (substrato de ensaio). O peptídeo Val-Thr-Gly-Arg-Phe-Ala-Gly-His-Pro-Ala-Ala-Gln do hidrolisado de proteínas revelou a maior atividade inibidora da α -glucosidase (ZAMBROWICZ et al., 2015).

6.4 ATIVIDADE INIBITÓRIA DA ENZIMA CONVERSORA DA ANGIOTENSINA (ECA)

A hipertensão ou pressão alta é um dos mais importantes problemas de saúde pública de proporções epidêmicas que afetam a população em todo o mundo e é um fator para doenças cardiovasculares (CHEUNG; LI-CHAN, 2017; NONGONIERMA; FITZGERALD, 2017). Os peptídeos anti-hipertensivos inibem a ação da enzima de conversão da angiotensina-I (ECA) em angiotensina II e reduzem a pressão arterial. Essa enzima é capaz de clivar a angiotensina-I, angiotensina-II (um composto liberador de vasoconstritor), bem como inativar um vasodilatador (bradicinina), resultando em um aumento da pressão arterial (CHEUNG; LI-CHAN, 2017; CASTRO et al., 2018). Portanto, os inibidores da ECA têm sido estudados como importantes agentes anti-hipertensivos, pois têm a capacidade de diminuir a pressão arterial, inibindo a formação de angiotensina-II. A inibição da ECA é considerada uma abordagem eficaz no tratamento da hipertensão e tem sido comumente tratada com medicamentos sintéticos. No entanto, a busca por anti-hipertensivos naturais tem sido estudada através de importantes pesquisas científicas, uma vez que medicamentos sintéticos oferecem inúmeros efeitos colaterais a pacientes hipertensos (PRIYANTO et al., 2015; UDENIGWE; MOHAN, 2014).

Diferentes métodos para a avaliação da inibição da ECA são relatados usando diferentes substratos e técnicas analíticas. No entanto, numerosos estudos usam a clivagem de hipidênico-histidil-leucina pela ECA para liberar dipeptídeo de histidil-leucina e ácido hipúrico, que é medido por espectrofotometria a 228 nm após extração com acetato de etila (PRIYANTO et al., 2015).

Os peptídeos anti-hipertensivos derivados de hidrolisados de insetos têm demonstrado atividade inibidora potente contra a ECA, como mostrado no Quadro 1, através de estudos *in vivo* e *in vitro* avaliando as propriedades anti-hipertensivas de hidrolisados proteicos de insetos comestíveis. Dai et al. (2013) isolaram os peptídeos Tyr-Ala-Asn de larvas de *Tenebrio molitor* produzidas pela hidrólise de Alcalase e administraram-no em ratos em doses variando de 100 a 400 mg de peptídeo/ kg de peso corporal. Esses autores verificaram um valor moderado de ECA CI50 e a administração oral de Tyr-Ala Asn causou

uma redução significativa da pressão arterial sistólica, isto é, -27 mm Hg, 4 h após a ingestão da dose mais alta avaliada (400 mg de peptídeo/ kg de peso corporal).

Hall et al. (2018) elaboraram hidrolisados de proteína de grilo (HPG) e verificaram que a inibição da ECA aumentou com o GH. O HPG com valores de GH de 40 % e 60-85% inibiu a atividade da ECA em > 80 % e > 90 %, respectivamente, na concentração testada (5 mg/ mL). A relação entre a estrutura e a atividade inibitória ainda não está totalmente estabelecida, mas geralmente esses compostos têm entre 2 e 12 resíduos de aminoácidos de baixa massa molar e sua conexão com a ECA é fortemente influenciada pelo grau de hidrólise e pela sequência do terminal C peptídeos (KO et al., 2016). Além disso, o sítio ativo da ECA interage preferencialmente com peptídeos que tenham resíduos de aminoácidos hidrofóbicos (cadeia lateral aromática ou ramificada, respectivamente) (CASTRO et al., 2018; NEVES et al., 2017).

Vercruysse et al. (2005) observaram a presença de atividade inibitória contra a ECA nos hidrolisados de proteínas de diferentes insetos, como Lepidoptera (*Bombyx mori* e *Spodoptera littoralis*), Orthoptera (*Schistocerca gregaria*) e Hymenoptera (*Bombus terrestris*). Hidrólise subsequente com pepsina, tripsina e R-quimotripsina foi realizada para simular o processo de digestão gastrointestinal humana. Esses autores verificaram que as proteínas dos insetos apresentaram atividade inibitória contra a ECA. Os hidrolisados produzidos a partir de *Bombyx mori* apresentaram 100 e 50 % de inibição da ECA para os hidrolisados gastrointestinais e as amostras não hidrolisadas, respectivamente.

Vercruysse et al. (2009) também relataram inibição da ECA por hidrolisados de *B. mori* com ECA IC₅₀ de 0,61 e 0,24 mg/ mL, respectivamente. Alguns peptídeos inibidores da ECA derivados de insetos foram identificados, até o momento. Dois relativamente potentes, Val-Phe-Pro-Ser e Val-Trp, com ACE IC₅₀ de 0,46 e 1,50 µM, respectivamente, foram identificados em *Bombyx mori*.

6.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os peptídeos antimicrobianos (PAM) são polipeptídeos sintetizados por ribossomos e codificados por genes. Eles geralmente têm as seguintes características comuns: peptídeos pequenos (30-60 aminoácidos), fortemente catiônicos (pI 8,9-10,7), estáveis ao calor (100 °C, 15 min), e não apresentam solidez e efeito sobre as células eucarióticas (LI et al., 2012). Sabe-se que os insetos são uma das principais fontes de defensinas, cecropinas, attacinas, lebecinas e outros peptídeos ricos em prolina, gloverinas e moricinas, e sua

aplicação como antimicrobianos tem sido amplamente estudada nas últimas décadas (CASTRO et al., 2018).

Rahnamaeian et al. (2015) estudaram dois PAMs isolados de *Bombus pascuorum* e *Bombus terrestris*: abaecina (um peptídeo rico em prolina) e hymenoptera (um peptídeo rico em glicina). No entanto, a abaecina sozinha não foi capaz de agir contra *Escherichia coli* em concentrações de até 200 μ M. hymenoptera mostrou atividade microbiana em concentrações acima de 2 μ M. No entanto, quando combinados, o abaecina reduziu a concentração inibitória mínima de hymenoptera (CI50 = 0,8-1,1 μ M), levando ao aumento de seus efeitos bactericidas. Porém, os estudos sobre hidrolisados de insetos comestíveis antimicrobianos são escassos. O número de PAMs nos insetos varia significativamente de acordo com as diferentes espécies e podem ter diferentes modos de ação, como produção de espécies reativas de oxigênio, inibição da síntese e permeabilização de proteínas e ruptura ou alteração no gradiente eletroquímico da membrana (CASTRO et al., 2018; RAHNAMAEIAN et al., 2015). Os PAMs de insetos podem ser classificados em quatro grupos: peptídeos α -helicoidais, peptídeos ricos em cisteína, peptídeos ricos em prolina e peptídeos ricos em glicina (YI et al., 2013). Cytryńska et al. (2007) verificaram que a hemolinfa de *Galleria mellonella* apresentava oito peptídeos com massas molares abaixo de 6,5 kDa, demonstrando atividade antimicrobiana. As bactérias gram-positivas foram mais sensíveis. Cerca de quatro dos peptídeos purificados inibiram o crescimento de leveduras, cinco eram ativos contra *Micrococcus luteus* e quatro desses cinco foram eficazes contra *Listeria monocytogenes*, mas em uma faixa de concentração relativamente alta.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

A criação de insetos produz menos gases de efeito estufa e usa menos água e espaço do que a carne bovina, frango e porco. Além disso, como citado, também são boas fontes de proteínas, fibras e ácidos graxos. A crescente indústria de insetos comestíveis produz barras de proteínas, massas e chips feitos de insetos (FAO, 2013; HALL et al., 2018; NONGONIERMA; FITZGERALD, 2017). Tendo em vista a crescente demanda do mercado por insetos comestíveis e considerando a inclusão dessa nova fonte como alimento, é muito importante, do ponto de vista da segurança alimentar, que alguns parâmetros precisem ser avaliados. Analisando a bibliografia disponível, fica claro que apenas uma pequena variedade de insetos comestíveis é estudada para esse fim. Poucos estudos consideram o risco de alergias ou outros parâmetros importantes ao consumir insetos (NONGONIERMA;

FITZGERALD, 2017). Também é possível observar que os estudos são mais direcionados à fração protéica contida nos insetos, sendo que a avaliação das frações lipídicas e sacáridas ainda são menos explorados. Também são necessários estudos para propor a extração de componentes de insetos, a fim de substituir esses componentes em alimentos processados. Não foram encontrados estudos direcionados à extração e purificação de componentes específicos, como enzimas, para uso na área farmacêutica.

Por outro lado, os produtos à base de insetos são uma cadeia de valor emergente. Portanto, haverá desafios, como na legislação e na regulamentação do setor de insetos comestíveis. Logo, as partes interessadas precisam trabalhar juntas para fortalecer o reconhecimento de suas atividades e aumentar seu uso potencial (FAO, 2013; NONGONIERMA; FITZGERALD, 2017).

8 CONCLUSÃO

Esta revisão mostrou que certos insetos comestíveis representam boas fontes potenciais de proteínas, aminoácidos e lipídios, entre outras moléculas. Esses insetos têm um perfil nutricional equilibrado e aminoácidos requeridos para os seres humanos. Além disso, a entomofagia pode ser uma ideia-chave para alguns dos problemas alimentares do mundo, como desnutrição e fome. Insetos e alimentos comestíveis enriquecido com insetos podem prevenir vários problemas de saúde, como diabetes, hipertensão e problemas cardíacos, através da elaboração de hidrolisados proteicos. Apesar de o número de estudos que usam insetos como fonte de alimento estar aumentando, ainda são necessárias investigações em vários campos.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELATIF, A. M.; MARIAM, Y. I.; AMAL, S. M. Antidiabetic Effects of Fenugreek (*Trigonella Foenum-Graecum*) Seeds in the Domestic Rabbit (*Oryctolagus Cuniculus*). **Research Journal of Medicinal Plant**, v. 6, p. 449–455, 2012.

ADEYEYE, E.; AWOKUNMI, E. Chemical composition of female and male giant African crickets, *Brachytrypes membranaceus* L. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 1, p. 125–136, 2010.

AGBIDYE, F. S.; OFUYA, T. I.; AKINDELE, S. O. Marketability and nutritional qualities of some edible forest insects in Benue State, Nigeria. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 8, p. 917–922, 2009.

- AKPOSSAN, R. A.; DIGBEU, Y. D.; KOFFI, M. D.; PARFAIT, J.; EUGÈNE, N.; DUÉ, E. A.; KOUAMÉ, P. L. protein fractions and functional properties of dried *Imbrasia oyemensis* larvae fullfat and defatted flours. **International Journal of Biochemistry Research & Review**, v. 5, p. 116–126, 2015.
- AYUSO, R.; REESE, G.; LEONG-KEE, S.; PLANTE, M.; LEHRER, S. B. Molecular basis of arthropod cross-reactivity: IgE-binding cross-reactive epitopes of shrimp, house dust mite and cockroach tropomyosins. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 129, p. 38-48, 2002.
- BAKER, E. J.; MILES, E. A.; BURDGE, G. C.; YAQOOB, P.; CALDER, P. C. Metabolism and functional effects of plant-derived omega-3 fatty acids in humans. **Progress in Lipid Research**, v. 64, p. 30-56, 2016.
- BARENNE, H.; PHIMMASANE, M.; RAJAONARIVO, C. Insect consumption to address undernutrition, a national survey on the prevalence of insect consumption among adults and vendors in laos. **PLoS ONE**, v. 10, e0136458, 2015.
- BAZINET, R. P.; LAYÉ, S. Polyunsaturated fatty acids and their metabolites in brain function and disease. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 15, p. 771–785, 2014.
- BEENAKKERS, A. M. T.; VANDERHORST, D. J.; VANMARREWIJK, W. J. A. Insect lipids and lipoproteins, and their role in physiological processes. **Progress in lipid research**, v. 24, p. 19-67, 1985.
- BELGHIT, I.; LILAND, N. S.; GJESDAL, P.; BIANCAROSA, I.; MENCHETTI, E.; LI, Y.; WAAGBØ, R.; KROGDAHL, Å.; LOCK, E.-J. Black soldier fly larvae meal can replace fish meal in diets of sea water phase Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v. 03, p. 609-619, 2019.
- BERTENSEN, R. J.; SVANES, Ø.; MADSEN, A. M.; HOLLUND, B. E.; KIRKELEIT, J.; SIGSGAARD, T.; UHRBRAND, K.; DO, T. V.; AASEN, T. B.; SVANES, C. Pulmonary illness as a consequence of occupational exposure to shrimp shell powder. **Environmental Research**, v. 148, p. 491-509, 2016.
- BEVERLY, R. R.; BACILIZA, Q. S.; RAMOS-ELORDUY, J.; MORENO, J. M. P.; CAMPOS, S. C. A.; PÉREZ, A. G.; GARCÍA, D. V. B. Análisis químico y nutricional de tres insectos comestibles de interés comercial en la zona arqueológica del Municipio de San Juan Teotihuacán y en Otumba, en el Estado de México. **Interciencia**, v. 37, p. 914-920, 2012.
- BUBLER, S.; RUMPOLD, B. A.; JANDER, E.; RAWEL, H. M.; SCHLUTER, O. K. Recovery and techno-functionality of flours and proteins from two edible insect species: meal worm (*Tenebrio molitor*) and black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. **Heliyon**, v. 2, e00218, 2016.
- CARRASCO-CASTILLA, J.; HERNÁNDEZ-ÁLVAREZ, A. J.; JIMÉNEZ-MARTÍNEZ, C.; JACINTO-HERNÁNDEZ, C.; ALAIZ, M.; GIRÓN-CALLE, J.; DÁVILA-ORTIZ, G. Antioxidant and metal chelating activities of Phaseolus vulgaris L. var. Jamapa protein isolates, phaseolin and lectin hydrolysates. **Food Chemistry**, v. 131, p. 1157-1164, 2012.

CHALAMAIAH, M.; DINESH KUMAR, B.; HEMALATHA, R.; JYOTHIRMAYI, T. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. **Food chemistry**, v. 135, p. 3020-3038, 2012.

CHEUNG, I. W. Y.; LI-CHAN, E. C. Y. Enzymatic production of protein hydrolysates from steelhead (*Oncorhynchus mykiss*) skin gelatin as inhibitors of dipeptidyl-peptidase IV and angiotensin-I converting enzyme. **Journal of Functional Foods**, v. 28, p. 254–264, 2017.

CHUNG, A. Y. C. Edible insects and entomophagy. In: FOREST INSECTS AS FOOD: HUMANS BITE BACK. PROCEEDINGS OF A WORKSHOP ON ASIA-PACIFIC RESOURCES AND THEIR POTENTIAL FOR DEVELOPMENT. **Anais...** Bangkok: FAO, 2010. p. 115-122.

CYTRYŃSKA, M.; MAK, P.; ZDYBICKA-BARABAS, A.; SUDER, P.; JAKUBOWICZ, T. Purification and characterization of eight peptides from *Galleria mellonella* immune hemolymph. **Peptides**, v. 28, p. 533-546, 2007.

DA ROCHA, M.; ALEMÁN, A.; BACCAN, G. C.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; GÓMEZ-GUILLÉN, C.; MONTERO, P.; PRENTICE, C. Anti-inflammatory, antioxidant, and antimicrobial effects of underutilized fish protein hydrolysate. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 27, p. 592–608, 2018.

DAI, C.; MA, H.; LUO, L.; YIN, X. Angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptide derived from *Tenebrio molitor* (L.) larva protein hydrolysate. **European Food Research and Technology**, v. 236, p. 681–689, 2013.

DE CASTRO, R. J. S.; SATO, H. H. Advantages of an acid protease from *Aspergillus oryzae* over commercial preparations for production of whey protein hydrolysates with antioxidant activities. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 3, p. 58–65, 2014.

DE CASTRO, R. J. S.; OHARA, A.; AGUILAR, J. G. DOS S.; DOMINGUES, M. A. F. Nutritional, functional and biological properties of insect proteins: Processes for obtaining, consumption and future challenges. **Trends in Food Science and Technology**, v. 76, p. 82–89, 2018.

DEFOLIART, G. R. Insects as human food. **Crop Protection**, v. 11, p. 395–399, 1992.

DEFOLIART, G. R. Insect fatty acids: Similar to those of poultry and fish in their degree of unsaturation, but higher in the polyunsaturates. **The Food Insects Newsletter**, v. 4, p. 1–4, 1991.

DOWNER, R. G. H.; MATHEWS, J. R. Patterns of lipid distribution and utilisation in insects. **American Zoologist**, v. 16, p. 733-745, 1976.

DUBEY, L.K. MOELLER, J. B.; SCHLOSSER, A.; SORENSEN, G. L.; HOLMSKOV, U. Chitin enhances serum IgE in *Aspergillus fumigatus* induced allergy in mice. **Immunobiology**, v. 220, p. 714-721, 2015.

EKPO, K. E.; ONIGBINDE, A. O.; ASIA, I. O. Pharmaceutical potentials of the oils of some popular insects consumed in southern Nigeria. **African Journal of Pharmacy and**

Pharmacology, v. 3, p. 51-57, 2009.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) 2013. **Fish to 2030 prospects for fisheries and aquaculture**. World Bank report n° 83177-GLB.

FINK, M. D.; DEFOLIART, G.; BENEVENGA, N. J. Use of a four-parameter logistic model to evaluate the quality of the protein from three insect species when fed to rats. **The Journal of Nutrition**, v. 119, p. 864–871, 1989.

FINKE, M. D. Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. **Zoo Biology**, v. 21, p. 269–285, 2002.

FINKE, M. D. Estimate of Chitin in Raw Whole Insects. **Zoo Biology**, v. 26, p. 105–115, 2007.

FOSTE, M.; ELGETI, D.; BRUNNER, A. K.; JEKLE, M.; BECKER, T. Isolation of quinoa protein by milling fractionation and solvent extraction. **Food and Bioproducts Processing**, v. 96, p. 20–26, 2015.

FURG – Universidade Federal do Rio Grande. Myriam de las Mercedes Salas Mellado, Andressa Jantzen da Silva Lucas, Carolina Lopes Cadaval, Lauren Menegon de Oliveira. Farinha de insetos para enriquecimento alimentício. BR n. 102015028820-4 A2, 23 May 2017.

GERE, A.; ZEMEL, R.; RADVÁNYI, D.; MOSKOWITZ, H. Consumer Response to Insect Foods. In: SMITHERS, G. **Reference Module in Food Science**. Elsevier Ltd, p. 1–6, 2018.

GIER, S.; VERHOECKX, K. Insect (food) allergy and allergens. **Molecular Immunology**, v. 100, p. 82-106, 2018.

GILBY, A. R. Lipids and their metabolism in insects. **Annual Review of Entomology**, v. 10, p. 141-160, 1965.

HALIM, N. R. A.; YUSOF, H. M.; SARBON, N. M. Functional and bioactive properties of fish protein hydrolysates and peptides: A comprehensive review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 51, p. 24–33, 2016.

HALL, F.; JOHNSON, P. E.; LICEAGA, A. Effect of enzymatic hydrolysis on bioactive properties and allergenicity of cricket (*Gryllodes sigillatus*) protein. **Food Chemistry**, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.058>.

HALL, F. G.; JONES, O. G.; O'HAIRE, M. E.; LICEAGA, O. M. Functional properties of tropical banded cricket (*Gryllodes sigillatus*) protein hydrolysates. **Food Chemistry**, v. 224, p. 414-422, 2017.

HALLORAN, A.; ROOS, N.; EILENBERG, J.; CERUTTI, A.; BRUUN, S. Life cycle assessment of edible insects for food protein: A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 36, p. 57, 2016.

JONAS-LEVIA, A.; MARTINEZ, J.-J. I. The high level of protein content reported in insects

for food and feed is overestimated. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 62, p. 184–188, 2017.

JONGEMA, Y. List of edible insects of the world. Wageningen, The Netherlands: Wageningen University. WUR: Holanda, 100 p., 2017. Disponível em: <https://www.wur.nl/en/Research-Results/Chair-groups/Plant-Sciences/Laboratory-of-Entomology/Edible-insects/Worldwide-species-list.htm> Acesso em: 12/06/2019.

KAMEMURA, N.; SUGIMOTO, M.; TAMEHIRO, N.; ADACHI, R.; TOMONARI, S.; WATANABE, T.; MITO, T. Cross-allergenicity of crustacean and the edible insect *Gryllus bimaculatus* in patients with shrimp allergy. **Molecular Immunology**, v. 106, p. 127–134, 2019.

KAYA, M.; ERDOGAN, S.; MOL, A.; BARAN, T. Comparison of chitin structures isolated from seven Orthoptera species. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 797–805, 2015.

KHALED, H. B.; KTARI, N.; GHORBEL-BELLAAJ, O.; JRIDI, M.; LASSOUED, I.; NASRI, M. Composition, functional properties and in vitro antioxidant activity of protein hydrolysates prepared from sardinelle (*Sardinella aurita*) muscle. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, p. 622–633, 2014.

KEMPER, T. G. Solvent Extraction. In: HAMM, W.; HAMILTON, R. J.; CALLIAUW, g. **Edible Oil Processing**. Oxford: John Wiley & Sons, 2013.

KETNAWA, S.; BENJAKUL, S.; MARTÍNEZ-ALVAREZ, O.; RAWDKUEN, S. skin gelatin hydrolysates produced by visceral peptidase and bovine trypsin: Bioactivity and stability. **Food Chemistry**, v. 215, p. 383–385, 2017.

KO, J. Y.; KANG, N.; LEE, J. H.; KIM, J. S.; KIM, W. S.; PARK, S. J.; JEON, Y. J. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from an enzymatic hydrolysate of flounder fish (*Paralichthys olivaceus*) muscle as a potent anti-hypertensive agent. **Process Biochemistry**, v. 5, p. 535–541, 2016.

LI, Y.; XIANG, Q.; ZHANG, Q.; HUANG, Y.; SU, Z. Overview on the recent study of antimicrobial peptides: Origins, functions, relative mechanisms and application. **Peptides**, 37, 207–215, 2012.

MARIOD, A. A.; ABDELWAHAB, S. I.; GEDI, M. A.; SOLATI, Z. Supercritical carbon dioxide extraction of sorghum bug (*Agonoscelis pubescens*) oil using response surface methodology. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 87, p. 849–856, 2010.

MEGIDO, C. R.; GIERTS, C.; BLECKER, C.; BROSTAUX, Y.; HAUBRUGE, É.; ALABI, T.; FRANCIS, F. Consumer acceptance of insect-based alternative meat products in Western countries. **Food Quality and Preference**, v. 52, p. 237–243, 2016.

MELO, D. M.; ROSENO, T. F.; BARROS, W. M.; FARIA, R. A. P. G.; PAGLARINI, C. S.; FARIA, P. B.; MARIOTTO, S.; SOUZA, X. R. Fatty acid profiles and cholesterol content of five species of pacu-pevas from the pantanal region of Mato Grosso, Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 83, p. 103283, 2019.

MISHYNA, M.; ITZHAK, J.-J.; CHEN, J.; BENJAMIN, O. Extraction, characterization and functional properties of soluble proteins from edible grasshopper (*Schistocerca gregaria*) and honey bee (*Apis mellifera*). **Food Research International**, v. 116, p. 697-706, 2019.

MITSUHASHI, J. The future use of insects as human food. In: FOREST INSECTS AS FOOD: HUMANS BITE BACK. PROCEEDINGS OF A WORKSHOP ON ASIA-PACIFIC RESOURCES AND THEIR POTENTIAL FOR DEVELOPMENT. **Anais...** Bangkok: FAO, 2010. p. 115-122.

NAJAFIAN, L.; BABJI, A. S. A review of fish-derived antioxidant and antimicrobial peptides: Their production, assessment, and applications. **Peptides**, v. 33, p. 178–185, 2012.

NAKAMURA, M. T.; YUDELL, B. E.; LOOR, J. J. Regulation of energy metabolism by longchain fatty acids. **Progress in Lipid Research**, v. 53, p. 124-144, 2014.

NEVES, A. C.; HARNEDY, P. A.; O'KEEFFE, M. B.; ALASHI, M. A.; ALUKO, R. E.; FITZGERALD, R. J. Peptide identification in a salmon gelatin hydrolysate with antihypertensive, dipeptidyl peptidase IV inhibitory and antioxidant activities. **Food Research International**, v. 100, p. 112–120, 2017.

NONGONIERMA, A. B.; FITZGERALD, R. J. Unlocking the biological potential of proteins from edible insects through enzymatic hydrolysis: A review. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 43, p. 239-252, 2017.

NONGONIERMA, A. B.; LAMOUREUX, C.; FITZGERALD, R. J. Generation of dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory peptides during the enzymatic hydrolysis of tropical banded cricket (*Gryllodes sigillatus*) proteins. **Food & function**, v. 9, p. 407-416, 2018.

OLIVEIRA, L. M.; LUCAS, A. J. S.; CADAVAL, C. L. SALAS-MELLADO; M. M. Bread enriched with flour from cinereous cockroach (*Nauphoeta cinerea*). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 2017.

OONINCX, D. G. A. B.; VAN BROEKHOVEN, S. V.; VAN HUIS, A.; VAN LOON, J. J. A. Feed conversion, survival and development, and composition of four insect species on diets composed of food by-products. **Plos One**, v. 10, 2015.

PACHECO-AGUILAR, R.; MAZORRA-MANZANO, M. A.; RAMÍREZ-SUÁREZ, J. C. Functional properties of fish protein hydrolysates from Pacific whiting (*Merluccius productus*) muscle produced by a commercial protease. **Food Chemistry**, v. 109, p. 782–789, 2008.

PEDROSA, M.; BOYANO-MARTÍNEZ, T.; GARCÍA-ARA, C.; QUIRCE, S. Shellfish allergy: a comprehensive review. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, v. 49, p. 203-216, 2015.

PIRES, C. V.; OLIVEIRA, M. G. A.; ROSA, J. C.; COSTA, N. M. B. Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes proteicas. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 26, p. 179-187, 2006.

POMA, G.; CUYKX, M.; AMATO, E.; CALAPRICE, C.; FOCANT, J. F.; COVACI, A. Evaluation of hazardous chemicals in edible insects and insect-based food intended for human consumption. **Food and Chemical Toxicology**, v. 100, p. 70–79, 2017.

POMÉS, A.; MUELLER, G. A.; RANDALL, T. A.; CHAPMAN, M. D.; ARRUDA, L. K. New insights into cockroach allergens. **Current Allergy and Asthma Reports**, v. 17, p. 17–25, 2017.

POOTVLIET, P. M.; VAN DER PAS, L.; MULDER, B. C.; FOGLIANO, V. Healthy, but disgusting: an investigation into consumer's willingness to try insect meat. **Journal of Economic Entomology**, v. 112, p. 1005–1010, 2019.

PRIYANTO, A. D.; DOERKSEN, R. J.; CHANG, C. I.; SUNG, W. C.; WIDJANARKO, S. B.; KUSNADI, J.; LIN, Y. C.; WANG, T. C.; HSU, J. L. Screening, discovery, and characterization of angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptides derived from proteolytic hydrolysate of bitter melon seed proteins. **Journal of Proteomics**, 128, 424–435, 2015.

PURSCHKE, B.; STEGMANN, T.; SCHREINER, M.; JÄGER, H. Pilot-scale supercritical CO₂ extraction of edible insect oil from *Tenebrio molitor* L. larvae—Influence of extraction conditions on kinetics, defatting performance and compositional properties. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 118, 1600134, 2016.

RAHAL, A.; KUMAR, A.; SINGH, V.; YADAV, B.; TIWARI, R.; CHAKRABORTY, S.; DHAMA, K. Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 761264, 2014.

RAHNAMAEIAN, M.; CYTRYŃSKA, M.; ZDYBICKA-BARABAS, A.; DOBSLAFF, K.; WIESNER, J.; TWYMAN, R. M.; ET AL. Insect antimicrobial peptides show potentiating functional interactions against Gram-negative bacteria. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 282 p. 2–10, 2015.

ROSLAN, J.; MUSTAPA KAMAL, S. M.; KHAIRUL, K. F.; ABDULLAH, N. Assessment on multilayer ultrafiltration membrane for fractionation of tilapia by-product protein hydrolysate with angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity. **Separation and Purification Technology**, v. 173, p. 250–257, 2017.

ROY, B. C.; SASAKI, M.; GOTO, M. Effect of temperature and pressure on the extraction yield of oil from sunflower seed with supercritical carbon dioxide. **Journal of Applied Sciences**, v. 6, p. 71–75, 2006.

RUDOLPH, S.; LUNOW, D.; KAISER, S.; HENLE, T. Identification and quantification of ACE inhibiting peptides in enzymatic hydrolysates of plant proteins. **Food Chemistry**, v. 224, p. 19–25, 2017.

RUMPOLD, B. A.; SCHLÜTER, O. K. Nutritional composition and safety aspects of edible insects. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 57, p. 802–823, 2013.

RUMPOLD, B. A.; SCHLÜTER, O. K. Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 17, p. 1–11, 2012.

RUTTEN, M. T. J.; ACHTERBOSCH, I. J. M.; DEBOER, J. C.; CUARESMA, J. M.; GELEIJNSE, P.; HAVLÍK, T.; HECKELEI, J.; INGRAM, A.; LEIP, S.; MARETTE, H.; VAN MEIJL, L.G.; SOLER, J.; SWINNEN, P.; VAN'T VEER, J.; VERVOORT, A.; ZIMMERMANN, K. L.; ZIMMERMANN, M.; ZUREK, M. Models and foresight for European sustainable food and nutrition security: The vision of the SUSFANS project. **Agricultural Systems**, 2016.

SARMADI, B. H.; ISMAIL, A. Antioxidative peptides from food proteins: A review. **Peptides**, v. 31, p. 1949–1956, 2010.

SCHLÜTER, O.; RUMPOLD, B.; HOLZHAUSER, T.; ROTH, A.; VOGEL, R. F.; QUASIGROCH, W.; VOGEL, S.; HEINZ, V.; JÄGER, H.; BANDICK, N.; KULLING, S.; KNORR, D.; STEINBERG, P.; ENGEL, K. H. Safety aspects of the production of foods and food ingredients from insects. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 61, p. 1600520, 2016.

SIGSGAARD, T.; THORNE, P. S.; SCHLÜNSSEN, V.; BØNLØKKE, J.; RIDDERVOLD, I. S.; HOPPE, K. A.; ANDERSEN, N. T.; MACKENZIE, N. M. The change in nasal inflammatory markers after intranasal challenges with particulate chitin and lipopolysaccharide: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study with a positive control. **International Forum of Allergy & Rhinology**, v. 5, p. 716–723, 2015.

SILA, A.; ALVAREZ, O. M.; HADDAR, A.; FRIKHA, F.; DHULSTER, P.; NEDJAR-ARROUME, N.; BOUGATEF, A. Purification, identification and structural modelling of DPP-IV inhibiting peptides from barbel protein hydrolysate. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 1008, p. 260–269, 2016.

SIRIMUNGKARARAT, S.; SAKSIRIRAT, W.; NOPPARAT, T.; NATONGKHAM, A. Edible products from eri and mulberry silkworms in Thailand. FOREST INSECTS AS FOOD: HUMANS BITE BACK. PROCEEDINGS OF A WORKSHOP ON ASIA-PACIFIC RESOURCES AND THEIR POTENTIAL FOR DEVELOPMENT. **Anais...** Bangkok: FAO, 2010. p. 115–122.

SOSA, D. A. T.; FOGLIANO, V. Potencial of insect-derived ingredients for food applications. In: SCHIELDS, V. D. C. **Insect physiology and ecology**. InTech. 2017.

STAHL, E.; SCHUETZ, E.; MANGOLD, H. K. Extraction of seed oils with liquid and supercritical carbon dioxide. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 28, p. 1153–1157, 1980.

STAMER, A. Insect proteins-a new source for animal feed: The use of insect larvae to recycle food waste in high-quality protein for livestock and aquaculture feeds is held back largely owing to regulatory hurdles. **EMBO Reports**, v. 16, p. 676–80, 2015.

SUN-WATERHOUSE, D.; WATERHOUSE, G. I. N.; YOU, L.; ZHANG, J.; LIU, Y.; MA, L. Transforming insect biomass into consumer wellness foods: A review. **Food Research International**, v. 89, p. 129–151, 2016.

TAN, H. S. G.; FISCHER, A. R. H.; VAN TRIJP, H. C. M.; STIEGER, M. Tasty but nasty? Exploring the role of sensory-liking and food appropriateness in the willingness to eat unusual

novel foods like insects. **Food Quality and Preference**, v. 48, p. 293–302, 2016.

TZOMPA-SOSA, D. A.; YI, L. Y.; VAN VALENBERG, H. J. F.; VAN BOEKEL, M. A. J. S.; LAKEMON, C. M. M. Insect lipid profile: Aqueous versus organic solvent- based extraction methods. **Food Research International**, v. 62, p. 1087–1094, 2014.

UDENIGWE, C. C.; MOHAN, A. Mechanisms of food protein-derived antihypertensive peptides other than ACE inhibition. **Journal of Functional Foods**, v. 8, p. 45–52, 2014.

USHAKOVA, N. A.; BRODSKII, E. S.; KOVALENKO, A. A.; BASTRAKOV, A. I.; KOZLOVA, A.; PAVLOV, D. Characteristics of lipid fractions of larvae of the Black soldier fly *Hermetia illucens*. **Doklady Biochemistry and Biophysics**, v. 468, p. 209-212, 2016.

VAN HUIS, A., Edible insects are the future? **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 75, p. 294–305, 2016.

VAN HUIS, A.; VAN ITTERBEECK, J.; KLUNDER, H.; MERTENS, E.; HALLORAN, A.; MUIR, G.; VANTOMME, P. Edible Insects. Future Prospects for Food and Feed Security. FAO: Rome, 201 p., 2013. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/018/i3253e/i3253e00.htm> Acesso em: 18/04/2018.

VELDKAMP, T.; VAN DUINKERKEN, G.; VAN HUIS, A.; LAKEMON, C. M. M.; OTEVANGER, E.; BOSCH, G.; VAN BOEKEL, M. A. J. S. **Insects as a sustainable feed ingredient in pig and poultry diets – a feasibility study**. 1th ed. Wageningen: Wageningen UR Livestock Research, 2012. 49 p.

VERCRUYSSSE, L., SMAGGHE, G., HERREGODS, G., VAN CAMP, J. ACE inhibitory activity in enzymatic hydrolysates of insect protein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 5207–5211, 2005.

VERCRUYSSSE, L.; SMAGGHE, G.; BECKERS, T.; CAMP, J. V. Antioxidative and ACE inhibitory activities in enzymatic hydrolysates of the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis*. **Food chemistry**, v. 114, p. 38-43, 2009.

VERHOECKX, K. C.; VAN BROEKHOVEN, S.; DEN HARTOG-JAGER, C. F.; GASPARI, M.; DE JONG, G. A.; WICHERS, H. J.; VAN HOFFEN, E.; HOUBEN, G. F.; KNULST, A, C. House dust mite (Der p 10) and crustacean allergic patients may react to food containing *Yellow mealworm* proteins. **Food and Chemical Toxicology**, v. 65, p. 364-373, 2014.

XIAOMING, C.; YING, F.; HONG, Z.; ZHIYONG, C. Review of the nutritive value of edible insects. In: FOREST INSECTS AS FOOD: HUMANS BITE BACK, PROCEEDINGS OF A WORKSHOP ON ASIA-PACIFIC RESOURCES AND THEIR POTENTIAL FOR DEVELOPMENT. **Anais...** Bangkok: FAO, 2010. p. 85-92.

YANG, R.; ZHAO, X.; KUANG, Z.; YE, M.; LUO, G.; XIAO, G.; XIONG, Z. Optimization of antioxidant peptide production in the hydrolysis of silkworm (*Bombyx mori* L.) pupa protein using response surface methodology. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 11, p. 952956, 2013.

YI, L. Y.; LAKEMON, C. M. M.; SAGIS, L. M. C.; EISNER-SCHADLER, V.; VAN HUIS, A.; VAN BOEKEL, M. A. J. S. Extraction and characterisation of protein fractions from five insect species. **Food Chemistry**, v. 141, p. 3341-3348, 2013.

YI, L.; VAN BOEKEL, M. A. J. S.; BOEREN, S.; LAKEMON, C. M. M. Protein identification and *in vitro* digestion of fractions from *Tenebrio molitor*. **European Food Research and Technology**, v. 242, p. 1285-1287, 2016.

YNSECT. Nathalie Berezina, Antoine Humbert, Fabrice Berro, Jean-Gabriel Levon, Karine Le Roux, Cecilia Socolsky, Lorena Sanchez, Sophie Laurent. Chitin, hydrolysate and method for the production of one or more desired products from insects by means of enzymatic hydrolysis. US n. 2018/0016357 A1, 18 jan. 2018.

ZAMBROWICZ, A.; POKORA, M.; SETNER, B.; DĄBROWSKA, A.; SZOŁTYSIK, M.; BABIĆ, K.; CHRZANOWSKA, J. Multifunctional peptides derived from an egg yolk protein hydrolysate: Isolation and characterization. **Amino Acids**, v. 47, p. 369–380, 2015.

ZHANG, T.; WANG, T.; LIU, R.; CHANG, M.; JIN, Q.; WANG, X. Chemical characterization of fourteen kinds of novel edible oils: A comparative study using chemometrics. **LWT**, v. 118, p. 108725, 2020.

ZHAO, Q.; SELOMULYA, C.; XIONG, H.; CHEN, X. D.; RUAN, X.; WANG, S.; ZHOU, Q. Comparison of functional and structural properties of native and industrial process-modified proteins from long-grain indica rice. **Journal of Cereal Science**, v. 56, p. 568–575, 2012.

ZHAO, X., VAZQUEZ-GUTIERREZ, J. L., JOHANSSON, D. P., LANDBERG, R., & LANGTON, M. Yellow mealworm protein for food purposes - extraction and functional properties. **PLoS ONE**, v. 11, e0147791, 2016.

ZIELIŃSKA, E.; BARANIAK, B.; KARAS, M.; RYBCZYŃSKA, K.; JAKUBCZYK, A. Select species of edible insects as a source of nutrient composition. **Food Research International**, v. 77, p. 460-466, 2015.

ZIELIŃSKA, E.; KARAS, M.; BARANIAK, B. Comparison of functional properties of edible insects and protein preparations thereof. **LWT - Food Science and Technology**, v. 91, p. 168-174, 2018.

ZIELIŃSKA, E.; KARAS, M.; JAKUBCZYK, A. Antioxidant activity of predigested protein obtained from a range of farmed edible insects. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 52, p. 306-312, 2017.

ARTIGO II:
COMO OS DIFERENTES ESTÁGIOS DO DESENVOLVIMENTO INTERFEREM
NA COMPOSIÇÃO PROXIMAL DA BARATA CINÉREA (*Nauphoeta cinerea*)

LUCAS, A. J. S.; OLIVEIRA, L. M.; PRENTICE, C. Como os diferentes estágios do desenvolvimento interferem na composição proximal da barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*). **Brazilian Journal of Development**, v. 5, p. 32510-32516, 2019.

DOI: 10.34117/bjdv5n12-315

COMO OS DIFERENTES ESTÁGIOS DO DESENVOLVIMENTO INTERFEREM NA COMPOSIÇÃO PROXIMAL DA BARATA CINÉREA

(*Nauphoeta cinerea*)

RESUMO

A sustentabilidade está se tornando cada vez mais importante no mundo em que vivemos, então fontes alternativas de alimento devem ser encontradas para substituir ingredientes tradicionais e menos sustentáveis. Uma alternativa possível seria usar proteínas e lipídios de insetos como matriz alimentar para substituir os já existentes. A rapidez com que se reproduzem os transforma em uma fonte abundante de alimento. Eles são ricos em proteínas, lipídios, vitaminas e minerais, como ferro e cálcio. As proteínas e lipídios contidos são altamente nutritivos podendo assim ser utilizados como ingredientes alimentares. No entanto, a suplementação de produtos alimentícios com insetos requer um grande conhecimento das características físico-químicas desses ingredientes, bem como de sua funcionalidade ou bioatividade. Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar a influência de diferentes estágios do desenvolvimento da barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*) na composição proximal deste inseto. A barata cinérea foi caracterizada como ninfa, adulto e uma mistura aleatória dos dois, realizando-se análises de umidade, cinzas, lipídios e proteínas. O teor de carboidratos foi estimado por diferença. Os insetos foram abatidos por branqueamento após 48 h de jejum hídrico. Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados submetidos à Análise de Variância (*One-way* ANOVA) sucedidos pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de significância ($p < 0,05$). Ao observar os resultados, pode-se concluir que a barata cinérea apresenta um maior teor de lipídios no estágio de ninfa (41,7 %), bem como um maior teor de proteínas na fase adulta (68,5 %). Com exceção da análise de cinzas, todas as outras diferiram estatisticamente entre si. Com os resultados obtidos torna-se evidente qual estágio do desenvolvimento deve ser utilizado para extração e estudo específicos destes diferentes componentes.

Palavras-chave: Adulto. Lipídios. Ninfa. Proteínas.

1 INTRODUÇÃO

Os insetos atualmente estão sendo considerados como uma fonte de alimento promissora, devido a seus altos valores nutricionais (CHURCHWARD-VENNE et al., 2017; VAN HUIS, 2016). A ingestão de insetos se tornou uma nova tendência nas ciências alimentícias desde 2013, depois que a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) publicou um documento intitulado “Insetos comestíveis: perspectivas futuras de segurança alimentar e nutricional” (VAN HUIS et al., 2013). Desde então, o

número de publicações que lidam com o uso potencial de insetos como alimento humano vem aumentando continuamente ano após ano (MÜLLER et al., 2016).

Os insetos comestíveis podem compensar o aumento da demanda por proteína de origem animal, evitando o desmatamento de florestas para uso como pastagem, possuem uma alta eficiência de conversão de alimentos em comparação com a pecuária convencional e são responsáveis por emissões relativamente baixas de gases de efeito estufa e amônia (POMA et al., 2017). Possuem uma excelente composição nutricional não somente pela sua alta concentração de aminoácidos, quando comparado a outras fontes, mas também seu potencial para atender todos os chamados princípios sustentáveis, saudáveis, acessíveis e palatáveis (AKHTAR; ISMAN, 2018).

A entomofagia, ou ato de comer insetos, surgiu com os primeiros hominídeos, mas apenas recentemente ganhou impulso nas culturas ocidentais. Aproximadamente 113 países em todo o mundo praticam entomofagia. Os insetos são consumidos de diferentes formas por cerca de 2 bilhões de pessoas, predominantemente em partes da Ásia, África e América Latina, tendo mais de 2.100 espécies já catalogadas como comestíveis (JONGEMA, 2017).

A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) apontou a necessidade de examinar as práticas modernas de ciência de alimentos para aumentar o comércio, consumo e aceitação dos insetos (FAO, 2013). Pesquisadores desta área têm inovado e buscado soluções alternativas para melhorar o processamento e aumentar a vida útil de produtos oriundos de insetos a fim de aumentar a disponibilidade e a aceitação do consumidor. Uma das soluções propostas é o isolamento de proteínas e lipídios de insetos a fim de serem usadas como ingredientes alimentícios, porém, isso requer um profundo conhecimento das características físico-químicas das proteínas e lipídios, sua funcionalidade e uma avaliação da percepção e das motivações do consumidor para aceitar essa nova fonte (SOSA; FOGLIANO, 2017). Portanto, o presente estudo teve por objetivo avaliar a composição proximal da barata cinérea em diferentes estágios de seu desenvolvimento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATÉRIA-PRIMA

A barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*) foi fornecida viva pela Nutrinsecta Criação e Comércio de Insetos Ltda (Betim/MG). O criadouro possui certificação no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil.

2.2 ABATE

Os insetos vivos foram abatidos por branqueamento, segundo Vandeweyer et al. (2017) em água a uma temperatura de 100 °C por 40 s. Antes do abate, os insetos foram mantidos em jejum hídrico por 48 h a fim de limpar o trato gastrointestinal.

2.3 COMPOSIÇÃO PROXIMAL DA BARATA CINÉREA

A fim de determinar qual o melhor estágio do crescimento a ser utilizado, a barata cinérea foi caracterizada em três grupos: ninfa, adulto e uma mistura das duas fases (ninfa/adulto). A caracterização foi realizada logo após o branqueamento (100 °C/40 s). Foi feita uma pasta utilizando moinho de facas (Modelo Wiley Moinho Padrão no. 03, EUA) e a mesma foi destinada as demais análises físico-químicas: determinação de umidade (n° 960,39), cinzas (n° 923,03), proteínas segundo o método Kjeldahl (n° 992,15) e lipídios segundo o método de Soxhlet (n° 925,30), conforme a AOAC (2000). Carboidratos foram determinados por diferença.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos resultados obtidos (Tabela 1), observa-se que, com exceção da análise de cinzas, todas as outras diferiram estatisticamente entre si, tornando evidente qual estágio do desenvolvimento deve ser utilizado para obtenção de proteínas ou lipídios. Como esperado, o principal componente do inseto foi a umidade (69,2 para ninfa, 69,3 para ninfa/adulto e 67,9 para adulto), seguido por proteína e lipídios e com menores quantidades de cinzas e carboidratos. É possível encontrar na literatura numerosas análises proximais de uma variedade de insetos comestíveis. Os valores aqui relatados para umidade, proteína, lipídios, cinzas e carboidratos são similares aos relatados anteriormente para mesma espécie (OLIVEIRA et al., 2017).

Como a literatura científica coleta cada vez mais dados sobre os benefícios nutricionais dos insetos, estes permitem aos pesquisadores realizar uma comparação detalhada dos perfis nutricionais de insetos e fontes tradicionais de proteína. Existem, no entanto, vários fatores que influenciam o perfil nutricional da mini-pecuária. O conteúdo de gordura e a composição de ácidos graxos, por exemplo, estão diretamente relacionados à espécie, sexo,

Tabela 1- Composição proximal da barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*) fresca em diferentes estágios do desenvolvimento (média $\pm$ desvio padrão) (base seca).

	Cinzas (%)	Lipídios (%)	Proteínas (%)	Carboidratos (%)
Ninfa	4,3 $\pm$ 0,1 ^a	41,7 $\pm$ 0,8 ^a	50,0 $\pm$ 0,1 ^c	4,0*
Ninfa e adulto	4,0 $\pm$ 0,1 ^{ab}	27,6 $\pm$ 0,8 ^b	62,2 $\pm$ 0,2 ^b	6,2*
Adulto	3,9 $\pm$ 0,2 ^b	22,5 $\pm$ 0,1 ^c	68,5 $\pm$ 0,5 ^a	5,1*

*Valores estimados por diferença

*Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de 95% de confiança (Tukey).

estágio de vida, dieta, temperatura ambiente dentre outros (BEENAKKERS et al., 1985; XIAOMING et al., 2010). Os insetos tendem a ter um maior teor de gordura em sua forma larval devido às maiores exigências de energia durante seu desenvolvimento (PAYNE et al., 2016), fato este que pode ser observado ao se comparar o teor de lipídios obtido da barata cinérea na forma de ninfa (41,7 %) e adulto (22,5 %). O mesmo comportamento é observado no tenébrio comum (*Tenebrio molitor*), mostrando grandes diferenças no conteúdo de proteínas (FINKE, 2002) e de ácidos graxos (RAVZANAADII et al., 2012) entre as fases larval e adulta. Porém, este mesmo comportamento não foi observado nas pupas de bicho-da-seda (*Samia ricinii*). Longvah, Mangthya e Ramulu (2011) relataram que estas possuem valores nutricionais similares, independentemente de seus estágios de desenvolvimento e fonte de alimento oferecido.

Diversos autores sugerem que uma quantidade significativa de nitrogênio contida nos insetos pode ser oriunda da quitina e, assim, o cálculo do teor de proteína usando fator de conversão 6,25 poderia resultar em uma superestimativa do verdadeiro teor proteico dos mesmos, explicando, assim, os elevados valores de proteína encontrados. No entanto, o estudo de Finke (2007) relata que embora a análise detalhada de aminoácidos seja preferida, o nitrogênio 6,25 fornece uma estimativa razoável da proteína total para a maioria dos insetos. Ao analisar a quantidade de quitina contida em insetos inteiros, o autor observou que a recuperação de proteínas para estas espécies é relativamente alta, com uma média de 92,4 %. Na maioria dos casos, quando os insetos são analisados quanto a aminoácidos e onde todos os aminoácidos são relatados, a recuperação relativamente alta de nitrogênio sugere que o nitrogênio da quitina é uma fração relativamente pequena do conteúdo total de nitrogênio do inseto, uma vez que a quitina está presente apenas na exocutícula e endocutícula do inseto e, na maioria dos insetos estudados, a proteína, e não a quitina, é o composto predominante na cutícula (KRAMER; HOPKINS; SCHAEFER, 1995). Todos esses dados confirmam o fato de

que o nitrogênio quitinoso representa uma fração bastante pequena do nitrogênio total do inseto.

Após realizar uma revisão dos dados de composição proximal de insetos comestíveis, pode-se relatar que, embora existam numerosas publicações, estas, infelizmente, possuem dados muito repetidos e os mesmos não são analisados e discutidos a fundo. Dados sobre informação nutricional da barata cinérea apenas foram encontrados em estudo realizado pelo mesmo grupo de pesquisa.

4 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que a composição proximal da barata cinérea difere de acordo com seu estágio de desenvolvimento. O inseto apresenta um maior teor de lipídios no estágio de ninfa (41,7 %), bem como um maior teor de proteínas na fase adulta (68,5 %), evidenciando qual estágio deve ser utilizado para o estudo das proteínas ou lipídios, separadamente.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKHTAR, Y.; ISMAN, M.B. An alternative protein source. In: RICKEY, Y. Y. (Eds.). **Proteins in food processing**. Nova York: Elsevier Ltd, v.2, 674p., 2018.

AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. **Official methods of analysis**. USA: Maryland, 2000. 3100p.

BARENNE, H.; PHIMMASANE, M.; RAJAONARIVO, C. Insect consumption to address undernutrition, a national survey on the prevalence of insect consumption among adults and vendors in laos. **PLoS ONE**, v. 10, e0136458, 2015.

BEENAKKERS, A. M. T.; VANDERHORST, D. J.; VANMARREWIJK, W. J. A. Insect lipids and lipoproteins, and their role in physiological processes. **Progress in lipid research**, v.24, p.19-67, 1985.

CHURCHWARD-VENNE, T. A.; PINCKAERS, P. J. M.; VAN LOON, J. J. A.; VAN LOON, L. J. C. Consideration of insects as a source of dietary protein for human consumption. **Nutrition Reviews**, v. 75, p. 1035–1045, 2017.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **Fish to 2030 prospects for fisheries and aquaculture**. World Bank report n° 83177-GLB, 2013. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/i3640e/i3640e.pdf>>. Acesso em: 17 de Julho de 2019.

FINKE, M. D. Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. **Zoo Biology**, v.21, p.269–285, 2002.

- FINKE, M. D. Estimate of Chitin in Raw Whole Insects. **Zoo Biology**, v.26, p.105–115, 2007.
- KRAMER, K. J., HOPKINS T. L., SCHAEFER J. Applications of solids NMR to the analysis of insect sclerotized structures. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v.25, p.1067–80, 1995.
- LONGVAH, T.; MANGTHYA, K.; RAMULU, P. Nutrient composition and protein quality evaluation of eri silkworm (*Samia ricinii*) prepupae and pupae. **Food Chemistry**, v.128, p. 400–403, 2011.
- MÜLLER, A.; EVANS, J.; PAYNE, C. L. R.; ROBERTS, R. Entomophagy and Power. **Journal of Insects as Food and Feed**, v. 2, p. 121–136, 2016.
- OLIVEIRA, L. M.; LUCAS, A. J. S.; CADAVAL, C. L. SALAS-MELLADO; M. M. Bread enriched with flour from cinereous cockroach (*Nauphoeta cinerea*). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.44, p.30-35, 2017.
- PAYNE, C. L. R.; SCARBOROUGH, P.; RAYNER, M.; NONAKA, K. A systematic review of nutrient composition data available for twelve commercially available edible insects, and comparison with reference values. **Trends in Food Science & Technology**, v.47, p.69-77, 2016.
- POMA, G.; CUYKX, M.; AMATO, E.; CALAPRICE, C.; FOCANT, J. F.; COVACI, A. Evaluation of hazardous chemicals in edible insects and insect-based food intended for human consumption. **Food and Chemical Toxicology**, v.100, p.70–79, 2017.
- RAVZANAADII, N.; KIM, S.-H.; CHOI, W. H.; HONG, S.-J.; KIM, N. J. Nutritional value of mealworm, *Tenebrio molitor* as food source. **International Journal of Industrial Entomology**, v.25, p.93–98, 2012.
- SOSA, D. A. T.; FOGLIANO, V. Potencial of insect-derived ingredients for food applications. In: SCHIELDS, V. D. C. (Eds.). **Insect physiology and ecology**. London: InTech, v.1, 324p., 2017.
- VANDEWEYER, D.; LENAERTS, S.; CALLENS, A.; VAN CAMPENHOUT, L. Effect of blanching followed by refrigerated storage or industrial microwave drying on the microbial load of yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*). **Food Control**, v.71, p.311–314, 2017.
- VAN HUIS, A., Edible insects are the future? **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 75, p. 294–305, 2016.
- VAN HUIS, A.; VAN ITTERBEECK, J.; KLUNDER, H.; MERTENS, E.; HALLORAN, A.; MUIR, G.; VANTOMME, P. Edible Insects. Future Prospects for Food and Feed Security. FAO: Rome, 201 p., 2013. Acesso em: 08/05/2020 Disponível em: <http://www.fao.org/3/i3253e/i3253e.pdf>

XIAOMING, C.; YING, F.; HONG, Z.; ZHIYONG, C. Review of the nutritive value of edible insects. In: FOREST INSECTS AS FOOD: HUMANS BITE BACK, PROCEEDINGS OF A WORKSHOP ON ASIA-PACIFIC RESOURCES AND THEIR POTENTIAL FOR DEVELOPMENT. **Anais...**, Bangkok: FAO, 2010. p. 85-92

ARTIGO III
EFEITOS DAS DIFERENTES CONDIÇÕES DE PROCESSO NA AVALIAÇÃO DA
HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BARATA CINÉREA
(Nauphoeta cinerea)

LUCAS, A. J. S.; DA ROCHA, M.; SAAD, C. D. M.; PRENTICE, C. Efeitos das diferentes condições de processo na avaliação da hidrólise enzimática de barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, p. 48885-48898, 2020.
DOI: 10.34117/bjdv6n7-510

EFEITOS DAS DIFERENTES CONDIÇÕES DE PROCESSO NA AVALIAÇÃO DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BARATA CINÉREA (*Nauphoeta cinerea*)

RESUMO

Hidrolisados e peptídeos bioativos derivados de proteínas de diversas fontes de alimentos tem despertado o interesse para a produção de compostos nutracêuticos e funcionais. Insetos comestíveis, como a barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*) são fontes viáveis de peptídeos bioativos, devido ao seu alto teor de proteínas e produção sustentável. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi a elaboração de hidrolisados proteicos provenientes da barata cinérea em duas condições, desidratada e congelada, utilizando duas enzimas proteolíticas, Alcalase e Protamex, a fim de avaliar o efeito destas na obtenção de hidrolisados proteicos. Para tanto, primeiramente os dois tipos de barata cinérea, seja desidratada ou congelada, foram caracterizados quanto a sua composição proximal em triplicata. Após, a barata cinérea desidratada ou congelada, foi hidrolisada (10 % de proteína; m/v; proteína/água) utilizando como enzimas a Alcalase ou Protamex (3 %; m/m; enzima/substrato) em pH 8,0 e a 50 °C pelo método *de pH-Stat*, até grau de hidrólise (GH) constante. Estas foram caracterizadas quanto ao GH e composição proximal (proteína e umidade), respectivamente. Como resultados, se observou que houve diferença significativa ($p > 0,05$) somente em relação ao teor de lipídios e proteínas entre as amostras de barata cinérea desidratada e congelada, sendo maiores o teor de proteína no inseto desidratado, e de lipídios no inseto congelado. Em relação ao GH, verificou-se que o hidrolisado proteico de barata desidratada obtido em 260 min de hidrólise, tratado com a enzima Alcalase – SA apresentou o maior grau de hidrólise (GH) de 17,01 %, em relação ao de barata congelada hidrolisada com Alcalase – CA (11,34 %), barata congelada hidrolisada com Protamex – CP (6,54 %), e barata desidratada hidrolisada com Protamex – SP (7,85%). Além disso, os hidrolisados proteicos de barata congelada e desidratada obtidos com Protamex mostraram conteúdo significativamente superior ($p < 0,05$) de proteínas com 74,6 % e 73,2 %, respectivamente, em relação aos hidrolisados elaborados com Alcalase. Este estudo sugere que é possível se obter hidrolisados proteicos com a enzima Protamex a partir de barata cinérea e que estes insetos podem ser utilizados como uma fonte de proteína alternativa às já existentes.

Palavras-chave: Insetos comestíveis. Enzimas. Secagem. Congelamento. Proteína.

1 INTRODUÇÃO

As novas fontes sustentáveis de proteína para alimentação humana estão sendo exploradas na tentativa de resolver os problemas da insegurança alimentar, devido ao aumento da população mundial (VAN HUIS et al., 2013). Os métodos disponíveis para processar insetos, a fim de se produzir alimentos para animais e humanos, precisam ser avaliados

quanto à sua capacidade de garantir os mais altos padrões nutricionais e de qualidade nos produtos finais. Estes devem remover os componentes e contaminantes indesejados específicos de insetos (toxinas e antinutrientes), uma vez que os diferentes métodos de processamento tecnológico afetam as propriedades nutricionais e funcionais da matéria-prima, bem como do produto final (PAYNE et al., 2016).

Em geral, os insetos comestíveis são considerados boa fonte de proteínas, gorduras, fibras, vitaminas e minerais (LUCAS et al., 2020b). O conteúdo de proteínas de insetos comestíveis pode variar de 50 a 70 % em base seca (SOSA; FOGLIANO, 2017) e apresentam um excelente perfil de aminoácidos (OLIVEIRA et al., 2017). A barata cinérea pode estar entre as diversas espécies de baratas existentes. Ela também é popularmente conhecida como barata salpicada ou barata lagosta (Ordem: Blattodea, Família: Blaberidae), sendo originária da África apresentando ampla distribuição geográfica devido a sua fácil associação com seres humanos (SANTOS et al., 2016). A composição química deste inseto varia de acordo com seu estágio de crescimento, apresentando aproximadamente 68,5 % de proteína e 22,5% de lipídios em sua fase adulta (LUCAS; OLIVEIRA; PRENTICE, 2019). A barata cinérea possui todos os nove aminoácidos essenciais em sua composição, bem como ácidos graxos insaturados dos tipos ômega 6 e ômega 9 (OLIVEIRA et al., 2017).

O fato de a concentração de proteína contida na barata cinérea ser elevada faz com que a extração e o fracionamento proteico, que são etapas necessárias para produzir ingredientes oriundos de proteínas de insetos, sejam facilitados. Atualmente, um dos melhores meios de se obter os benefícios do consumo de insetos é utilizar seus componentes em forma de isolados, como por exemplo, em isolados proteicos. Além disto, a modificação enzimática de proteínas (hidrólise enzimática) é um mecanismo útil que pode ser utilizado para aumentar a funcionalidade e a disponibilidade de compostos bioativos das proteínas, quando comparadas com as proteínas não nativas (HALL et al., 2017; LUCAS et al., 2020b). A hidrólise enzimática de insetos geralmente é realizada com insetos homogeneizados ou a partir de isolados de proteínas de insetos (CASTRO et al., 2018; NONGONIERMA; FITZGERALD, 2017), sendo que o isolado pode ser realizado seguindo algumas etapas: homogeneização, desengorduramento, solubilização de proteínas, precipitação isoelétrica de proteínas, ressolubilização de proteínas seguidas por uma etapa de desidratação (NONGONIERMA; FITZGERALD, 2017).

Mediante o exposto, o objetivo desta pesquisa foi o desenvolvimento de hidrolisados proteicos a partir da barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*), tanto desidratada como congelada,

utilizando duas enzimas (Alcalase e Protamex), a fim de avaliar o efeito destas condições de trabalho nos hidrolisados.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAIS

A barata cinérea desidratada foi fornecida pela empresa Insetos Kaissara (Além Paraíba, Minas Gerais, Brasil). Este criadouro é certificado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil. A barata cinérea, no estado vivo foi obtida de uma cultura de laboratório mantida no Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA), da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) para fins exclusivos de pesquisa. As enzimas utilizadas para hidrólise das amostras foram Alcalase (3.4.21.62), endopeptidase bacteriana produzida a partir da fermentação submersa de *Bacillus licheniformis*, doada pela Novozymes Latin America (Araucária - Brasil), e Protamex (EC 3.4.21.62; EC 3.4.24.28), mistura de exo- e endopeptidases bacterianas, produzida a partir do *Bacillus* sp. adquirida da Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, Estados Unidos). Os demais reagentes utilizados no presente estudo foram de grau analítico (P.A.).

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Pré-tratamento

O primeiro grupo, insetos desidratados, foi triturado em moinho de facas (Marconi, Wiley Mill) e peneirados em peneira de 42 mesh (Bertel, Caieiras, Brasil) para a padronização do tamanho da partícula conforme o método descrito por Oliveira (2017). A fração retida na peneira (maior parte composta por exoesqueleto) foi descartada. A amostra foi embalada em recipientes de polietileno e armazenada em temperatura de refrigeração até hidrólise.

Os insetos vivos foram abatidos vivos, por congelamento em ultrafreezer (Indrel, IULT 90-D, Brasil) mantidos à temperatura de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento do uso. Antes de realizar as análises, os insetos foram descongelados sob refrigeração ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) *overnight* (HALL et al., 2017). Logo, foi elaborada uma pasta utilizando moinho de facas (Wiley Moinho Padrão n.º. 03, Estados Unidos) e esta foi destinada ao ensaio de hidrólise enzimática (toda a pasta foi hidrolisada, sem separação de frações).

2.2.2 Caracterização da matéria-prima

Os teores de umidade (método nº 935.29), cinza (método nº 932.03), proteína (método micro-Kjedahl, nº 920.87) e lipídios (método Soxhlet, nº 925,30) dos diferentes tratamentos da barata cinérea foram determinados de acordo com o método descrito pela AOAC (2000). O fator de conversão N utilizado para a proteína foi de 5,6 de acordo com o método descrito por Janssen et al. (2017). Já os carboidratos foram obtidos por diferença. A caracterização da matéria-prima foi realizada na barata cinérea desidratada, congelada e nos hidrolisados proteicos liofilizados.

2.2.3 Hidrólise enzimática

A hidrólise enzimática foi realizada de acordo com o método descrito por Hall et al. (2017) com modificações e acompanhada pelo método de pH-stat, a partir das diferentes amostras de barata cinérea.. As diferentes amostras, insetos desidratados (em forma de farinha) ou congelados (em forma de pasta), foram homogeneizadas em água destilada na proporção de 10 % (m/v; proteína/água;) em reator de vidro encamisado acoplado de banho ultratermostático (Quimis, Q212S, Brasil), sob agitação constante (Fisatom, Brasil) a 500 rpm. As condições das dispersões proteicas, foram ajustadas em pH: 8 à temperatura de 50 °C para Alcalase e Protamex, durante 10 min com hidróxido de sódio 1 M.. A hidrólise enzimática iniciou-se adicionando a enzima na proporção de 3 % (m/m; enzima/substrato). O grau de hidrólise (GH) foi monitorado a cada 10 min até se tornar constante. Ao final da reação, as enzimas foram inativadas em banho-maria a 90 °C por 15 min. As diferentes dispersões foram centrifugadas a $9000 \times g$ por 20 min a 4 °C (Hanil Supra 22K, Coréia do Sul), para separar as frações solúvel (hidrolisado proteico) e insolúvel (quitina e minerais). A fração solúvel foi desidratada em liofilizador (Liotop, L108, São Carlos, Brasil) a - 55 °C e 50 µHg durante 48 h e após acondicionada em recipientes de polietileno e armazenada em temperatura de refrigeração até o uso. O grau de hidrólise (GH) foi monitorado de acordo com Adler-Nissen (1986). Destes foram realizados quatro tratamentos distintos: inseto congelado hidrolisado com Alcalase (CA), inseto congelado hidrolisado com Protamex (CP), inseto desidratado hidrolisado com Alcalase (SA), e inseto desidratado hidrolisado com Protamex (SP).

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os experimentos realizados foram realizados em triplicata. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas, seja pelo teste de Tukey ou teste de *t-Student*, no nível de 5 % de significância, utilizando o software Statistica (versão 5.0; StatSoft, Inc., Tulsa, EUA).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

Devido à facilidade de manejo dos insetos, a caracterização da matéria-prima foi realizada utilizando barata cinérea em ambas as fases de seu desenvolvimento (ninfá e adulto). Os conteúdos de proteínas, lipídios, cinzas, umidade e carboidratos para barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*) seca e congelada estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição proximal de barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*) desidratada e congelada (em base seca)

Componentes	Barata cinérea desidratada	Barata cinérea congelada
Cinzas (%)	4,0 ± 0,2 ^a	3,8 ± 0,1 ^a
Lipídios (%)	17,9 ± 0,1 ^b	25,6 ± 0,1 ^a
Proteína (%)	59,1 ± 0,5 ^a	56,2 ± 0,6 ^b
Carboidratos (%)*	19,0*	14,4*

*Valores estimados por diferença. Média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam que há diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste *t-Student*.

Ao observar os resultados obtidos, pode-se perceber que houve diferença significativa ($p > 0,05$) em relação ao teor de lipídios e proteínas entre as amostras de barata cinérea desidratada e congelada. Isto pode ter ocorrido, devido à diferença das dietas dos insetos obtidos, pois esses foram obtidos de diferentes criadouros. Segundo Van Huis et al. (2013) as características composicionais das dietas dos insetos podem afetar diretamente a matriz influenciado em seu conteúdo de lipídios, proteínas entre outros. Além disto, como os insetos foram capturados em diferentes estágios de desenvolvimento, este fator também pode ter influenciado no conteúdo de proteína e lipídios obtidos, pois segundo Lucas, Oliveira e Prentice. (2019) o estado reprodutivo dos insetos influencia em sua composição química

Estudo utilizando a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), mostraram, que diferentes tratamentos podem ter diferentes efeitos na composição proximal, o que foi atribuído às mudanças químicas e físicas causadas pela exposição ao aquecimento ou ao congelamento (CHUKWU, 2009). Sabe-se, por exemplo, que a gordura exsuda com a evaporação, durante o processo de secagem aumenta o efeito das perdas lipídicas e dos ácidos graxos. Este fenômeno foi observado em pescado em comparação com diferentes métodos de preservação, conforme descrito por Chukwu (2009) e também pode ter ocorrido durante este estudo, uma vez o conteúdo lipídico obtido para barata seca (17,9 %) foi significativamente inferior ($p < 0,05$) quando comparado ao conteúdo lipídico contido na barata congelada (25,6 %).

O conteúdo de cinzas não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$), onde a barata seca apresentou 4 % e a barata congelada cerca de 3,8 %, o que sugere a presença de outros componentes, principalmente a quitina. A qualidade da proteína e o conteúdo em insetos são diretamente influenciados pela etapa de processamento. O teor de proteína da barata cinérea seca (59,1 %) foi significativamente superior ($p < 0,05$) ao da barata congelada (56,2 %). De fato, durante o congelamento, a estrutura celular é danificada por diversos fatores, tais como aumento do volume celular, crescimento de cristais de gelo em forma de agulha e consequente ruptura das membranas celulares, causando alterações de alguns metabólitos sensíveis (MAZUR, 1984), e como consequência, em alguns casos, a diminuição de teor de proteínas na amostra.

Quando comparados os resultados obtidos para as diferentes amostras de cinzas, proteínas e carboidratos (Tabela 1), as diferenças entre os tratamentos aplicados não parece ter apresentado grande interferência na matriz. Porém, do ponto de vista molecular, podem ter ocorrido mudanças. Melis et al. (2018) compararam os efeitos da secagem e do congelamento em tenébrio comum (*Tenebrio molitor*), onde verificaram que os rearranjos moleculares durante a secagem envolvem alterações ao nível de compostos lipídicos e metabólitos aquosos de baixa massa molecular. A sua concentração na matriz resulta em uma combinação complexa de hidrólise, proteólise, fenômenos oxidativos, atividade enzimática e geração de agregados de diferentes compostos. Quando secos os cupins comestíveis e o gafanhoto (*Ruspolia differens*), apresentam redução na digestibilidade proteica em 7 %. Além disso, quando esses insetos foram expostos à secagem solar, observou-se uma diminuição geral em todo o seu conteúdo vitamínico, e este tratamento levou a uma perda maior (64%) do conteúdo de riboflavina quando comparado com amostras frescas (KINYURU et al., 2010).

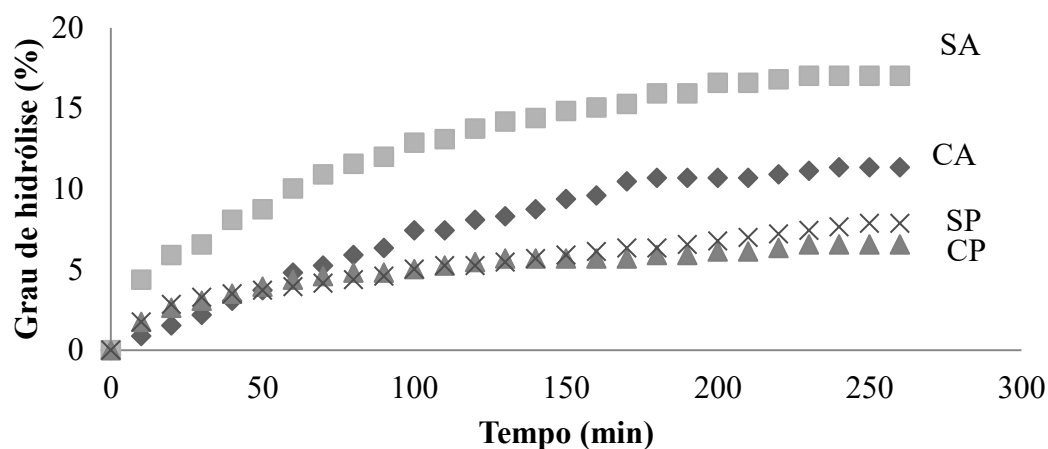
O congelamento tem desvantagens relacionadas à perda do paladar, a degradação pode ser favorecida devido à ruptura da membrana celular, causando alterações em alguns metabólitos sensíveis. Em particular, ao que se refere aos lipídios, os autores observaram que os constituintes mais afetados podem ser os dos fosfolipídios. Entre os metabólitos aquosos, alguns compostos que contêm nitrogênio, como colina e orto-fosfocolina, aumentam significativamente durante o processo de congelamento (MELIS et al., 2018).

3.2 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

Atualmente, há um crescente interesse nas aplicações de proteínas e peptídeos oriundos de diversas matrizes proteicas em alimentos funcionais ou nutracêuticos como alternativa aos tratamentos convencionais (HALL et al., 2017). Os peptídeos bioativos liberados por hidrólise enzimática das proteínas da dieta apresentam bioatividade, tais como antimicrobiana e antioxidante, entre outras (LUCAS et al., 2020b; NONGONIERMA; FITZGERALD, 2017; ZIELIŃSKA; KARASÍ; JAKUBCZYK, 2017; ZAMORA-SILLERO et al., 2018). Estes peptídeos bioativos estão inativos dentro das sequências das proteínas, mas podem ser liberados por diferentes processos e em seguida eles exercem várias funções fisiológicas (LUCAS et al., 2020b). Dentre os diferentes métodos de obtenção dos peptídeos bioativos, a hidrólise enzimática é largamente utilizada nas indústrias de alimentos e farmacêuticas. Os processos enzimáticos apresentam muitas vantagens, quando comparado aos tratamentos químicos, tais como altas taxas de reação em condições amenas e com grande especificidade (BRYSKA; YADA, 2015; NAJAFIAN; BABJI, 2012).

A Figura 1 apresenta a hidrólise proteica das diferentes amostras de barata cinérea utilizando a Alcalase e Protamex como enzimas. Observou-se, nos primeiros 20-50 min, altas velocidades de reação seguida de velocidades menores. Segundo Adler-Nissen (1986) e Archer et al. (1973) uma rápida clivagem das ligações peptídicas é observada durante o estágio inicial da reação de hidrólise, devido à rápida adsorção da enzima na superfície do substrato, levando à solubilização da proteína pela rápida clivagem das cadeias polipeptídicas, seguida por uma diminuição da velocidade resultado da competição entre o substrato original e os peptídeos produzidos durante a hidrólise.

De acordo com a Figura 1, o hidrolisado proteico de barata cinérea seca com enzima Alcalase -SA apresentou o maior grau de hidrólise (GH) de cerca de 17,01%, em relação ao de barata cinérea congelada com enzima Alcalase – CA (11,34 %), barata cinérea congelada com enzima Protamex –CP (6,54 %), e barata cinérea o com enzima Protamex – SP

Figura 1 – Grau de hidrólise dos diferentes hidrolisados proteicos obtidos

Hidrolisados proteicos de inseto congelado, obtidos com Alcalase (CA), inseto congelado, obtidos com Protamex (CP), inseto desidratado, obtidos com Alcalase (SA) e inseto desidratado, obtidos com Protamex (SP).

(7,85%) com 260 min de hidrólise, respectivamente. A enzima e tipo da matéria-prima (barata cinérea congelada ou seca) influenciaram no GH obtido.

Hall et al. (2017) elaboraram hidrolisados proteicos de grilos (*Gryllodes sigillatus*) descongelados utilizando a Alcalse (3 %; enzima/substrato) como enzima e verificaram um GH de 52,4% em 90 min de hidrólise. Hall et al. (2018) também elaboraram hidrolisados proteicos a partir de grilos descongelados e obtiveram um GH variando de 50 a 85% com tempos de hidrólise de 20 a 80 min, respectivamente. A diferença verificada entre estes autores e o presente estudo, pode estar na composição química das matérias-primas, pois o grilo possui um conteúdo inferior de lipídios de cerca de 6,1 % (base úmida), quando comparado com a barata cinérea congelada (8,1 %; base úmida). Os lipídios dificultam a ação das enzimas sobre as proteínas, resultando em menor GH, respectivamente. Segundo Šližyte et al. (2005) a quantidade de lipídios na matéria prima influencia o processo de hidrólise, devido a que uma quantidade relativamente alta poderia formar complexos proteína/lipídeo, que pareceriam ser mais resistentes à quebra enzimática. Essas diferenças no GH observado neste estudo pode estar relacionado com o espécie de inseto utilizada e tipo de tratamento realizado na mesma (NONGONIERMA; FITZGERALD, 2017).

A barata cinérea seca apresenta um teor superior de carboidratos (19,0 %; base seca), quando comparado com a barata cinérea congelada (14,4 %; base seca), como verificado na Tabela 1. A quitina é um polissacarídeo que compreende o exoesqueleto de insetos (BERTELSEN et al., 2016), alguns estudos com insetos verificaram, que alguns

podem conter cerca de 5,3 a 8,9 % de quitina (massa seca) (KAYA et al., 2015). Segundo Van Dyken e Locksley (2018) a quitina é composta de fibras mineralizadas de quitina-proteína, as quais podem ser clivadas internamente por enzimas, tais como as endoquitinases e nas extremidades por exoquitinases ou por enzimas não específicas como proteases. Contudo, esta característica da quitina, de uma estrutura altamente ordenada, dificulta o acesso das enzimas e reagentes ao substrato (POSHINA et al., 2018). Entretanto, no presente estudo os resultados sugerem que o teor de carboidratos não influenciou no GH obtido, respectivamente.

O desenvolvimento dos hidrolisados proteicos depende de fatores, tais como o tipo de enzima, substrato, pH da reação, temperatura, grau de hidrólise, tempo de hidrólise e proporção da enzima (CHALAMAIAH et al., 2012). Além disto, a especificidade das proteases afeta o tamanho, a quantidade, composição dos aminoácidos livres, tipo de peptídeos e suas sequências (ENNAAS et al., 2015). No presente estudo, verificou-se que a enzima Alcalse, independentemente do substrato utilizado (barata cinérea seca ou congelada), apresentou os maiores GH em relação aos apresentados pela enzima Protamex. A Protamex é um mistura de enzimas (exo e endopeptidase) com diferentes tipos catalíticos de metalo protease, serina protease, protease aspártica entre outros. Nas proteases aspárticas e metalo proteases, por exemplo, o ataque nucleófilo é mediado por uma molécula de água, ativada por dois resíduos de ácido aspártico, um resíduo de ácido glutâmico e por um íon metálico, respectivamente (RAWLINGS et al., 2010). Entretanto, a Alcalase é uma serino protease, a qual não necessita de um íon metálico para a ativação do ataque nucleófilo como a Protamex (DAMODARAN et al., 2010), o que sugere maior eficiência na hidrólise. Além disto, a Alcalase é uma enzima que atua bem em uma faixa de pH 6,5 a 8,5, temperatura de 50 a 70 °C e (YUST et al., 2010) e a Protamex a possui uma ótima atividade em pH de 7 à temperatura de 50 °C (WANG et al., 2014), o que pode ter influenciado no GH obtido porque o pH utilizado foi de 8,0 no presente estudo. Vercruysse et al. (2005) elaboraram hidrolisados proteicos a partir de traça (*Spodoptera littoralis*), bicho-da-seda (*Bombyx mori*), gafanhoto (*Schistocerca gregaria*) utilizando as enzimas, tais como as proteases gastrointestinais, Alcalase e termolisina onde verificaram que a enzima Alcalase apresentou os maiores GH em relação as demais enzimas. Segundo Yust et al. (2010) a Alcalase possui baixa especificidade, atuando bem em substratos com diferentes características, o que foi verificado no presente estudo.

3.3 CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROLISADOS PROTEICOS

A Tabela 2 apresenta o conteúdo de umidade e proteína dos diferentes hidrolisados elaborados. A barata cinérea congelada e barata cinérea seca resultaram em hidrolisados proteicos da Protamex com conteúdo significativamente superior ($p < 0,05$) de proteínas de 74,6 % e 73,2 % em relação aos demais hidrolisados elaborados. O alto teor de proteínas relatado para os hidrolisados proteicos ocorre devido à solubilização de proteínas durante a hidrólise e remoção de matéria sólida insolúvel por centrifugação (CHALAMIAH et al., 2012).

Tabela 2 – Conteúdo de umidade e proteínas dos diferentes hidrolisados

Componentes	CA	CP	SA	SP
Umidade (%)	$4,2 \pm 0,3^a$	$3,7 \pm 0,1^{ab}$	$4,1 \pm 0,2^a$	$3,2 \pm 0,1^b$
Proteína (base úmida) (%)	$57,4 \pm 0,9^c$	$71,9 \pm 0,6^a$	$65,7 \pm 0,8^b$	$70,8 \pm 0,8^a$
Proteína (base seca) (%)	$59,9 \pm 0,6^c$	$74,6 \pm 0,4^a$	$68,6 \pm 0,5^b$	$73,2 \pm 0,3^a$

Média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam que há diferença significativa ($p < 0,05$); Hidrolisado de inseto congelado utilizando a enzima Alcalase (CA), inseto congelado utilizando a enzima Protamex (CP), inseto seco utilizando a enzima Alcalase (SA) e inseto seco utilizando a enzima Protamex (SP).

Todas as amostras de hidrolisados proteicos de barata cinérea não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) em relação ao teor de umidade, com exceção do hidrolisado de barata cinérea congelada com enzima Protamex–CP, respectivamente. Apesar do GH nos diferentes hidrolisados, obtidos utilizando a enzima Alcalase serem superiores ao GH obtidos quando a Protamex foi utilizada, Figura 1, os hidrolisados CP e SP apresentaram um teor de proteínas solubilizadas significativamente superior ($p < 0,05$). Hall et al. (2017) verificou em seu estudo com hidrolisados proteicos de grilos (*Gryllodes sigillatus*) descongelados utilizando Alcalase com enzima, que a medida que aumentou o GH de 26,1 % para 36,3 % o conteúdo de proteínas diminuiu de 65,4 % para 59,1 %, respectivamente. Martins et al. (2009) verificou que os hidrolisados de corvina (*Micropogonias furnieri*) apresentaram menor teor de proteínas para os hidrolisados com a Alcalase (47,09 %) em comparação com a Flavourzyme, uma mistura de exo e endopeptidases, (50,15 %) e um GH inversamente proporcional ao teor proteico, respectivamente. Segundo Zavareze et al. (2009) o hidrolisado proteico de cabrinha (*Prionotus punctatus*) utilizando a enzima Alcalase apresentaram menor teor proteico (87,84 %) e maior GH em relação a Flavourzyme (92,39 %), para um GH significativamente igual.

4 CONCLUSÃO

A partir deste estudo foi possível observar que tratamentos preliminares como a desidratação e o congelamento da matéria prima, influenciaram de maneira diferente a composição proximal de barata cinérea. Apesar de os insetos terem sido obtidos de diferentes criadouros e em fases diferentes de seu crescimento, acredita-se que a diminuição e o aumento dos teores de lipídios e proteínas para os diferentes tratamentos tenham sido causados principalmente devido às mudanças características que a secagem e o congelamento causam na matriz. Os hidrolisados de barata cinérea desidratada utilizando a enzima Alcalase apresentaram um grau de hidrólise superior ao verificado utilizando os mesmos substratos com a enzima Protamex. A Protamex é um mistura de enzimas (exo e endopeptidase) com diferentes tipos catalíticos, nas quais o ataque nucleófilo é mediado por uma molécula de água, ativada por dois resíduos de ácido aspártico, um resíduo de ácido glutâmico e por um íon metálico, respectivamente. Entretanto, a Alcalase é uma serino protease, a qual não necessita de um íon metálico para a ativação do ataque nucleófilo como a Protamex, o que sugere maior eficiência na hidrólise. Contudo, apesar de apresentar maior grau de hidrólise para os diferentes substratos, a Alcalase apresentou após a hidrólise, o menor teor de proteínas, o que pode ter ocorrido devido a maior solubilização de proteínas durante a hidrólise e remoção de matéria sólida insolúvel por centrifugação utilizando esta enzima.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADLER-NISSEN, J. **Enzymatic hydrolysis of food proteins**. London: ElsevierApplied Science Publishing, 1986.

AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. **Official Methods of analysis**. 17th ed. USA: Maryland, 2000.

ARCHER, M. C.; RAGNARSSON, J. O.; TANNENBAUM, S. R.; WANG, D. I. Enzymatic solubilization of an insoluble substrate, fish protein concentrate: process and kinetic considerations. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 15, p.181-196, 1973.

BERTELSEN, R. J.; SVANES, Ø.; MADSEN, A. M.; HOLLUND, B. E.; KIRKELEIT, J.; SIGSGAARD, T.; UHRBRAND, K., DO; T. V.; AASEN, T. B.; SVANES, C. Pulmonary illness as a consequence of occupational exposure to shrimp shell powder. **Environmental Research**, v. 148, p. 491-509, 2016

BRYKSA, B.C.; YADA, R. Y. Bioquímica de Alimentos. In: CAMPBELL-PLATT, G. (Ed.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Barueri - SP: Manole, 2015.

CASTRO, R. J. S.; OHARA, A.; AGUILAR, J. G. S.; DOMINGUES, M. A. F. Nutritional, functional and biological properties of insect proteins: Processes for obtaining, consumption and future challenges. **Trends in Food Science & Technology**, p. 82-89, v. 76, 2018.

CHALAMAIAH, M.; HEMALATHA, R.; JYOTHIRMAYI, T. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. **Food Chemistry**, v. 135, n. 4, p. 3020–3038, 2012.

CHUKWU, O. Influences of drying methods on nutritional properties of tilapia fish (*Oreochromis niloticus*). **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 5, p. 256–258, 2009.

ENNAAS, N.; HAMMAMI, R.; BEAULIEU, L.; FLISS, I. Purification and characterization of four antibacterial peptides from protamex hydrolysate of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) by-products. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 462, p. 195-200, 2015.

HALL, F. G.; JONES, O. G.; O'HAIRE, M. E.; LICEAGA, O. M. Functional properties of tropical banded cricket (*Gryllobates sigillatus*) protein hydrolysates. **Food Chemistry**, v. 224, p. 414-422, 2017.

HALL, F., JOHNSON, P. E., LICEAGA, A. Effect of enzymatic hydrolysis on bioactive properties and allergenicity of cricket (*Gryllobates sigillatus*) protein. **Food chemistry**, v. 262, p.39-47, 2018.

JANSSEN, R. H.; VINCKEN, J. P.; VAN DEN BROEK, L. A. M.; FOGLIANO, V.; LAKEMOND, C. M. M. Nitrogen-to-protein conversion factors for three edible insects: *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, and *Hermetia illucens*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, p. 2275–2278, 2017.

KAYA, M.; ERDOGAN, S.; MOL, A., BARAN, T. Comparison of chitin structures isolated from seven Orthoptera species. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p.797–805, 2015.

KINYURU, J. N.; KENJI, G. M.; SIMON, N.; MUHOHO, M. A. Nutritional potential of longhorn grasshopper (*Ruspolia differens*) consumed in Siaya district, Kenya. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 12, p. 32–46, 2010.

LUCAS, A. J. S.; OLIVEIRA, L. M.; DA ROCHA, M.; PRENTICE, C. Edible insects: an alternative of nutritional, functional and bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 311, p. 126022, 2020b.

LUCAS, A. J. S.; OLIVEIRA, L. M.; PRENTICE, C. Como os diferentes estágios do desenvolvimento interferem na composição proximal da barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*). **Brazilian Journal of Development**, v. 5, p. 32510-32516, 2019.

MARTINS, V. G.; COSTA, J. A. V.; PRENTICE, C. Hidrolisado proteico de pescado obtido por vias química e enzimática a partir de corvina (*Micropogonias furnieri*). **Química Nova**, v. 32, p.61-66, 2009.

MAZUR, P. Freezing of living cells: Mechanisms and implications. **American Journal of Physiology**, v. 247, p. C125–C142, 1984.

MELIS, R.; BRACA, A.; MULAS, G.; SANNA, R.; SPADA, S.; SERRA, G.; FADDA, M. L.; UZZAU, T. R. S.; ANEDDA, R. Effect of freezing and drying processes on the molecular traits of edible yellow mealworm. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 48, p. 138-149, 2018.

NAJAFIAN, L.; BABJI, A. S. A review of fish-derived antioxidant and antimicrobial peptides: Their production, assessment, and applications. **Peptides**, v. 33, n. 1, p. 178–185, 2012.

NONGONIERMA, A. B.; FITZGERALD, R. J. Unlocking the biological potential of proteins from edible insects through enzymatic hydrolysis: A review. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 43, p. 239-252, 2017.

OLIVEIRA, L. M.; LUCAS, A. J. S.; CADAVAL, C. L. SALAS-MELLADO; M. M. Bread enriched with flour from cinereous cockroach (*Nauphoeta cinerea*). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 2017.

PAYNE, C. L. R.; SCARBOROUGH, P.; RAYNER, M.; NONAKA, K. A systematic review of nutrient composition data available for twelve commercially available edible insects, and comparison with reference values. **Trends in Food Science & Technology**, v. 47, p. 69-77, 2016.

POSHINA, D. N.; RAIK, S. V.; POSHIN, A. N.; SKORIK, Y. A. Accessibility of chitin and chitosan in enzymatic hydrolysis: A review. **Polymer Degradation and Stability**, v. 156, p. 269-278, 2018.

RAWLINGS, N. D.; BARRETT, A. J.; BATEMAN, A. MEROPS: the peptidase database. **Nucleic Acids Research**, v. 38, p. D227–D233, 2010

SANTOS, D. S., CARVALHO, E. L., DE LIMA, J. C.; BREDA, R. V.; OLIVEIRA, R. S.; FREITAS, T. C.; SALAMONI, S. D.; DOMINGUES, M. F.; PIOVESAN, A. R.; BOLDO, J. T.; ASSIS, D. R.; COSTA, J. C.; BELO, C. A. D.; PINTO, P. M. *Bothriurus bonariensis* scorpion venom activates voltage-dependent sodium channels in insect and mammalian nervous systems. **Chemico-Biological Interactions**, v. 258, p. 1-9, 2016.

SOSA, D. A. T.; FOGLIANO, V. Potencial of insect-derived ingredients for food applications. In: SCHIELDS, V. D. C. **Insect physiology and ecology**. InTech. 2017.

ŠLIŽYTE, R.; DAUKŠAS, E.; FALCH, E.; STORRØ, I., RUSTAD, T. Yield and composition of different fractions obtained after enzymatic hydrolysis of cod (*Gadus morhua*) by-products. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 1415-1424, 2005.

VAN DYKEN, S. J.; LOCKSLEY, R. M. Chitins and chitinase activity in airway diseases. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 142, n. 2, p. 364-369, 2018.

VAN HUIS, A.; VAN ITTERBEECK, J.; KLUNDER, H.; MERTENS, E.; HALLORAN, A.; MUIR, G.; VANTOMME, P. Edible Insects. Future Prospects for Food and Feed Security. FAO: Rome, 201 p., 2013. Disponível em:

<http://www.fao.org/docrep/018/i3253e/i3253e00.htm> Acesso em: 18/04/2018.

VERCRUYSSSE, L.; SMAGGHE, G.; HERREGODS, G.; VAN CAMP, J. ACE inhibitory activity in enzymatic hydrolysates of insect protein. **Journal of agricultural and food chemistry**, v.53, p. 5207-5211, 2005.

WANG, X. J.; ZHENG, X. Q.; KOPPARAPU, N. K.; CONG, W. S.; DENG, Y. P.; SUN, X. J.; LIU, X. L. Purification and evaluation of a novel antioxidant peptide from corn protein hydrolysate. **Process Biochemistry**, v. 49, p. 1562–1569, 2014.

YUST, M. D. M.; PEDROCHE, J.; DEL CARMEN MILLÁN-LINARES, M.; ALCAIDE-HIDALGO, J. M.; MILLÁN, F. Improvement of functional properties of chickpea proteins by hydrolysis with immobilised Alcalase. **Food Chemistry**, v. 122, p. 1212–1217, 2010.

ZAMORA-SILLERO, J.; TAVARES KÜTTER, M.; BORGES TESSER, M.; MONSERRAT, J. M.; PRENTICE, C. Effect of dietary common carp by-product protein hydrolysates on antioxidant status in different organs of zebrafish (*Danio rerio*). **Aquaculture Nutrition**, 2018. Doi: 10.1111/anu.12835

ZAVAREZE, E. D. R.; SILVA, C. M.; SALAS-MELLADO, M.; Prentice-Hernández, C. Funcionalidade de hidrolisados proteicos de cabrinha (*Prionotus punctatus*) obtidos a partir de diferentes proteases microbianas. **Química Nova**, v.32, p.1739-1743, 2009.

ZIELIŃSKA, E.; KARAS, M.; JAKUBCZYK, A. Antioxidant activity of predigested protein obtained from a range of farmed edible insects. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 52, p. 306-312, 2017

ARTIGO IV

EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E PROPRIEDADES MORFOLÓGICAS DE QUITINA E QUITOSANA OBTIDAS DAS CUTÍCULAS DE INSETOS COMESTÍVEIS

LUCAS, A. J. S.; ORESTE, E. Q.; COSTA, H. L. G.; LÓPEZ, H. M.; SAAD, C. D. M.; PRENTICE, C. Extraction, physicochemical characterization, and morphological properties of chitin and chitosan from cuticles of edible insects. **Food Chemistry**, v. 343, p. 128550, 2021.

DOI:10.1016/j.foodchem.2020.128550

EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E PROPRIEDADES MORFOLÓGICAS DE QUITINA E QUITOSANA OBTIDAS DAS CUTÍCULAS DE INSETOS COMESTÍVEIS

RESUMO

Como alternativa, cutículas de insetos comestíveis foram propostas como uma fonte não convencional, mas viável de quitina e quitosana. A quitina presente nas cutículas de tenébrio comum (*Tenebrio molitor*) foi obtida biotecnologicamente em uma etapa de desproteínização enzimática e após desacetilada. Diferenças nas características físico-químicas e nas propriedades das cutículas, quitina e quitosana foram investigadas neste estudo. Quitosana comercial foi utilizada como referência para validar os métodos usados. A desproteínização enzimática aplicada na obtenção da quitina apresentou eficiência de 85 %. O rendimento global do processo (cutícula-quitosana) foi de 31,9 %. Os resultados da caracterização desses polímeros pelas técnicas DSC, FT-IR, XRD, TGA e SEM demonstram consistência com o grau de desacetilação da quitosana obtida, permitindo a diferenciação entre quitina e quitosana. Este estudo sugere que os resíduos da criação de insetos comestíveis podem ser coletados e avaliados como uma alternativa de fonte de quitina/ quitosana.

Palavras-chave: Biopolímero. Cutículas de *Tenebrio molitor*. Desproteínização enzimática. *Tenebrio molitor*.

1 INTRODUÇÃO

Em recente estudo de revisão, Lucas et al. (2020b) demonstraram, com extensa coleta de dados, que os insetos podem ser propostos como alternativa ao consumo humano. Além de possuírem um perfil de aminoácidos comparável a outras fontes alimentares, também possuem ômega 6 e 9 em sua composição. Os insetos também possuem uma quantidade considerável de fibras, presentes em seus exoesqueletos na forma de quitina. Como resultado dos benefícios associados ao uso de insetos na alimentação humana, o setor industrial está cada vez mais envolvido na criação, processamento e comercialização de insetos comestíveis.

O *Tenebrio molitor* é uma das espécies de insetos que podem ser consumidas por humanos, alguns autores ainda citam este como sendo adequados para processamento e consumo humano (LUCAS et al., 2020b). Esse inseto também foi objeto de vários tipos de pesquisas recentes (LUO et al., 2019). Os besouros do gênero *Tenebrio* são pretos ou castanhos escuros e têm 13-17 mm de comprimento, alimentam-se de produtos de grãos tanto

na fase larval como na adulta. As larvas são comumente chamadas de “larvas da farinha” e são bastante semelhantes aos vermes (TRIPLEHORN; JOHNSON, 2005).

Para que os insetos completem sua metamorfose e se tornem adultos, é necessária a produção periódica de um novo exoesqueleto cuticular. Este é um processo vital para os insetos, durante o qual eles eliminam a cutícula velha (ecdise) para emergir com o próximo estágio de desenvolvimento (ZITNAN; ADAMS, 2012). A cutícula é o componente mais externo dos insetos, cobre toda a parte externa do corpo desses invertebrados, mas também está presente em algumas partes internas do corpo, cobrindo invaginações ectodérmicas, como a frontal, parte posterior e o sistema traqueal. Chapman (2013) menciona que a cutícula é composta por três camadas: epicutícula, exocutícula e endocutícula, com diferenças em sua composição. A exocutícula e a endocutícula são consideradas uma estrutura quitinosa, enquanto a epicutícula não contém quantidades significativas de quitina. Ao todo, estima-se que a cutícula presente nos insetos pode apresentar cerca de 20 a 50 % de quitina de seu peso seco.

Quitina, o nome usual para o polímero poli (β - (1-4) -N-acetil-Dglicosamina), é considerado o polissacarídeo mais abundante na natureza depois da celulose. É comumente encontrado em exoesqueletos de crustáceos, paredes celulares de fungos e na cutícula de insetos, onde atua como elemento de suporte. Descrita como um derivado funcional da quitina, a quitosana é um polissacarídeo de cadeia linear, composto pela repetição de unidades de 2-amina-2-desoxi- β -(1,4)-D-glucosamina e 2-acetamida-2-desoxi- β - (1,4) -D-glucosamina, obtida por desacetilação parcial da quitina em condições alcalinas (EL KNIDRI et al., 2018). A quitosana tem grande potencial para uso como filmes ativos com aplicação em embalagens de alimentos devido às suas propriedades biológicas como atividade antimicrobiana, antioxidante, antiinflamatória, entre outras (BAKSHIA et al., 2020).

O processo de extração da quitosana envolve três etapas principais, como desmineralização, desproteinização e desacetilação (SRINIVASAN et al., 2017). Normalmente, a quitina e a quitosana são obtidas por métodos químicos que envolvem o uso de ácidos e bases fortes para dissolver carbonatos de cálcio e proteínas, respectivamente. O curto tempo de extração torna este tratamento mais comumente usado (EL KNIDRI et al., 2018). Condições de reação mais severas em termos de concentração de álcali e temperatura resultam em quitosana mais desacetilada, mas o prolongamento da reação também provoca despolimerização severa e perda de algumas propriedades do polímero (DELEZUK et al., 2011).

A obtenção de quitina e quitosana de diferentes fontes já é amplamente difundida na literatura (EL KNIDRI et al., 2018). Diversos estudos descrevem a extração de quitina ou quitosana a partir de insetos (LUO et al., 2019; SOON et al., 2018). No entanto, a obtenção de quitina e quitosana da cutícula de inseto não é bem discutida. Nesse sentido, este estudo teve como objetivo trabalhar com os resíduos da criação do inseto para consumo humano, como alternativa para reduzir o impacto ambiental. A quitina presente na cutícula da larva de *Tenebrio molitor* durante o seu crescimento foi isolada e desacetilada a fim de se obter quitosana. As propriedades físico-químicas e as características das cutículas, quitina e quitosana também foram avaliadas. Quitosana comercial foi utilizada como amostra de referência para validar os métodos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAIS

As cutículas de *Tenebrio molitor* foram doadas pela Insetos Kaissara (Além Paraíba - Brasil). Este criadouro é certificado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil. A quitosana comercial (90 % do grau de desacetilação) foi doada pela Farmácia Uso Indicado (Pelotas - Brasil). A enzima utilizada para a desproteínização das amostras foi a Alcalase, uma endopeptidase bacteriana produzida a partir da fermentação submersa de *Bacillus licheniformis*, doada pela Novozymes Latin America (Araucária - Brasil). Os reagentes utilizados no presente estudo foram de grau analítico.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Obtenção da amostra e pré-tratamento

A criação dos insetos foi feita em bandejas plásticas, contendo uma mistura de diferentes matérias-primas (milho moído, farelo de trigo, farelo de arroz, entre outros) para obtenção de níveis adequados de proteínas, lipídios e carboidratos, além de vitaminas e minerais. Diferentes vegetais também foram oferecidos como forma de complementar a alimentação e fornecer água. O substrato alimentar foi trocado a cada duas semanas, e as larvas, pupas e adultos foram separados. As cutículas foram coletadas em todas as caixas de criação durante seis meses. As amostras foram acondicionadas em recipientes plásticos com proteção da luz e armazenadas em temperatura ambiente até a realização do pré-tratamento.

As cutículas foram secas em estufa de circulação de ar (Fanem 520, Brasil) a 50 °C durante a noite. As cutículas secas foram moídas em um moinho de facas (Marconi Wiley Mill Standard no. 03, EUA) para reduzir o tamanho da partícula. O pó obtido foi peneirado para padronizar o tamanho das partículas (Tyler 42) e para remover qualquer impureza remanescente. Após o pré-tratamento, a amostra final foi embalada em recipientes plásticos com proteção da luz e armazenada em temperatura ambiente até o uso.

2.2.2 Desproteinização enzimática

Para remover a proteína contida na amostra, foi proposto neste estudo a utilização de um método biotecnológico por meio de hidrólise enzimática. A amostra pré-tratada das cutículas de *Tenebrio molitor* foi homogeneizada em água destilada na proporção de 3 % (m/v; proteína/água). As condições de dispersão foram ajustadas para pH: 8 (hidróxido de sódio 1 M) e temperatura de 50 °C, durante 10 min. A hidrólise enzimática iniciou-se pela adição da enzima Alcalase na proporção de 2 % (p/p; enzima/substrato). O grau de hidrólise (GH) foi monitorado a cada 10 min até se tornar constante. Ao final do processo, a enzima foi inativada a 90 °C por 15 min. O produto resultante do processo foi centrifugado a $9000 \times g$ por 20 min a 4 °C (Hanil Supra 22K, Índia), para separar as frações solúvel (hidrolisado de proteína) e insolúvel (quitina e minerais). A fração insolúvel foi seca em estufa de circulação de ar (Fanem 520, Brasil) a 50 °C durante a noite, moída em moinho de facas (Marconi Wiley Mill Standard no. 03, EUA), embalada em recipientes plásticos e armazenada em temperatura ambiente até uso. A etapa de desmineralização não foi necessária devido ao baixo valor dos minerais contidos na amostra. O ensaio de desproteinização e a eficiência foram calculados conforme descrito por Abdelmalek et al. (2017). Os resultados foram expressos em porcentagem e calculados de acordo com a Equação 1:

$$\text{DPE (\%)} = \frac{(P_O \times O) - (P_R \times R)}{P_O \times O} \times 100 \quad (1)$$

Onde P_O e P_R são a concentração de proteína (%) antes e após a hidrólise; O e R representam a massa (g) da amostra original e do resíduo hidrolisado com base no peso seco, respectivamente.

2.2.3 Desacetilação da quitina

A amostra foi misturada com solução de NaOH 40 % (p / v) a 90 °C sob agitação mecânica constante (500 rpm). Após 8h, a solução foi filtrada e lavada com água destilada. A suspensão foi neutralizada a pH 7,0 com HCl (1M) e filtrada novamente para separar o sobrenadante. A quitosana obtida foi seca em estufa de circulação de ar (Fanem 520, Brasil) a 50 °C durante a noite, moída em moinho de facas (Marconi Wiley Mill Standard n°. 03, EUA). A amostra foi acondicionada em embalagens plásticas e armazenada em temperatura ambiente até o uso (MAREI et al., 2016).

2.3 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS E AVALIAÇÃO

A conversão de quitina em quitosana pode ser avaliada pelas propriedades da quitosana resultante. Para a avaliação do processo de purificação, o material bruto e purificado de cada etapa de purificação (cutículas para quitosana) foi analisado quanto ao teor de quitina e quitosana, bem como outros constituintes das cutículas de *Tenebrio molitor*, como cinzas, proteínas, lipídios e umidade conforme descrito posteriormente. A quitosana comercial foi avaliada a fim de validar os métodos usados para quitosana obtida.

2.3.1 Teor de umidade, cinzas, proteína e lipídios

Os teores de umidade (método n° 935.29), cinza (método n° 932.03), proteína (método micro-Kjedahl, n° 920.87) e lipídios (método Soxhlet, n° 925,30) foram determinados de acordo com o método descrito por AOAC (2000). Carboidratos foram obtidos por diferença.

2.3.2 Grau de desacetilação

A titulação potenciométrica foi utilizada para a determinação do grau de desacetilação em amostras de quitosana. O método utilizado nesta análise é uma adaptação do proposto por Czechowska-Biskup et al. (2012). Aproximadamente 0,1 g de quitosana seca foram pesados e 25 mL de HCl 0,1 M foram adicionados, formando uma solução que foi agitada continuamente por 30 min. Posteriormente, foram adicionados 25 ml de água deionizada e a solução continuou sob agitação constante até que a amostra estivesse

completamente solubilizada. Para o procedimento de titulação, foi utilizada uma solução previamente padronizada de NaOH 0,1 M, resultando em uma curva de titulação de volume de NaOH consumido vs. pH. O grau de desacetilação foi calculado conforme Equação 2.

$$\text{Grau de desacetilação (\%)} = 2.03 \times \frac{(V_2 - V_1)}{[m + 0.0042 \times (V_2 - V_1)]} \quad (2)$$

Onde m é o peso da amostra e V_2 e V_1 são o volume da solução de hidróxido de sódio 0,1 M correspondente aos pontos de deflexão.

2.3.3 Solubilidade

Para o ensaio de solubilidade, 0,1 g de quitosana foram colocados em um tubo de centrifuga pré-pesado, depois dissolvida em 10 mL de ácido acético aquoso a 1 % a 30 °C sob agitação constante por 1 h e centrifugados. O sobrenadante foi removido e o sedimento foi seco a 60 °C *overnight* (LUO et al., 2019). A solubilidade das amostras foi calculada de acordo com a Equação 3.

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} \times 100 \quad (3)$$

Onde M_0 é o peso inicial do tubo, M_1 e M_2 são o peso inicial do tubo mais a amostra e o peso final da amostra no tubo, respectivamente. Os ensaios foram realizados em triplicata.

2.3.4 Rendimento

O rendimento (Equação 4) das etapas para a obtenção de quitina e quitosana, bem como de todo o processo (cutícula-quitosana) foram calculados com base no balanço de massa global dos processos, conforme descrito por Luo et al. (2019).

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Cutícula seca, chitina ou quitosana (g)}}{\text{Matéria prima (g)}} \times 100 \quad (4)$$

2.4 CARACTERIZAÇÃO

2.4.1 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A análise de DSC foi utilizada para avaliar a estabilidade térmica da quitina e quitosana obtidas bem como da quitosana comercial, sendo realizada de acordo com o método descrito por Cestari et al. (2008) em um calorímetro diferencial de varredura (Shimadzu, TA-60WS, Japão). As amostras de 3 mg foram pesadas em cápsulas de alumínio e seladas hermeticamente. Uma variação de temperatura foi realizada com um índice de aquecimento de 10 °C/ min em uma faixa de temperatura de 25 a 500 °C.

2.4.2 Espectroscopia no infravermelho (FTIR)

A análise de FTIR foi realizada para determinar a presença de bandas IR características, o que é indicativo de quitosana. O pó de quitosana seco foi misturado com KBr (cerca de 5 mg de quitosana com 100 mg de KBr) e depois analisado utilizando um espectrofotômetro FTIR modelo IR prestige-21 (Shimadzu, Tóquio, Japão). Os espectros de absorvância foram obtidos a partir de uma média de 42 varreduras com resolução de 4 cm⁻¹ em uma faixa de frequência de 4000-600 cm⁻¹.

2.4.3 Difração de Raio-X (DRX)

A análise de DRX foi utilizada para avaliar a cristalinidade da quitosana obtida bem como da quitosana comercial. As medições de DRX foram realizadas nas amostras em pó usando uma máquina D8 Advance Bruker com radiação Cu (40kV, 40mA e 1,5418Å). Os dados foram reunidos a uma taxa de varredura de 10 °C/ min com o ângulo de varredura de 5 a 80 °C em um padrão contínuo. O índice de cristalinidade (ICr) das amostras foi calculado a partir da Equação 5 (KUMARI et al., 2017).

$$\text{ICr (\%)} = \left(\frac{I_{110} - I_{\text{am}}}{I_{110}} \right) \times 100 \quad (5)$$

Onde I_{110} é a intensidade máxima a 20 °C e I_{am} é a intensidade máxima de difração amorfa a 16 °C.

2.4.4 Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica de quitina e quitosana foi realizada de acordo com o método descrito por Luo et al. (2019) em uma termobalança (Shimadzu, DTG 60, Japão). As amostras de 3 mg foram aquecidas a uma taxa de 25 °C/ min em uma faixa de temperatura de 20 a 600 °C, sob uma atmosfera de nitrogênio a uma taxa de fluxo de 50 mL/ min.

2.4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Um microscópio eletrônico de varredura (JSM-6610LV SEM, Japão) foi empregado para observar a microestrutura e a morfologia de todas as amostras. As amostras foram revestidas com uma camada fina de ouro. A tensão de aceleração foi fixada na faixa de 10 kV para garantir uma imagem de alta resolução.

2.4.6 Análise estatística

Os ensaios realizados com réplicas e único fator foram submetidos ao teste t ou Análise de Variância Universal (*one-way* ANOVA) seguido da comparação *post-hoc* Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0.05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 TEOR DE UMIDADE, CINZAS, PROTEÍNA E LIPÍDIOS

De acordo com a literatura, as cutículas de insetos são compostas por quitina em uma matriz de proteínas cuticulares, lipídios dentre outros compostos (GONIL; SAJOMSANG, 2012). A caracterização das cutículas de larvas de *Tenebrio molitor*, quitina e quitosana obtidas e quitosana comercial são mostradas na Tabela 1.

Uma composição detalhada das cutículas de larvas de *Tenebrio molitor* foi importante como base para projetar e avaliar o procedimento de fracionamento subsequente até a quitosana, e sua determinação não foi uma tarefa simples porque para obter a quitina purificada é necessário eliminar os outros dois constituintes principais das cutículas dos insetos (proteínas e minerais). Embora a desmineralização seja considerada uma etapa fundamental para o sucesso da purificação da quitina, após testes preliminares, decidimos não aplicar esta etapa. O rendimento após a desmineralização provou ser baixo o teor de cinzas

Tabela 1 – Caracterização das cutículas de larvas de *Tenebrio molitor*, quitina e quitosana obtidas e quitosana comercial

	Cutícula	Quitina	Quitosana	Quitosana comercial
Umidade (%)	5,4 ± 0,1	6,2 ± 0,5	4,2 ± 0,1	9,1 ± 0,2
Cinzas (%)	3,7 ± 0,3	3,6 ± 0,2	3,7 ± 0,1	2,2 ± 0,6
Proteína (%)	36,8 ± 0,4	8,3 ± 0,2	5,4 ± 0,2	N.D.
Lipídios (%)	1,1 ± 0,2	N.D.	N.D.	N.D.
Rendimento (%)	100,0	70,9	45,1	-
Grau de desacetilação (%)	-	-	53,9	88,9
Solubilidade (%)	-	-	40,3 ± 0,6	99,8 ± 0,1

*N.D.: Não determinado

não diminuiu o suficiente (3,6 para 2,8) para justificar a quantidade de ácido aplicada durante o processo e uma grande quantidade de água necessária para desmineralização. Parece que a etapa de desmineralização nem sempre é realizada para obter quitosana. Os autores consideram isso desnecessário quando a matéria-prima utilizada possui baixo teor de compostos inorgânicos (CAMPANA-FILHO et al., 2007, DELEZUK et al., 2011).

A quantidade de cinzas presentes nas cutículas (3,7 %) é relativamente baixa quando comparada às quantidades de cinzas presentes no exoesqueleto e cutículas de outras espécies (GONIL et al., 2012; HAHN et al., 2019) ou mesmo quando comparado ao teor de cinzas presente na amostra comercial de quitosana (2,2 ± 0,6 %) (considerada pura), e permaneceu constante durante todas as etapas de purificação.

De acordo com a Tabela 1, a composição das cutículas de *Tenebrio molitor* foi de 5,4 ± 0,1 % de umidade, 3,7 ± 0,3 % de cinzas, 36,8 ± 0,4 % de proteína e 1,1 ± 0,2 % de lipídios. A quitina obtida das cutículas de *Tenebrio molitor* apresentou 6,2 ± 0,5 % de umidade, 3,6 ± 0,2 % de cinzas e 8,3 ± 0,2 % de proteína. Comparando o teor de proteína da quitina (8,3 %) com seu precursor, a cutícula (36,8 %), é possível observar a eficiência do processo biotecnológico para remoção de proteínas, reduzindo o percentual de proteína mais de quatro vezes. Parte da proteína restante pode estar fortemente ligada à quitina, dificultando sua remoção. Esta é uma característica da α -quitina, que pode ser encontrada na endocutícula dos artrópodes. Nestes casos, a quitina ocorre fortemente associada a proteínas, materiais inorgânicos ou ambos, necessitando de um tratamento mais severo para a remoção completa das impurezas associadas. (CAMPANA-FILHO et al., 2007). O aumento da umidade (5,4

para 6,2 %) pode ser explicado pelo fato de parte da água utilizada na etapa de desproteinização ter permanecido na amostra.

A quitosana é encontrada comercialmente em vários graus de pureza com diferentes graus de desacetilação, dependendo da aplicação (SRINIVASAN et al., 2017). Assim, de acordo com a Tabela 1, os valores de impurezas (minerais e proteínas) obtidos na composição proximal da quitosana de *Tenebrio molitor* apresentaram algumas semelhanças com a quitosana comercial utilizada como padrão. O valor de proteína obtido das cutículas de *Tenebrio molitor* ($5,4 \pm 0,2$ %) foi significativamente maior quando comparado à quitosana comercial (indetectável). No entanto, deve-se levar em consideração que a composição do polímero obtido depende de vários fatores, como a natureza do organismo do qual foi extraído e as condições empregadas no processo de extração. A alternativa do tratamento enzimático geralmente deixa 1–7 % de proteína residual. (CAMPANA-FILHO et al., 2007).

Não há dados disponíveis até o momento da composição centesimal das cutículas de *Tenebrio molitor*, dificultando a comparação. No entanto, os dados para o exoesqueleto de *Hermetia illucens* (HAHN et al., 2019) e cutículas de cigarras (GONIL et al., 2012) se assemelham aos aqui discutidos.

3.2 DESPROTEINIZAÇÃO ENZIMÁTICA

El Knidri et al. (2018) citam a importância de remover as proteínas contidas na amostra (incluindo as proteínas associadas à quitina) para que haja uma extração eficiente da quitina. De acordo com Caligiani et al. (2018), a hidrólise enzimática pode ser usada, como um processo biotecnológico, para remover o conteúdo de proteína na amostra a fim de obter quitina. Durante a hidrólise, as enzimas proteolíticas são usadas para clivar os peptídeos proteicos, desfazendo os complexos quitina-proteína, resultando em proteínas hidrolisadas que permanecem na fração solúvel. Como as proteínas estão presentes na fração insolúvel, elas podem ser facilmente removidas da amostra (LOPES et al., 2018). Para evitar o uso de solventes orgânicos e soluções ácidas/alcalinas na etapa de desproteinização das cutículas de *Tenebrio molitor*, optou-se pela hidrólise enzimática como método mais sustentável.

Muitos estudos demonstraram a aplicação de enzimas proteolíticas para a etapa de desproteinização a fim de se obter quitina/quitosana (YOUNES et al., 2012; MANNI et al., 2009; ABDELMALEK et al., 2017). A enzima Alcalase tem sido usada para remover proteínas intimamente ligadas à quitina e minerais (LOPES et al., 2018), bem como tem sido usada em estudos de hidrolisados de proteínas à base de insetos, como *Bombyx mori*, *Bombus*

terrestris, *Schistocerca gregaria*, *Gryllodes sigillatus* e *Spodoptera littoralis* (LUCAS et al., 2020b). Esta enzima tem atividade ótima em uma faixa de pH de 6,5 a 8,5 e uma temperatura entre 50 a 70 °C (YUST et al., 2010). A ação catalítica das enzimas permite a clivagem das ligações peptídicas durante a reação, podendo ser monitorado através do grau de hidrólise (razão percentual entre o número de ligações peptídicas clivadas e o número total de ligações peptídicas no substrato estudado) (DE CASTRO; SATO, 2014).

O grau de hidrólise (GH) das proteínas hidrolisadas por enzimas determina suas propriedades funcionais e biológicas. As proteínas, quando intactas, possuem um valor de GH de 0% e, completamente hidrolisadas, possuem um valor de GH de 100 % (LEE, 2015). Os tratamentos de desproteínização foram realizados por 2 h em pH 8,0 e 55 °C usando Alcalase. Esta enzima contém atividades de endoprotease, que fornecem a capacidade de atingir um maior grau de hidrólise na amostra. De acordo com os dados obtidos, pode-se observar que após 230 min de reação o grau de hidrólise passou a permanecer constante, portanto, a reação foi inativada em 250 min obtendo um grau máximo de hidrólise de 51,33 %. No início da reação, ocorreu a hidrólise de uma quantidade maior de ligações peptídicas e, após um certo período, essa quantidade diminuiu até apresentar um comportamento constante. Essa diminuição na taxa de reação pode ser explicada pela redução do substrato disponível ou pela inibição da atividade enzimática (YOUNES et al., 2012).

Ao analisar o teor de proteína da amostra antes e após a hidrólise enzimática, uma diminuição significativa pode ser observada. A amostra inicial apresentou 36,8 % de proteína, enquanto a amostra após hidrólise apresentou teor de proteína de 8,3 % (85 % de eficiência). A eficácia do uso da hidrólise enzimática para remover proteínas pode ser observada no estudo de Younes et al. (2012). Para determinar a eficiência da etapa de desproteínização usando tratamento enzimático com protease *B. mojavensis* A21, os autores usaram um desenho experimental com três variáveis e três níveis e concluíram que a melhor condição para remover até 88 % das proteínas da casca do camarão em uma relação enzima/substrato de 7,75 U/mg, temperatura de 60 °C e tempo de hidrólise de 6 h. Abdelmalek et al. (2017) obtiveram quitosana do gládio da lula europeia (*Loligo vulgaris*) com tratamento enzimático com Alcalase na etapa de desproteínização. Valores semelhantes foram obtidos na desproteínização da amostra (81,6 %) utilizando uma relação enzima/proteína de 15 U / mg.

Embora o percentual de desproteínização obtido neste estudo seja inferior ao que se obtém com tratamento químico (GONIL et al., 2012), a desproteínização enzimática ajuda a evitar tratamentos ácidos e alcalinos, extremamente perigosos para o meio ambiente. De fato, algumas proteínas associadas à quitina por forças eletrostáticas ou ligações de hidrogênio

podem ser dissociadas por tratamento térmico. No entanto, outras proteínas estão ligadas à quitina por ligações covalentes, e sua remoção requer tratamentos químicos ou enzimáticos severos (YOUNES et al., 2012). O fato de a desproteínização não atingir 100 % pode ser explicado pela não acessibilidade das enzimas a algumas proteínas protegidas pela quitina (ABDELMALEK et al., 2017). Os resultados obtidos demonstraram que a utilização da hidrólise enzimática na etapa de desproteínização com cutículas de *Tenebrio molitor* para a obtenção da quitosana é possível, entretanto, novos estudos nesta área devem surgir como forma de aprimorar o processo.

3.3 GRAU DE DESACETILAÇÃO

O grau de desacetilação é um parâmetro importante e amplamente utilizado para determinar o tipo de polímero, quitosana ou quitina, exigindo um grau de desacetilação superior ou inferior a 50 %, respectivamente. Consequentemente, esse parâmetro influencia diretamente as propriedades do polímero, como biológicas, físico-químicas, mecânicas e outras (EL KNIDRI et al., 2018; GONIL et al., 2012; MAREI et al., 2016).

No presente estudo, o método de titulação potenciométrica foi escolhido e aplicado a todas as amostras por ser considerado um método simples e de baixo custo, além de gerar resultados confiáveis conforme relatado na literatura (OLIVEIRA; FRANCO, OLIVEIRA JR., 2014). Foi obtida uma variação do pH em função do volume de solução de NaOH adicionado, gerando uma curva com dois pontos de inflexão. Esses pontos referem-se a reações de neutralização com H^+ livre (primeiro ponto de inflexão) e grupos amino protonados (segundo ponto de inflexão) (KASAAI, 2009). Por meio dos dados obtidos, o grau de desacetilação foi calculado com base na Equação 2.

O grau de desacetilação para a quitosana obtida a partir da cutícula de larvas de *Tenebrio molitor* foi de 53,9 %. A quitosana comercial foi analisada como amostra de referência para validação do método utilizado, obtendo-se um grau de desacetilação de 88,9%, o que está de acordo com o valor informado pelo fabricante (90,0 %). O produto obtido no presente estudo pode ser considerado quitosana uma vez que o valor médio do grau de desacetilação é superior a 50 %. Embora as cutícula de larvas de *Tenebrio molitor* sejam uma fonte promissora para a obtenção desse polímero, os estudos devem continuar sendo feitos com o exoesqueleto de insetos para obter resultados ainda melhores.

De acordo com o estudo de Hahn et al. (2019), obteve-se quitosana derivada de exoesqueletos larvais com um grau de desacetilação na faixa de 34 a 72 %. Esses autores

comentam que o grau de desacetilação da quitosana à base de inseto é geralmente baixo. Essa informação confirma o que já havia sido relatado por Odote, Struszczyk e Peter (2005), que mostra valores inferiores para o grau de desacetilação da quitosana de insetos quando comparada à quitosana de crustáceos. No estudo de Kim et al. (2017), o menor grau de desacetilação para a quitosana foi obtido do exoesqueleto de grilos-pintados adultos (*Gryllus bimaculatus*) (14,5 %). Um baixo grau de desacetilação também é relatado por Erdoğan e Kaya (2016), que obtiveram quitosana com 22 e 64 % de desacetilação de ninfas e adultos de um gafanhoto, respectivamente. Diferença entre as fases do inseto também foi observada no trabalho de Kaya et al. (2014), que apresentaram um grau de desacetilação de 64 e 71 % para a fase larval e adulta de besouro da batata do colorado (*Leptinotarsa decemlineata*), respectivamente. Esses valores obtidos pelos autores estão relacionados ao teor de quitina extraída, que foi de 7 % para a fase larval e 20 % para o inseto adulto. A variação observada entre esses valores pode ser explicada pelas diferentes funções da quitina nas partes do corpo e pelas diferentes fases do ciclo de vida do inseto.

De acordo com estudos na literatura, existe uma variação no grau de desacetilação da quitosana de diferentes fontes de insetos (EL KNIDRI et al., 2018; MAREI et al., 2016). Recentemente, Luo et al. (2019) obtiveram quitosana de quatro diferentes insetos com um grau de desacetilação na faixa de 84,1 a 89,7 %. Porém, o presente estudo utiliza apenas a cutícula do inseto e este é o diferencial em comparação com a maioria dos trabalhos relatados na literatura que descrevem a obtenção de quitosana de insetos. Isso justifica a diferença entre os valores do grau de desacetilação, visto que o tipo e o estágio de evolução do inseto podem influenciar diretamente no teor de quitina e, conseqüentemente, na quantidade de quitosana obtida.

3.4 SOLUBILIDADE

Neste estudo, a solubilidade da quitosana obtida a partir de cutículas de *Tenebrio molitor* foi de $40,3 \pm 0,6\%$. Assim como para o grau de desacetilação, a quitosana comercial também foi analisada como amostra de referência para validação do método utilizado, obtendo-se solubilidade de $99,8 < 0,1\%$, estando também de acordo com o valor informado pelo fabricante (100%). Conforme discutido anteriormente, o grau de desacetilação da quitosana a partir de cutículas de *Tenebrio molitor* foi de 53,9% e 90% para a quitosana comercial. Portanto, esperava-se obter uma solubilidade igualmente baixa para a quitosana obtida assim como uma solubilidade alta para quitosana comercial, uma vez que, de acordo

com algumas pesquisas, a solubilidade é fortemente afetada pelo grau de desacetilação (EL KNIDRI et al., 2018). Como quase metade da amostra de quitosana obtida através de cutículas de *Tenebrio molitor* é composta por quitina e este polímero é insolúvel em solventes orgânicos e inorgânicos comuns devido a uma forte rede de ligação de hidrogênio intra e intermoleculares, era de se esperar que a solubilidade da quitosana obtida tivesse uma correlação com o grau de desacetilação.

Estudos usando o inseto inteiro para obter quitosana mostram altos valores de solubilidade. Luo et al. (2019) obtiveram o teor de quitosana em quatro insetos diferentes: exoesqueleto de cigarra, crisálida de bicho da seda, tenébrio comum e gafanhoto. O ensaio mostrou 99,3 %, 98,7 %, 97,4 %, 94,3 % de solubilidade para as amostras, respectivamente. Sabe-se que o mesmo ocorre com a solubilidade da quitosana obtida de diferentes fontes. No mesmo estudo, os autores obtiveram quitosana com 91,5 % de solubilidade em cascas de camarão. Além disso, o grau de desacetilação da quitosana também foi alto. O grau de desacetilação estimado para exoesqueleto de cigarra, crisálida de bicho da seda, tenébrio comum, gafanhoto e casca de camarão foi de 84,1 %, 85,5 %, 85,9 %, 89,7 % e 91,2 %, respectivamente. É possível observar que, nesse caso, o mesmo ocorreu, a solubilidade da quitosana também dependia do grau de desacetilação.

Uma vez que a quitina também é encontrada nas estruturas internas dos insetos, e a composição entre o inseto inteiro e o exoesqueleto larval é diferente (HAHN et al., 2019), a comparação da solubilidade desses diferentes materiais não pode ser realizada. A solubilidade da quitosana obtida a partir do exoesqueleto de *Tenebrio molitor* não é discutida na literatura até o momento.

3.5 RENDIMENTO

O rendimento da quitina obtida a partir da cutícula de larva de *Tenebrio molitor* foi de 70,9 %. A quitosana obtida após a desacetilação da quitina foi de 45,1 %, e o rendimento global do processo (cutícula-quitosana) foi de 31,9 %. A falta de dados para a obtenção de quitina a partir desta matéria-prima por hidrólise enzimática não permite uma comparação com os resultados obtidos. Porém, quando comparado a outras fontes, o rendimento obtido parece estar de acordo. Abdelmalek et al. (2017) caracterizaram quitina e quitosana do gládio da lula europeia (*Loligo vulgaris*) preparada por tratamento enzimático com Alcalase e a porcentagem de rendimento em quitina observada pelos autores foi de 31,27 % (base úmida). Manni et al. (2009) obtiveram um rendimento ainda menor (16,5 %) para a

quitina obtida de resíduos de camarão utilizando o mesmo processo.

Quando o exoesqueleto do inseto é utilizado para obter quitina por meio de tratamentos químicos, os valores de rendimento obtidos também são semelhantes aos obtidos neste estudo. Para Hahn et al. (2019) a recuperação de quitina do exoesqueleto de *Hexapoda* em relação à biomassa total foi de 28 % e para Gonil et al. (2012) o rendimento obtido a partir do exoesqueleto da cigarra foi de 36,6 %. Uma visão geral da produção de quitina de insetos inteiros pode ser obtida em Shin, Kim e Shin (2019).

Em estudo recente, El Knidri et al. (2018) citam que o rendimento na obtenção de quitosana é geralmente baixo, exigindo uma grande quantidade de quitina. A utilização de enzimas na etapa de desproteínização durante este estudo apresentou um rendimento superior às outras metodologias propostas. Hahn et al. (2019) obtiveram quitosana do exoesqueleto de *Hexapoda* com 43% no máximo sobre a quitina total aplicada, semelhante ao obtido para cutícula de *Tenebrio molitor* (45,1 %). O rendimento da quitosana obtido do exoesqueleto da cigarra foi ainda menor (36,6 %) (GONIL et al., 2012). Os dados de porcentagem de rendimento de quitosana em peso seco de cigarra, crisálida do bicho-da-seda, tenébrio comum e gafanhoto apresentados por Luo et al. (2019) foram estimados em 28,2 %, 3,1 %, 2,5 %, 5,7 %, respectivamente. Esses dados sugerem que é mais vantajoso obter quitosana da cutícula do inseto do que do inseto inteiro. As possíveis razões para esse baixo rendimento para as quitosanas de inseto inteiro foram uma grande quantidade de proteína e conteúdo de gordura, conforme relatado por Castro, Ohara, Aguilar e Domingues (2018).

O conteúdo de quitosana de diferentes fontes (crustáceos, insetos e fungos) não só varia com a espécie em questão, mas também com as partes usadas para a obtenção de quitosana, dificultando a comparação. Devido à falta de dados, uma avaliação da quitosana obtida por comparação com outros processos é dificultada. Além disso, a parte mais desafiadora nos últimos anos é obter materiais à base de quitosana com propriedades equivalentes às de produtos totalmente sintéticos (EL KNIDRI et al., 2018).

3.6 CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)

A análise DSC foi realizada para avaliar a resistência térmica da quitosana preparada a partir da cutícula de *Tenebrio molitor*. A Tabela 2 mostra as temperaturas inicial e final (T_s e T_e) e máximas (T_{max}) para as transições térmicas, bem como a energia térmica (entalpia, ΔH) necessária para a decomposição da quitina e quitosana obtidas em comparação a quitosana comercial

De acordo com a Tabela 2, a quitosana comercial apresentou exotermia com $T_{\max}$ de 110,18 °C, semelhante à encontrada pela quitosana obtida da cutícula de *Tenebrio molitor* (111,96 °C). Essa faixa de temperatura é característica da mudança do estado de agregação, referindo-se à eliminação da água residual presente na amostra, bem como ao início da queima do material, conforme também citado em outros trabalhos (CESTARI et al., 2008; SOON et al., 2018).

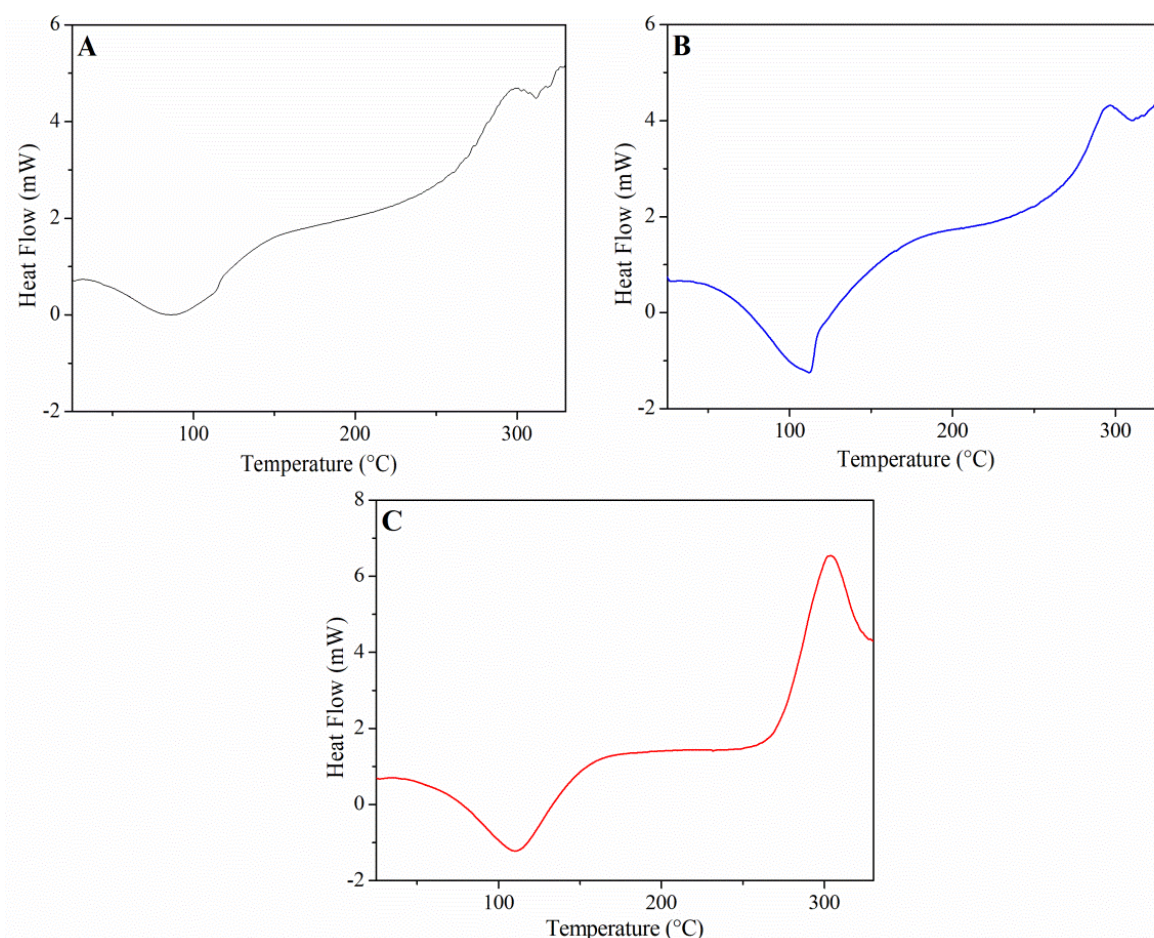
A decomposição térmica requer absorção de calor para quebrar a ligação de hidrogênio, sendo essa reação detectada como um pico endotérmico e a energia (entalpia, ΔH) necessária para que a reação ocorra. No presente estudo, foram observados picos endotérmicos (Figura 1) em relação à decomposição das amostras em temperaturas entre 273 e 321 °C. Porém, foi possível notar diferenças entre as energias absorvidas, confirmando, por comparação, a presença de impurezas proteicas e um menor grau de desacetilação (53,9 %) da quitosana obtida da cutícula de *Tenebrio molitor* uma vez que esta apresenta valores energéticos (31,98 J/g) semelhante ao seu precursor, quitina (29,84 J/g).

Tabela 2 - Calorimetria diferencial de varredura (DSC) de quitina e quitosana extraídas de cutículas de *Tenebrio molitor*, em comparação com a quitosana comercial.

DSC	Quitina	Quitosana	Quitosana comercial
T_{s1} (°C)	52,94	66,19	70,26
$T_{\max 1}$ (°C)	76,01	111,96	110,18
T_{e1} (°C)	86,07	116,69	149,60
ΔH_1 (J/g)	-73,21	-69,00	-288,54
T_{s2} (°C)	276,31	279,27	273,50
$T_{\max 2}$ (°C)	300,24	296,76	303,86
T_{e2} (°C)	311,62	310,19	320,97
ΔH_2 (J/g)	29,84	31,98	192,32

De acordo com Soon et al., (2018), a concentração de NaOH utilizada nas etapas de desacetilação e desproteínização pelo método químico influencia na estabilidade térmica das amostras. O aumento da concentração da base resulta em um ligeiro aumento da estabilidade térmica, também confirmado pela comparação com as temperaturas e entalpia no pico de decomposição da quitosana comercial.

Figura 1 – Calorimetria diferencial de varredura (DSC) de (A) quitina e (B) quitosana extraídas de cutículas de *Tenebrio molitor*, e (C) quitosana comercial.



3.7 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FTIR)

A análise de FT-IR foi realizada para confirmar a estrutura da quitosana obtida a partir das cutículas de *Tenebrio molitor*, por meio da identificação de bandas características desse polímero. A Figura 2 mostra os espectros de FT-IR obtidos para quitina e quitosana das cutículas de *Tenebrio molitor*, bem como da quitosana comercial.

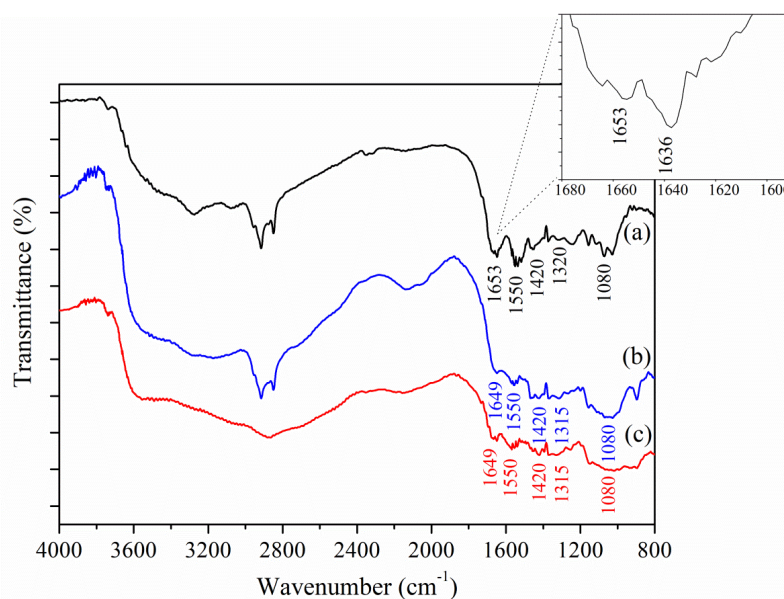
Para o espectro da quitina, mostrado na Figura 2 (a), foi destacada uma janela que varia de 1600 a 1680 cm^{-1} , sendo possível observar a banda da amida I que está atribuída ao grupo $\text{C} = \text{O}$. Essa banda é dividida em dois picos (1636 e 1653 cm^{-1}), característicos da α -quitina. Além disso, essa forma de quitina é comumente encontrada em estruturas rígidas e resistentes, como nas cutículas de insetos comestíveis (CAMPANA-FILHO et al., 2007).

Em geral, para os espectros mostrados na Figura 2, uma banda larga é observada para os espectros na região de 3000-3600 cm^{-1} , que corresponde ao alongamento das ligações

O-H e N-H. Além disso, existe também uma banda em torno de 2890 cm^{-1} , característica da vibração de alongamento $-\text{CH}_2$ nos grupos CH_2OH . Uma região característica que é amplamente utilizada para diferenciar a quitosana da quitina está entre 1500 a 1700 cm^{-1} (LUO et al., 2019; SHIN et al., 2019). Bandas com intensidades semelhantes são observadas em aproximadamente 1550 e 1650 cm^{-1} no espectro da quitina, que correspondem à vibração de alongamento N-H e C=O (no grupo NHCOCH_3), respectivamente. No espectro da quitosana da cutícula de *Tenebrio molitor*, essas bandas apresentam comportamento diferente, principalmente para a banda referente a C=O que é menos intensa, indicando que ocorreu desacetilação da quitina. Esse perfil também é observado no espectro da quitosana comercial, em que a banda C=O tem intensidade menor que a banda N-H. Conforme já mencionado em outros trabalhos da literatura, bandas características nas regiões de 1420 , 1315 e 1080 cm^{-1} , correspondentes às vibrações de alongamento $-\text{CH}_2$, CN e COC (MAREI et al., 2016; SHIN et al., 2019), respectivamente, também podem ser observadas nos espectros do presente estudo.

Este estudo mostra a diferença entre os espectros de FT-IR para polímeros obtidos das cutículas de larvas de *Tenebrio molitor*, confirmando a formação de quitosana a partir da quitina após o processo de desacetilação empregado. Isso também foi confirmado pela comparação com o espectro da quitosana comercial com alto grau de desacetilação, em que bandas semelhantes podem ser observadas.

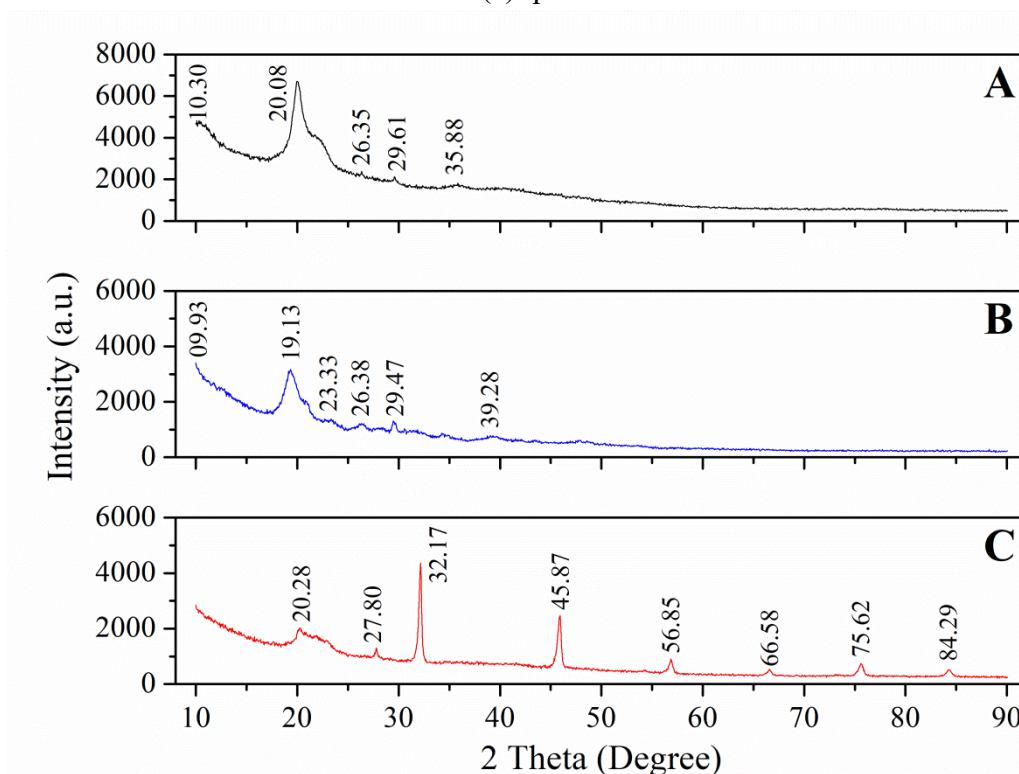
Figura 2 - Espectro de FTIR de (a) quitina e (b) quitosana extraída das cutículas de *Tenebrio molitor* e (c) quitosana comercial.



3.8 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

A análise de DRX para quitina e quitosana obtidas da cutícula de *Tenebrio molitor* e quitosana comercial foi realizada para verificar a cristalinidade do material. DRX também pode ser usado para distinguir a quitina da quitosana, uma vez que a quitosana adota um arranjo menos ordenado. A forma hidratada quitosana é produzida quando a hidrólise alcalina dos grupos acetamido da quitina é realizada, de modo que o padrão de DRX correspondente exibe um amplo espalhamento difuso e picos menos intensos em comparação com o padrão de DRX de quitina, onde o pico mais intenso é observado em $2\theta \approx 20^\circ$ para quitina (DELEZUK et al., 2011). Os padrões de DRX obtidos são mostrados na Figura 3.

Figura 3 - Padrão de DRX de (a) quitina e (b) quitosana extraída das cutículas de *Tenebrio molitor* e (c) quitosana comercial.



A quitina das cutículas de *Tenebrio molitor* apresentou dois picos altos a $10,30^\circ$ e $20,08^\circ$, e uma série de vários picos menores $26,35^\circ$, $29,61^\circ$ e $35,88^\circ$, semelhante ao relatado por Sáenz-Mendoza et al. (2018) quando quitina de *Tenebrio molitor* apresentou dois grandes picos a $9,32^\circ$ - $19,4^\circ$ e quatro de picos menos intensos a $12,84^\circ$, $23,24^\circ$, $26,36^\circ$ e $39,32^\circ$. Picos em regiões semelhantes foram relatados por Kaya et al. (2015) para quitina de sete espécies de Orthoptera. Picos agudos em torno de $9,26^\circ$ e $19,36^\circ$ são os planos de

difração (020) e (110) da estrutura cristalina (SOON et al., 2018). Dependendo do organismo considerado e da função que desempenha, a quitina adota estruturas polimórficas denominadas α -, β - e γ -quitina. Como já mencionado, a α -quitina é encontrada em estruturas como a cutícula de artrópodes e, nesses casos, ocorre fortemente associada a proteínas, materiais inorgânicos ou ambos (CHAPMAN, 2013). Estudos anteriores de DRX sugerem que a quitina obtida das cutículas de *Tenebrio molitor* pode ser classificadas, de acordo com sua cristalinidade, como uma α -quitina. Campana-Filho et al. (2007), em estudo de revisão, citam que uma amostra comercial de α -quitina apresenta diversos picos cristalinos, sendo os mais intensos correspondendo a $9,37^\circ$ e $19,35^\circ$, muito próximos aos obtidos para a quitina da cutícula de *Tenebrio molitor*. No entanto, a diferença nos valores de cristalinidade era esperada, visto que deve-se observar que a cristalinidade das amostras depende de diversos fatores, como a natureza do organismo de onde foi extraída a quitina e as condições empregadas na extração do polímero.

Para a quitosana de *Tenebrio molitor* é possível visualizar dois picos agudos em $09,93^\circ$ e $19,13^\circ$, que foram relatados na literatura como impressões digitais típicas de quitosana semicristalina e que também foram observados na quitosana de besouros e camarões (MULEY et al., 2018; SHIN et al., 2019), no mesmo difractograma três picos fracos também são observados em $23,33^\circ$, $26,38^\circ$ e $39,28^\circ$, relatado anteriormente por Li et al. (2019) em ângulos diferentes, $27,21^\circ$, $27,85^\circ$ e $31,48^\circ$ respectivamente, para a mesma fonte biológica. Soon et al., (2018) relata a mesma tendência em 10° - 20° e dois picos semelhantes em $26,32^\circ$ e $28,24^\circ$ na quitina extraída das larvas de *Zophobas morio*, por outro lado, um pico encontrado a 35° indica a presença de hidroxiapatita na quitosana de peixes e crustáceos, mas até agora não de insetos, esses resultados mostrando características semelhantes à quitina e o grau relativamente baixo de desacetilação poderiam explicar a estrutura semicristalina da quitosana da larva de *Tenebrio molitor*. Na mesma figura, observa-se que a quitosana comercial apresenta oito picos, o encontrado em $20,28^\circ$ também corresponde ao Crystal II na estrutura comum da quitosana (MULEY et al., 2018); $45,87^\circ$, $66,58^\circ$ e $75,62^\circ$ foram relatados para quitosana comercial em ângulos semelhantes, 20° , 45° , 65° e 75° , respectivamente (KUMARI et al., 2017).

O grau de cristalinidade (CrI) foi calculado com base na intensidade da região cristalina e amorfa (LUO et al., 2019). Os valores de cristalinidade da quitina obtidos foram de 53,7 %, enquanto o grau de cristalinidade da quitosana de *Tenebrio molitor* resultou em 30,1 %. A análise de DRX apresenta evidências que confirmam a produção de quitosana durante o processo, uma vez que a perda de cristalinidade provocada pela conversão de

quitina em quitosana é evidenciada pela menor intensidade e amplitude do sinal. O valor CrI da quitina isolada da cutícula da larva da farinha foi menor do que outras espécies (KAYA et al., 2015; LUO et al., 2019). Foi revelado em estudos anteriores que os valores de CrI da quitina variam entre 47 % e 91 % de acordo com a espécie e o método de isolamento (KAYA et al., 2014). Os valores de CrI da quitina relatados neste estudo ficaram no meio da faixa dos valores registrados na literatura. O mesmo ocorre com o valor CrI da quitosana. Estudos anteriores mostram que o CrI de quatro insetos diferentes, incluindo larvas de *Tenebrio molitor*, varia entre 32,9 % e 64,8 % de acordo com a espécie (LUO et al., 2019).

A quitosana comercial, conforme esperado, teve o menor índice de cristalinidade 17,9 %, uma vez que, de acordo com o discutido anteriormente por Delezuk et al. (2011) a desacetilação da amostra reduz a cristalinidade. O valor CrI da quitosana comercial foi significativamente menor do que a cutícula da larva de *Tenebrio molitor*. Este comportamento prova mais uma vez a presença de quitina na amostra devido ao seu baixo grau de desacetilação. No entanto, os resultados aqui obtidos demonstram coerência uma vez que maiores valores de CrI foram obtidos para a quitina, seguidos da amostra de quitosana e logo após a quitosana comercial.

3.9 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

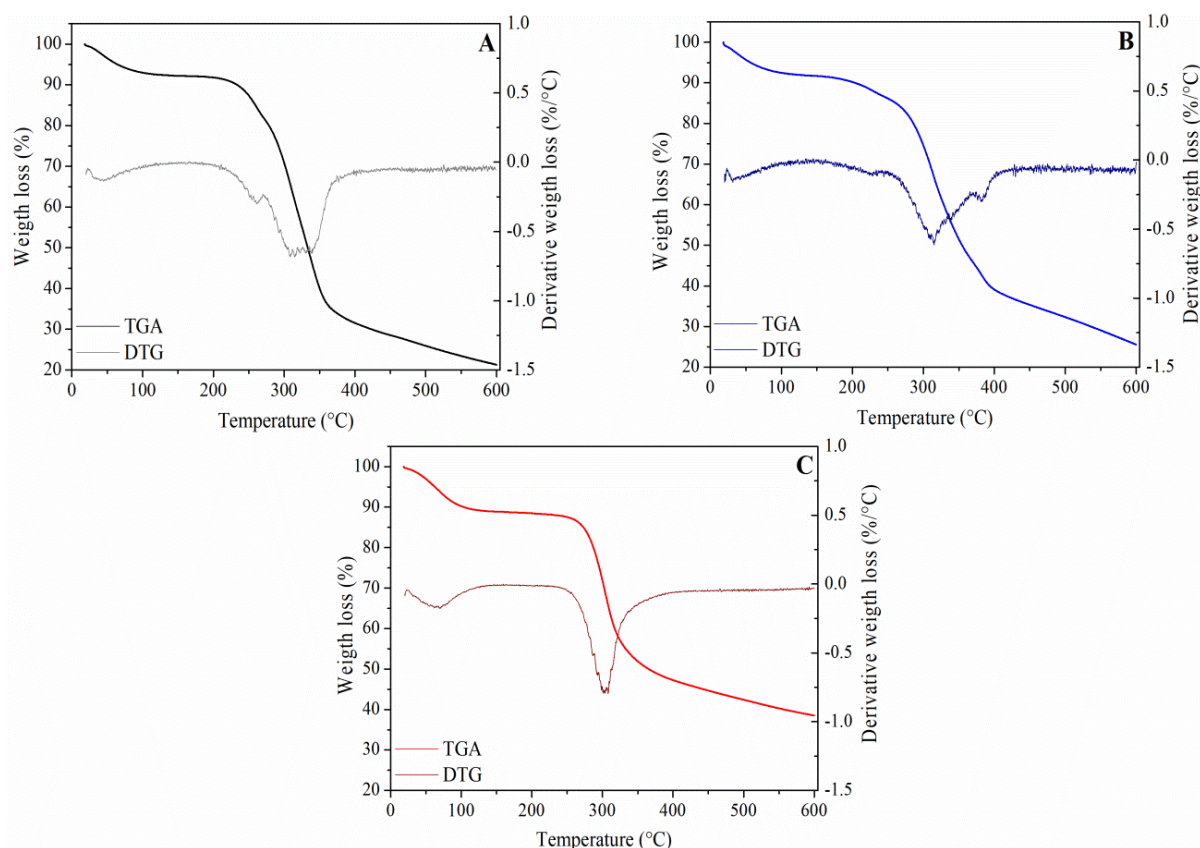
As curvas TGA da quitosana derivada da quitina e da quitosana das cutículas de larva de *Tenebrio molitor*, bem como da quitosana comercial, foram apresentadas na Figura 4. Verificou-se que os termogramas dos três polímeros possuem dois estágios principais de decomposição. A primeira dessas perdas de massa é devido à evaporação da água na quitina / quitosana, e a segunda é devido à decomposição da estrutura da quitina / quitosana (GONIL et al., 2012; KAYA et al., 2015; LUO et al., 2019).

O primeiro estágio decompôs-se a 60-70 °C, registrando uma perda de aproximadamente 7,8, 8,4 e 11,1 % do peso inicial de quitina e quitosana de cutículas de larvas de *Tenebrio molitor* e quitosana comercial, respectivamente. A segunda etapa corresponde mais especificamente à desidratação dos anéis sacarídeos juntamente com a despolimerização/decomposição das unidades acetiladas e desacetiladas do polímero (SOUZA et al., 2015). Esta etapa registrou uma perda de massa em uma temperatura inicial de 210-270 °C e foi concluída em aproximadamente 400 °C, com perdas de 70,9, 66,1 e 50,4 % do peso inicial de quitina e quitosana de larvas de *Tenebrio molitor* e quitosana comercial, respectivamente. Após a temperatura máxima de aquecimento (600 °C), a porcentagem de

massa residual foi de 21,3, 25,5 e 38,5% para quitina, quitosana e quitosana comercial, respectivamente.

Considerando a termogravimetria derivada (DTG), que também é mostrada na Figura 4, um valor máximo de 328,7 °C foi obtido para a quitina, enquanto para a quitosana de larva de *Tenebrio molitor* e quitosana comercial o DTG_{max} foi 314,7 e 301,8 °C, respectivamente. Em estudos anteriores, foi observado que o valor de DTG_{max} da quitina isolada de sete espécies de gafanhotos variou entre 381 e 385 °C (KAYA et al., 2015). Os resultados obtidos seguem a tendência relatada por Kaya et al. (2014), que obteve DTG_{max} inferior para a quitosana (faixa de 280 a 308 °C) em relação à quitina (faixa de 350 a 393 °C), que foram extraídas de seis diferentes invertebrados aquáticos. Segundo esses autores, isso está associado a uma maior estabilidade térmica da quitina. Após a desacetilação da cadeia lateral da quitina, a ordem cristalina diminui. Portanto, a estabilidade térmica da quitosana é inferior à da quitina original.

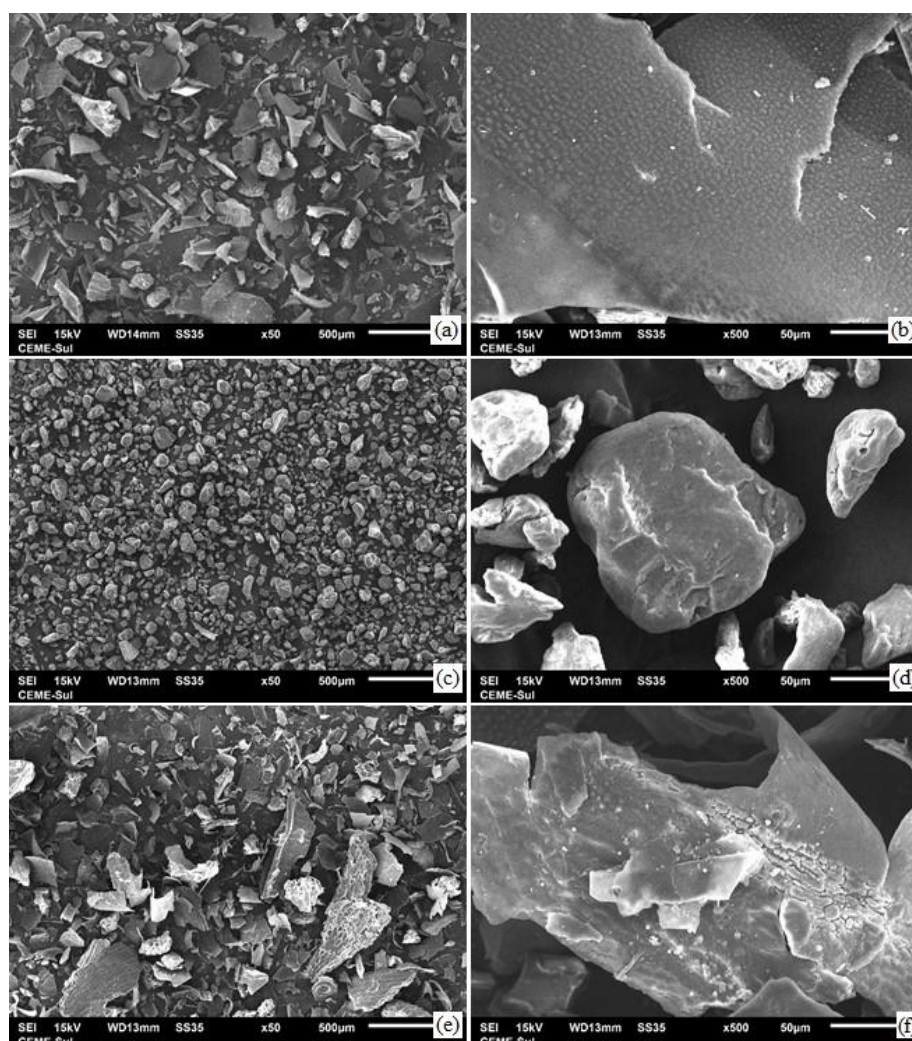
Figura 4 - Curvas TGA de (a) quitina e (b) quitosana extraídas de cutículas *Tenebrio molitor* e (c) quitosana comercial.



3.10 MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA (MEV)

As morfologias de superfície das amostras de quitina e quitosana obtidas das cutículas de larva de *Tenebrio molitor*, bem como da quitosana comercial, foram examinadas com aumento de 50x e 500x com microscópio eletrônico de varredura (MEV) e são apresentadas na Figura 5. Como esperado, avaliando as imagens obtidas, possível notar que a estrutura da superfície muda em função da cristalinidade do polímero, pureza, e mudanças devido ao processo de desacetilação. Considerando a estrutura da quitosana isolada das cutículas de *Tenebrio molitor* (e), e comparando-a com a quitosana comercial (c), pode-se observar que elas não são de forma alguma semelhantes. A quitosana comercial apresentou

Figura 5 - Imagem MEV de (a) quitina com ampliação de 50 x e (b) ampliação de 500 x, (c) quitosana comercial com ampliação de 50 x e (d) ampliação de 500 x, (e) quitosana obtida a partir de cutículas de *Tenebrio molitor* com ampliação de 50 x e (f)) 500 x ampliação.



partículas menores e uniformes, enquanto a quitosana obtida das cutículas de *Tenebrio molitor* apresentou partículas maiores em diferentes formatos. É possível perceber que o grau de pureza (sem a presença de proteínas remanescentes) e a predominância de unidades desacetiladas influenciaram diretamente na estrutura morfológica dos polímeros, tornando a estrutura da quitosana semelhante à quitina obtida das cutículas de larvas de *Tenebrio molitor* (a).

Não é notável, quando observamos a morfologia da superfície das três amostras (b, d e f), que elas consistem em estruturas de nanofibras. No entanto, Kaya et al. (2016) mencionaram que a quitina obtida de diferentes fontes pode ter diferentes perfis, que podem ser apenas fibras, fibras e poros e alguns não possuem fibras nem poros. A quitina (b) e a quitosana (f) obtidas das cutículas da larva de *Tenebrio molitor* apresentaram morfologia mais rugosa, enquanto a quitosana comercial (d) apresentou estrutura compacta e lisa. Isso pode ter ocorrido devido à diferença nas composições dos materiais. Analisando diferentes estudos, é possível perceber que a morfologia da superfície da quitina / quitosana varia de acordo com a espécie de inseto e também pode variar na mesma espécie de inseto, exibindo diferentes morfologias de superfície variando de lisa sem nanoporos a fibrosa com ou sem nanoporos e nanofibras muito distintas, provavelmente devido a diferenças na estrutura da cutícula (ERDOĞAN; KAYA, 2016; KAYA et al., 2015; KAYA et al., 2014; KAYA et al., 2016; SRINIVASAN et al., 2017).

4 CONCLUSÃO

Com a crescente demanda por fontes alternativas para substituir as tradicionais menos sustentáveis, a quitosana, o polissacarídeo mais abundante e renovável, tem ganhado atenção cada vez maior de muitos pesquisadores. As principais aplicações da quitosana nas indústrias de alimentos incluem a recuperação de resíduos de descartes de processamento de alimentos, preservação de alimentos da deterioração microbiana, formação de biodegradáveis, clarificação e purificação de água e desacidificação de sucos de frutas. Vários pesquisadores e cientistas apoiaram suas fortes atividades antimicrobianas e antifúngicas. Durante este estudo, demonstramos que os resíduos da criação do inseto para consumo humano podem ser usados para obter quitina / quitosana com sucesso. O fato da matéria-prima utilizada possuir baixa quantidade de minerais possibilitou a obtenção da quitina apenas com a etapa de desproteinização. A enzima utilizada foi eficiente na remoção das proteínas contidas na matriz. Embora a desproteinização não tenha sido completa, apresentou redução suficiente

para justificar a não utilização de solventes nocivos ao meio ambiente. Ao mesmo tempo, é necessário aumentar o grau de desacetilação da amostra, uma vez que as propriedades da quitosana dependem desse parâmetro. Assim, acreditamos que este estudo inicia investigações que determinem diferentes propriedades físico-químicas como o peso molecular da quitosana, bem como suas propriedades funcionais e bioativas e diferentes aplicações. Em geral, existe um grande potencial para melhorar o processo e incluir a utilização do biopolímero obtido na indústria de alimentos.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDELMALEK, B. E.; SILA, A.; HADDAR, A.; BOUGATEF, A.; AYADI, M. A. β -Chitin and chitosan from squid gladius: Biological activities of chitosan and its application as clarifying agent for apple juice. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 953–962, 2017.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. **Official Methods of analysis**. 17th ed. USA: Maryland, 2000.
- BAKSHIA, P. S.; SELVAKUMARA, D.; KADIRVELUB, K. K.; UMARA, N. S. Chitosan as an environment friendly biomaterial – a review on recent modifications and applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 150, p. 1072-1083, 2020.
- CALIGIANI, A.; MARSEGLIA, A.; LENI, G.; BALDASSARRE, S.; MAISTRELLO, L.; DOSSENA, A.; SFORZA, S. Composition of black soldier fly prepupae and systematic approaches for extraction and fractionation of proteins, lipids and chitin. **Food Research International**, v. 105, p. 812-820, 2018.
- CAMPANA-FILHO, S. P.; DE BRITTO, D.; CURTI, E.; ABREU, F. R.; CARDOSO, M. B.; BATTISTI, M. V.; SIM, P. C.; GOY, R. C.; SIGNINI, R.; LAVALL, R. L. Extração, estruturas e propriedades de α - e β -quitina. **Química Nova**, p. 30, v. 644-650, 2007.
- CESTARI, A. R.; VIEIRA, E. F. S.; TAVARES, A. M. G.; BRUNS, R. E. The removal of the indigo carmine dye from aqueous solutions using cross-linked chitosan: Evaluation of adsorption thermodynamics using a full factorial design. **Journal of Hazardous Materials**, v. 153, p. 566-574, 2008.
- CHAPMAN, R. F. **The insects: structure and function**. 5th ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2013.
- CZECHOWSKA-BISKUP, R.; JAROSÍŃSKA, D.; ROKITA, B.; ULANÍŃSKI, P.; ROSIAK, J. M. Determination of degree of deacetylation of chitosan - comparison of methods. **Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives**, v. 17, p. 5-20, 2012.
- DE CASTRO, R. J. S.; SATO, H. H. Advantages of an acid protease from *Aspergillus oryzae* over commercial preparations for production of whey protein hydrolysates with antioxidant

activities. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 3, p. 58–65, 2014.

DE CASTRO, R. J. S.; OHARA, A.; AGUILAR, J. G. DOS S.; DOMINGUES, M. A. F. Nutritional, functional and biological properties of insect proteins: Processes for obtaining, consumption and future challenges. **Trends in Food Science & Technology**, v. 76, p. 82–89, 2018.

DELEZUK, J. A. DE M.; CARDOSO, M. B.; DOMARD, A.; CAMPANA-FILHO, S. P. Ultrasound-assisted deacetylation of beta-chitin: influence of processing parameters. **Polymer International**, v. 60, p. 903–909, 2011.

EL KNIDRI, H.; BELAABED, R.; ADDAOU, A.; LAAJEB, A.; LAHSINI, A. Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 1181–1189, 2018.

ERDOĞAN, S.; KAYA, M. High similarity in physicochemical properties of chitin and chitosan from nymphs and adults of a grasshopper. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 89, p. 118–126, 2016.

GONIL, P.; SAJOMSANG, W. Applications of magnetic resonance spectroscopy to chitin from insect cuticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 51, p. 514–522, 2012.

HAHN, T.; ROTH, A.; JI, R.; SCHMITT, E.; ZIBEK, S. Chitosan production with larval exoskeletons derived from the insect protein production. **Journal of Biotechnology**, v. 310, p. 62–67, 2019.

KASAAI, M. R. Various methods for determination of the degree of n-acetylation of chitin and chitosan: a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 1667–1676, 2009.

KAYA, M.; BARAN, T.; ERDOĞAN, S.; MENTES, A.; ÖZUSAĞLAM, M. A.; ÇAKMAK, Y. S. Physicochemical comparison of chitin and chitosan obtained from larvae and adult Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*). **Materials Science and Engineering C**, v. 45, p. 72–81, 2014.

KAYA, M.; ERDOĞAN, S.; MOL, A.; BARAN, T. Comparison of chitin structures isolated from seven Orthoptera species. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 797–805, 2015.

KAYA, M.; SOFI, K.; SARGIN, I.; MUJTABA, M. Changes in physicochemical properties of chitin at developmental stages (larvae, pupa and adult) of *Vespa crabro* (wasp). **Carbohydrate Polymers**, v. 145, p. 64–70, 2016.

KIM, M. W.; SONG, Y. S.; HAN, Y. S.; JO, Y. H.; CHOI, M. H.; PARK, Y. K.; KANG, S. H.; KIM, S. A.; CHOI, C.; JUNG, W. J. Production of chitin and chitosan from the exoskeleton of adult two-spotted field crickets (*Gryllus bimaculatus*). **Entomological Research**, v. 47, p. 279–285, 2017.

KUMARI, S.; ANNAMAREDDY, S. H. K.; ABANTI, S.; RATH, P. K. Physicochemical properties and characterization of chitosan synthesized from fish scales, crab and shrimp shells. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 1697–1705, 2017.

LEE, C. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 1 th ed. Barueri: Manole, 2015.

LI, N.; XIONG, X.; HA, X.; WEI, X. Comparative preservation effect of water-soluble and insoluble chitosan from *Tenebrio molitor* waste. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 133, p. 165-171, 2019.

LOPES, C.; ANTELO, L. T.; FRANCO-URÍA, A.; ALONSO, A. A.; PÉREZ-MARTÍN, R. Chitin production from crustacean biomass: Sustainability assessment of chemical and enzymatic processes. **Journal of Cleaner Production**, v. 172, p. 4140-4151, 2018.

LUCAS, A. J. S.; OLIVEIRA, L. M.; DA ROCHA, M.; PRENTICE, C. Edible insects: an alternative of nutritional, functional and bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 311, p. 126022, 2020b.

LUO, Q.; WANG, Y.; HAN, Q.; JI, L.; ZHANG, H.; FEI, Z.; WANG, Y. Comparison of the physicochemical, rheological, and morphologic properties of chitosan from four insects. **Carbohydrate Polymers**, v. 209, p. 266-275, 2019.

MANNI, L.; GHORBEL-BELLAAJ, O.; JELLOULI, K.; YOUNES, I.; NASRI, M. extraction and characterization of chitin, chitosan, and protein hydrolysates prepared from shrimp waste by treatment with crude protease from *Bacillus cereus* SV1. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 162, p. 345–357, 2009.

MAREI, N. H.; SAMIEE, E. A. E.; SALAH, T.; SAAD, G. R.; ELWAHY, A. H. M. Isolation and characterization of chitosan from different local insects in Egypt. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 82, v. 871-877, 2016.

MULEY, A. B.; CHAUDHARI, S. A.; MULCHANDANI, K. H.; SINGHAL, R. S. Extraction and characterization of chitosan from prawn shell waste and its conjugation with cutinase for enhanced thermo-stability. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 111, p. 1047-1058, 2018.

ODOTE, P. M. O.; STRUSZCZYK, M. H.; PETER, M. G. Characterisation of chitosan from blowfly larvae and some crustacean species from kenyan marine waters prepared under different conditions. **Western Indian Ocean Journal of Marine Science**, v. 4, p. 99-107, 2005.

OLIVEIRA, A. M.; FRANCO, T. T.; OLIVEIRA JR. E. N. Physicochemical characterization of thermally treated chitosans and chitosans obtained by alkaline deacetylation. **International Journal of Polymer Science**, 2014, 1-9, 2014.

SÁENZ-MENDOZA, A.; ZAMUDIO-FLORES, P.; PALOMINO-ARTALEJO, G.; TIRADO-GALLEGOS, J.; GARCÍA-CANO, V.; ORNELAS-PAZ, J.; RÍOS-VELASCO, C.; ACOSTA-MUÑIZ, C.; VARGAS-TORRES, A.; SALGADO-DELGADO, R.; APARICIO-SAGUILÁN, A. Physicochemical, morphological and structural characterization of the chitin and chitosan of *tenebrio molitor* and *galleria mellonella* insects. **Revista Mexicana De Ingeniería Química**, v. 18, p. 39-56, 2018.

SHIN, C. S.; KIM, D. Y.; SHIN, W.S. Characterization of chitosan extracted from Mealworm Beetle (*Tenebrio molitor*, *Zophobas morio*) and Rhinoceros Beetle (*Allomyrina dichotoma*) and their antibacterial activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 125, p. 72-77, 2019.

SOON, C. Y.; TEE, Y. B.; TAN, C. H.; ROSNITA, A. T.; KHALINA, A. Extraction and physicochemical characterization of chitin and chitosan from *Zophobas morio* larvae in varying sodium hydroxide concentration. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 135–142, 2018.

SOUZA, N. L. G. D.; SALLES, T. F.; BRANDÃO, H. M.; EDWARDS, H. G. M.; DE OLIVEIRA, L. F. C. Synthesis, vibrational spectroscopic and thermal properties of oxocarbon cross-linked chitosan. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, p. 1247-1256, 2015.

SRINIVASAN, H.; VELAYUTHAM, K.; RAVICHANDRAN, R. Chitin and chitosan preparation from shrimp shells *Penaeus monodon* and its human ovarian cancer cell line, PA-1. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 662-667, 2017.

TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N. F. **Borror and DeLong's Introduction of the Study of Insects**. 7th ed. Belmont: Thomson Brooks, 2005.

YOUNES, I.; GHORBEL-BELLAAJ, O.; NASRI, R.; CHAABOUNI, M.; RINAUDO, M.; NASRI, M. Chitin and chitosan preparation from shrimp shells using optimized enzymatic deproteinization. **Process Biochemistry**, v. 47, p. 2032–2039, 2012.

YUST, M. D. M.; PEDROCHE, J.; MILLÁN-LINARES, M. D. C.; ALCAIDEHIDALGO, J. M.; MILLÁN, F. Improvement of functional properties of chickpea proteins by hydrolysis with immobilized Alcalase. **Food Chemistry**, v. 122, p. 1212–1217, 2010.

ZITNAN, D.; ADAMS, M. E. neuroendocrine regulation of ecdysis. **Insect Endocrinology**, p. 253–309, 2012.

CAPÍTULO IV
CONCLUSÃO GERAL

1 CONCLUSÃO GERAL

A pesar de o termo “insetos como fonte de alimento” ainda causar estranheza e repugna para algumas pessoas, é inegável que este contexto vem ganhando força nas mais diferentes maneiras. Os insetos surgem como uma alternativa “esquecida” aos problemas que mundialmente enfrentados. Emissões de gases do efeito estufa, consumo de água, crescimento populacional, desmatamento e até mesmo a fome. A criação de insetos, seja ela para consumo animal ou humano, pode ajudar a minimizar todos estes prejuízos causados ao longo dos anos. Os insetos são constituídos por proteínas de alta qualidade, ácidos graxos insaturados dos tipos ômega 6 e ômega 9 e boa parte de sua fração sacarídica é composta por quitina. Não menos importante, os insetos possuem vitaminas principalmente do complexo B e C e minerais, como cálcio, potássio, magnésio, fósforo, sódio e ferro.

O estágio de vida em que o inseto se encontra influencia diretamente na sua composição química. Nos estágios iniciais como ninfa ou larva a fração lipídica é predominante, já no inseto adulto pode-se observar uma maior quantidade de proteínas. Também pode-se observar que diferentes tratamentos como secagem e congelamento exercem diferentes influências na composição proximal da barata cinérea, sendo maiores o teor de proteína no inseto desidratado, e de lipídios no inseto congelado. Os hidrolisados de barata cinérea desidratada utilizando a enzima Alcalase apresentaram um grau de hidrólise superior ao verificado utilizando os mesmos substratos com a enzima Protamex. Contudo, apesar de apresentar maior grau de hidrólise para os diferentes substratos, a Alcalase apresentou após a hidrólise, o menor teor de proteínas, o que pode ter ocorrido devido a maior solubilização de proteínas durante a hidrólise e remoção de matéria sólida insolúvel por centrifugação utilizando esta enzima.

Durante este estudo, também demonstramos que os resíduos da criação de insetos podem ser utilizados para obter com êxito quitina/quitosana. A hidrólise enzimática utilizando a enzima Alcalase na etapa de desproteinização mostrou ser um processo eficiente na remoção de proteínas da amostra. Ao final do processo foi possível obter quitosana com grau de desacetilação de 53,9 %. Apesar de algumas características da quitosana obtida serem semelhantes a uma quitosana comercial, julga-se necessário aumentar o grau de desacetilação da amostra, uma vez que as propriedades do polímero dependem desse parâmetro.

CAPÍTULO V
CONSIDERAÇÕES FINAIS

1.1 RESÍDUOS GERADOS E DESTINO

Todos os resíduos gerados durante a execução deste estudo foram destinados de acordo com a sua classificação, com base no Plano de Gerenciamento de Resíduos Químicos e Perigosos (PGRQP) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) (FURG, 2017). Os resíduos químicos obtidos durante as análises contendo diversas substâncias químicas foram classificados de acordo com sua composição. Quando denominados como perigosos, como os inflamáveis, corrosivos, reativos, tóxicos, estes foram devidamente segregados, identificados, com o rótulo padrão da FURG, de acordo com a sua classe e acondicionados considerando todos os critérios de incompatibilidade química das substâncias presentes em cada solução. Os resíduos químicos perigosos foram armazenados em frascos resistentes com tampa rosqueada, de material específico de acordo com a compatibilidade. O preenchimento do frasco se fez até 2/3 da capacidade do mesmo, para evitar o vazamento durante o manuseio, armazenamento ou transporte. Estes resíduos foram então encaminhados do Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA) para a Unidade de Armazenamento temporário de resíduos químicos da FURG até o recolhimento por uma empresa licenciada, a qual envia os resíduos para tratamento e destino final. Os demais resíduos sólidos gerados como material de uso diário, por exemplo, luvas e papel toalha, resultante das atividades laboratoriais foram descartados em lixo comum.

1.2 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estudar a influência que diferentes tratamentos, como secagem e congelamento, exercem no perfil aminoacídico e lipídico dos insetos, bem como em suas vitaminas e minerais;
- Estudar o potencial alergênico dos insetos;
- Estudar a funcionalidade das proteínas extraídas de insetos;
- Estudar diferentes bioatividade de hidrolisados proteicos de insetos;
- Estudar a fração lipídica obtida dos insetos;
- Aplicar a fração proteica e lipídica obtidas de insetos em diferentes matrizes alimentares.

CAPÍTULO VI
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDELATIF, A. M.; MARIAM, Y. I.; AMAL, S. M. Antidiabetic Effects of Fenugreek (*Trigonella Foenum-Graecum*) Seeds in the Domestic Rabbit (*Oryctolagus Cuniculus*). **Research Journal of Medicinal Plant**, v. 6, p. 449–455, 2012.
- ABDELMALEK, B. E.; SILA, A.; HADDAR, A.; BOUGATEF, A.; AYADI, M. A. β -Chitin and chitosan from squid gladius: Biological activities of chitosan and its application as clarifying agent for apple juice. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 953–962, 2017.
- ADEYEYE, E.; AWOKUNMI, E. Chemical composition of female and male giant African crickets, *Brachytrypes membranaceus* L. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 1, p. 125–136, 2010.
- ADLER-NISSEN, J. **Enzymatic hydrolysis of food proteins**. London: ElsevierApplied Science Publishing, 1986.
- AGBIDYE, F. S.; OFUYA, T. I.; AKINDELE, S. O. Marketability and nutritional qualities of some edible forest insects in Benue State, Nigeria. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 8, p. 917–922, 2009.
- AGUILAR-MIRANDA, E. D.; LOPEZ, M. G.; ESCAMILLA-SANTANA, C.; BARBA DE LA ROSA, A. P. Characteristics of maize flour tortilla supplemented with ground *Tenebrio molitor* larvae. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 192–195, 2002.
- AHMED, T. A.; ALJAEID, B. M. Preparation, characterization, and potential application of chitosan, chitosan derivatives, and chitosan metal nanoparticles in pharmaceutical drug delivery. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 10, p. 483–507, 2016.
- AKPOSSAN, R. A.; DIGBEU, Y. D.; KOFFI, M. D.; PARFAIT, J.; EUGÈNE, N.; DUÉ, E. A.; KOUAMÉ, P. L. protein fractions and functional properties of dried *Imbrasia oyemensis* larvae fullfat and defatted flours. **International Journal of Biochemistry Research & Review**, v. 5, p. 116–126, 2015.
- AKHTAR, Y.; ISMAN, M.B. An alternative protein source. In: RICHKEY, Y.Y. (Eds.). **Proteins in food processing**. Nova York: Elsevier Ltd, v.2, 674p., 2018.
- ALEMU, M. H.; OLSEN, S. B.; VEDEL, S. E.; PAMBO, K. O.; OWINO, V. O. Combining product attributes with recommendation and shopping location attributes to assess consumer preferences for insect-based food products. **Food Quality and Preference**, v. 55, p. 45–57, 2017.
- AMARENDER, R. V.; BHARGAVA, K.; DOSSEY, A. T.; GAMAGEDARA, S. Lipid and protein extraction from edible insects – Crickets (*Gryllidae*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 125, p. 109222, 2020.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. **Official methods of analysis**. USA: Maryland, 2000. 3100p.

ARCHER, M. C.; RAGNARSSON, J. O.; TANNENBAUM, S. R.; WANG, D. I. Enzymatic solubilization of an insoluble substrate, fish protein concentrate: process and kinetic considerations. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 15, p.181-196, 1973.

AYUSO, R.; REESE, G.; LEONG-KEE, S.; PLANTE, M.; LEHRER, S. B. Molecular basis of arthropod cross-reactivity: IgE-binding cross-reactive epitopes of shrimp, house dust mite and cockroach tropomyosins. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 129, p. 38-48, 2002.

BAKER, E. J.; MILES, E. A.; BURDGE, G. C.; YAQOOB, P.; CALDER, P. C. Metabolism and functional effects of plant-derived omega-3 fatty acids in humans. **Progress in Lipid Research**, v. 64, p. 30-56, 2016.

BAKSHIA, P. S.; SELVAKUMARA, D.; KADIRVELUB, K. K.; UMARA, N. S. Chitosan as an environment friendly biomaterial – a review on recent modifications and applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 150, p. 1072-1083, 2020.

BALLITOC, D. A.; SANGSOO, S. Ground yellow mealworms (*Tenebrio molitor* L.) feed supplementation improves growth performance and carcass yield characteristics in broilers. **Open Science Repository Agriculture. Online (open-access)**, e23050425, 2013.

BARENNE, H.; PHIMMASANE, M.; RAJAONARIVO, C. Insect consumption to address undernutrition, a national survey on the prevalence of insect consumption among adults and vendors in Laos. **PLoS ONE**, v. 10, e0136458, 2015.

BAUTISTA-BANOS, S.; ROMANAZZI, G.; JIMÉNEZ-APARICIO, A. **Chitosan in the preservation of agricultural commodities**. Academic Press, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2016.

BAZINET, R. P.; LAYÉ, S. Polyunsaturated fatty acids and their metabolites in brain function and disease. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 15, p. 771–785, 2014.

BEENAKKERS, A. M. T.; VANDERHORST, D. J.; VANMARREWIJK, W. J. A. Insect lipids and lipoproteins, and their role in physiological processes. **Progress in lipid research**, v. 24, p. 19-67, 1985.

BELGHIT, I.; LILAND, N. S.; GJESDAL, P.; BIANCAROSA, I.; MENCHETTI, E.; LI, Y.; WAAGBØ, R.; KROGDAHL, Å.; LOCK, E.-J. Black soldier fly larvae meal can replace fish meal in diets of sea water phase Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v. 03, p. 609-619, 2019.

BENSON, E. P.; ZUNGOLI, P. A. Cockroaches. In: Mallis, A. **Handbook of pest control**. University Park, PA: Mallis Handbook & Technical Training Company; p. 123 – 202, 1997.

BERTELSEN, R. J.; SVANES, Ø.; MADSEN, A. M.; HOLLUND, B. E.; KIRKELEIT, J.; SIGSGAARD, T.; UHRBRAND, K.; DO, T. V.; AASEN, T. B.; SVANES, C. Pulmonary illness as a consequence of occupational exposure to shrimp shell powder. **Environmental Research**, v. 148, p. 491-509, 2016.

BEVERLY, R. R.; BACILIZA, Q. S.; RAMOS-ELORDUY, J.; MORENO, J. M. P.; CAMPOS, S. C. A.; PÉREZ, A. G.; GARCÍA, D. V. B. Análisis químico y nutricional de tres

insectos comestibles de interés comercial en la zona arqueológica del Municipio de San Juan Teotihuacán y en Otumba, en el Estado de México. **Interciencia**, v. 37, p. 914-920, 2012.

BOUHENNA, M.; SALAH, R.; BAKOUR, R.; DROUCHE, N.; ABDI, N.; GRIB, H.; LOUNICI, H.; MAMERI, N. Effects of chitin and its derivatives on human cancer cells lines. **Environmental Science and Pollution Research Journal**, v. 22, p. 15579–15586, 2015.

BRYKSA, B.C.; YADA, R. Y. Bioquímica de Alimentos. In: CAMPBELL-PLATT, G. (Ed.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Barueri - SP: Manole, 2015.

BUBLER, S.; RUMPOLD, B. A.; JANDER, E.; RAWEL, H. M.; SCHLUTER, O. K. Recovery and techno-functionality of flours and proteins from two edible insect species: meal worm (*Tenebrio molitor*) and black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. **Heliyon**, v. 2, e00218, 2016.

BUKKENS, S. G. F. Insects in the human diet: Nutritional Aspects. In: Paoletti, M.G. **Ecological Implications of Minilivestock: Potential of insects, rodents, frogs, and snails**. Florida: CRC Press, p. 545–577, 2005.

BUKKENS, S. G. F. The nutritional value of edible insects. **Ecology of Food and Nutrition**, v. 36, p. 287–319, 1997.

CALIGIANI, A.; MARSEGLIA, A.; LENI, G.; BALDASSARRE, S.; MAISTRELLO, L.; DOSSENA, A.; SFORZA, S. Composition of black soldier fly prepupae and systematic approaches for extraction and fractionation of proteins, lipids and chitin. **Food Research International**, v. 105, p. 812-820, 2018.

CAMPANA-FILHO, S. P.; DE BRITTO, D.; CURTI, E.; ABREU, F. R.; CARDOSO, M. B.; BATTISTI, M. V.; SIM, P. C.; GOY, R. C.; SIGNINI, R.; LAVALL, R. L. Extração, estruturas e propriedades de α - e β -quitina. **Química Nova**, p. 30, v. 644-650, 2007.

CARRASCO-CASTILLA, J.; HERNÁNDEZ-ÁLVAREZ, A. J.; JIMÉNEZ-MARTÍNEZ, C.; JACINTO-HERNÁNDEZ, C.; ALAIZ, M.; GIRÓN-CALLE, J.; DÁVILA-ORTIZ, G. Antioxidant and metal chelating activities of Phaseolus vulgaris L. var. Jamapa protein isolates, phaseolin and lectin hydrolysates. **Food Chemistry**, v. 131, p. 1157-1164, 2012.

CESTARI, A. R.; VIEIRA, E. F. S.; TAVARES, A. M. G.; BRUNS, R. E. The removal of the indigo carmine dye from aqueous solutions using cross-linked chitosan: Evaluation of adsorption thermodynamics using a full factorial design. **Journal of Hazardous Materials**, v. 153, p. 566-574, 2008.

CHALAMAIAH, M.; DINESH KUMAR, B.; HEMALATHA, R.; JYOTHIRMAYI, T. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. **Food chemistry**, v. 135, p. 3020-3038, 2012.

CHAPMAN, R. F. **The insects: structure and function**. 5th ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2013.

CHEUNG, I. W. Y.; LI-CHAN, E. C. Y. Enzymatic production of protein hydrolysates from steelhead (*Oncorhynchus mykiss*) skin gelatin as inhibitors of dipeptidyl-peptidase IV and angiotensin-I converting enzyme. **Journal of Functional Foods**, v. 28, p. 254–264, 2017.

- CHUKWU, O. Influences of drying methods on nutritional properties of tilapia fish (*Oreochromis niloticus*). **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 5, p. 256–258, 2009.
- CHURCHWARD-VENNE, T. A.; PINCKAERS, P. J. M.; VAN LOON, J. J. A.; VAN LOON, L. J. C. Consideration of insects as a source of dietary protein for human consumption. **Nutrition Reviews**, v. 75, p. 1035–1045, 2017.
- CHUNG, A. Y. C. Edible insects and entomophagy. In: FOREST INSECTS AS FOOD: HUMANS BITE BACK. PROCEEDINGS OF A WORKSHOP ON ASIA-PACIFIC RESOURCES AND THEIR POTENTIAL FOR DEVELOPMENT. **Anais...** Bangkok: FAO, 2010. p. 115-122.
- CYTRYŃSKA, M.; MAK, P.; ZDYBICKA-BARABAS, A.; SUDER, P.; JAKUBOWICZ, T. Purification and characterization of eight peptides from *Galleria mellonella* immune hemolymph. **Peptides**, v. 28, p. 533-546, 2007.
- CZECHOWSKA-BISKUP, R.; JAROSIŃSKA, D.; ROKITA, B.; ULAŃSKI, P.; ROSIAK, J. M. Determination of degree of deacetylation of chitosan - comparison of methods. **Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives**, v. 17, p. 5-20, 2012.
- DA ROCHA, M.; ALEMÁN, A.; BACCAN, G. C.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; GÓMEZ-GUILLÉN, C.; MONTERO, P.; PRENTICE, C. Anti-inflammatory, antioxidant, and antimicrobial effects of underutilized fish protein hydrolysate. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 27, p. 592–608, 2018.
- DAI, C.; MA, H.; LUO, L.; YIN, X. Angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptide derived from *Tenebrio molitor* (L.) larva protein hydrolysate. **European Food Research and Technology**, v. 236, p. 681–689, 2013.
- DASH, M.; CHIELLINI, F.; OTTENBRITE, R. M.; CHIELLINI, E. Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 36, p. 981–1014, 2011.
- DE CASTRO, R. J. S.; SATO, H. H. Advantages of an acid protease from *Aspergillus oryzae* over commercial preparations for production of whey protein hydrolysates with antioxidant activities. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 3, p. 58–65, 2014.
- DE CASTRO, R. J. S.; OHARA, A.; AGUILAR, J. G. DOS S.; DOMINGUES, M. A. F. Nutritional, functional and biological properties of insect proteins: Processes for obtaining, consumption and future challenges. **Trends in Food Science and Technology**, v. 76, p. 82–89, 2018.
- DEFOLIART, G. R. Insects as human food. **Crop Protection**, v. 11, p. 395–399, 1992.
- DEFOLIART, G. R. Insect fatty acids: Similar to those of poultry and fish in their degree of unsaturation, but higher in the polyunsaturates. **The Food Insects Newsletter**, v. 4, p. 1–4, 1991.

- DELEZUK, J. A. DE M.; CARDOSO, M. B.; DOMARD, A.; CAMPANA-FILHO, S. P. Ultrasound-assisted deacetylation of beta-chitin: influence of processing parameters. **Polymer International**, v. 60, p. 903–909, 2011.
- DOWNER, R. G. H.; MATHEWS, J. R. Paterns of lipid distribution and utilisation in insects. **American Zoologist**, v. 16, p. 733-745, 1976.
- DUBEY, L.K. MOELLER, J. B.; SCHLOSSER, A.; SORENSEN, G. L.; HOLMSKOV, U. Chitin enhances serum IgE in *Aspergillus fumigatus* induced allergy in mice. **Immunobiology**, v. 220, p. 714-721, 2015.
- EKPO, K. E.; ONIGBINDE, A. O.; ASIA, I. O. Pharmaceutical potentials of the oils of some popular insects consumed in southern Nigeria. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 3, p. 51-57, 2009.
- EL KNIDRI, H.; BELAABED, R.; ADDAOU, A.; LAAJEB, A.; LAHSINI, A. Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 1181-1189, 2018.
- ENNAAS, N.; HAMMAMI, R.; BEAULIEU, L.; FLISS, I. Purification and characterization of four antibacterial peptides from protamex hydrolysate of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) by-products. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 462, p. 195-200, 2015.
- ERDOĞAN, S.; KAYA, M. High similarity in physicochemical properties of chitin and chitosan from nymphs and adults of a grasshopper. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 89, p. 118–126, 2016.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) 2013. **Fish to 2030 prospects for fisheries and aquaculture**. World Bank report n° 83177-GLB.
- FINK, M. D.; DEFOLIART, G.; BENEVENGA, N. J. Use of a four-parameter logistic model to evaluate the quality of the protein from three insect species when fed to rats. **The Journal of Nutrition**, v. 119, p. 864–871, 1989.
- FINKE, M. D. Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. **Zoo Biology**, v. 21, p. 269–285, 2002.
- FINKE, M. D.; DEFOLIART, G. R.; BENEVENGA, N. J. Use of a four-parameter logistic model to evaluate the protein quality of mixtures of Mormon cricket meal and corn gluten meal in rats. **The Journal of Nutrition**, v. 117, p. 1740–1750, 1987.
- FINKE, M. D. Estimate of Chitin in Raw Whole Insects. **Zoo Biology**, v. 26, p. 105–115, 2007.
- FOSTE, M.; ELGETI, D.; BRUNNER, A. K.; JEKLE, M.; BECKER, T. Isolation of quinoa protein by milling fractionation and solvent extraction. **Food and Bioproducts Processing**, v. 96, p. 20–26, 2015.
- FURG – Universidade Federal do Rio Grande. Myriam de las Mercedes Salas Mellado, Andressa Jantzen da Silva Lucas, Carolina Lopes Cadaval, Lauren Menegon de Oliveira.

Farinha de insetos para enriquecimento alimentício. BR n. 102015028820-4 A2, 23 May 2017.

GERE, A.; ZEMEL, R.; RADVÁNYI, D.; MOSKOWITZ, H. Consumer Response to Insect Foods. In: SMITHERS, G. **Reference Module in Food Science**. Elsevier Ltd, p. 1–6, 2018.

GIER, S.; VERHOECKX, K. Insect (food) allergy and allergens. **Molecular Immunology**, v. 100, p. 82-106, 2018.

GILBY, A. R. Lipids and their metabolism in insects. **Annual Review of Entomology**, v. 10, p. 141-160, 1965.

GONIL, P.; SAJOMSANG, W. Applications of magnetic resonance spectroscopy to chitin from insect cuticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 51, p. 514-522, 2012.

GORDON, D. **The compleat cockroach**. Berkeley (CA): Ten Speed Press, 1996.

GOVINDARAJ, D.; SHARMA, S.; GAUR, S. N.; LAVASA, S.; PRASAD, N.; ARORA, N. Immunogenic peptides: B & T Cell Epitopes of Per a 10 Allergen of *Periplaneta americana*. **Molecular Immunology**, v. 80, p. 24–32, 2016.

HAHN, T.; ROTH, A.; JI, R.; SCHMITT, E.; ZIBEK, S. Chitosan production with larval exoskeletons derived from the insect protein production. **Journal of Biotechnology**, v. 310, p. 62-67, 2019

HALIM, N. R. A.; YUSOF, H. M.; SARBON, N. M. Functional and bioactive properties of fish protein hydrolysates and peptides: A comprehensive review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 51, p. 24–33, 2016.

HALL, F.; JOHNSON, P. E.; LICEAGA, A. Effect of enzymatic hydrolysis on bioactive properties and allergenicity of cricket (*Gryllodes sigillatus*) protein. **Food Chemistry**, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.058>.

HALL, F. G.; JONES, O. G.; O'HAIRE, M. E.; LICEAGA, O. M. Functional properties of tropical banded cricket (*Gryllodes sigillatus*) protein hydrolysates. **Food Chemistry**, v. 224, p. 414-422, 2017.

HALLORAN, A.; ROOS, N.; EILENBERG, J.; CERUTTI, A.; BRUUN, S. Life cycle assessment of edible insects for food protein: A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 36, p. 57, 2016.

HARTMANN, C.; SIEGRIST, M. Becoming an insectivore: Results of an experiment. **Food Quality and Preference**, v. 51, p. 118–122, 2016.

HUBER, I.; MASLER, E. P.; RAO, B. R. **Cockroaches as models for neurobiology: applications in biomedical research**. CRC Press, Boca Raton, Fla, USA, 1990.

JANSSEN, R. H.; VINCKEN, J. P.; VAN DEN BROEK, L. A. M.; FOGLIANO, V.; LAKEMON, C. M. M. Nitrogen-to-protein conversion factors for three edible insects: *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, and *Hermetia illucens*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, p. 2275–2278, 2017.

JONAS-LEVIA, A.; MARTINEZ, J.-J. I. The high level of protein content reported in insects for food and feed is overestimated. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 62, p. 184–188, 2017.

JONGEMA, Y. List of edible insects of the world. Wageningen, The Netherlands: Wageningen University. WUR: Holanda, 100 p., 2017. Disponível em: <https://www.wur.nl/en/Research-Results/Chair-groups/Plant-Sciences/Laboratory-of-Entomology/Edible-insects/Worldwide-species-list.htm> Acesso em: 12/06/2019.

KAMEMURA, N.; SUGIMOTO, M.; TAMEHIRO, N.; ADACHI, R.; TOMONARI, S.; WATANABE, T.; MITO, T. Cross-allergenicity of crustacean and the edible insect *Gryllus bimaculatus* in patients with shrimp allergy. **Molecular Immunology**, v. 106, p. 127–134, 2019.

KASAAI, M. R. Various methods for determination of the degree of n-acetylation of chitin and chitosan: a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 1667–1676, 2009.

KATIAL, R. K. Cockroach allergy. **Immunology and Allergy Clinics of North America**, v. 23, p. 483–499, 2003.

KAYA, M.; BARAN, T.; ERDOĞAN, S.; MENTES, A.; ÖZUSAĞLAM, M. A.; ÇAKMAK, Y. S. Physicochemical comparison of chitin and chitosan obtained from larvae and adult Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*). **Materials Science and Engineering C**, v. 45, p. 72–81, 2014.

KAYA, M.; ERDOĞAN, S.; MOL, A.; BARAN, T. Comparison of chitin structures isolated from seven Orthoptera species. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 797–805, 2015.

KAYA, M.; SOFI, K.; SARGIN, I.; MUJTABA, M. Changes in physicochemical properties of chitin at developmental stages (larvae, pupa and adult) of *Vespa crabro* (wasp). **Carbohydrate Polymers**, v. 145, p. 64–70, 2016.

KEMPER, T. G. Solvent Extraction. In: HAMM, W.; HAMILTON, R. J.; CALLIAUW, g. **Edible Oil Processing**. Oxford: John Wiley & Sons, 2013.

KETNAWA, S.; BENJAKUL, S.; MARTÍNEZ-ALVAREZ, O.; RAWDKUEN, S. skin gelatin hydrolysates produced by visceral peptidase and bovine trypsin: Bioactivity and stability. **Food Chemistry**, v. 215, p. 383–385, 2017.

KHALED, H. B.; KTARI, N.; GHORBEL-BELLAJ, O.; JRIDI, M., LASSOUED, I.; NASRI, M. Composition, functional properties and in vitro antioxidant activity of protein hydrolysates prepared from sardinelle (*Sardinella aurita*) muscle. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, p. 622–633, 2014.

KHOR, E.; WAN, A. C. A. Chitin: Fulfilling a Biomaterials Promise, 2nd ed.; Elsevier Ltd.: Waltham, MA, USA, 2013.

KIM, M. W.; SONG, Y. S.; HAN, Y. S.; JO, Y. H.; CHOI, M. H.; PARK, Y. K.; KANG, S.

- H.; KIM, S. A.; CHOI, C.; JUNG, W. J. Production of chitin and chitosan from the exoskeleton of adult two-spotted field crickets (*Gryllus bimaculatus*). **Entomological Research**, v. 47, p. 279–285, 2017.
- KINYURU, J. N.; KENJI, G. M.; SIMON, N.; MUHOHO, M. A. Nutritional potential of longhorn grasshopper (*Ruspolia differens*) consumed in Siaya district, Kenya. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 12, p. 32–46, 2010.
- KO, J. Y.; KANG, N.; LEE, J. H.; KIM, J. S.; KIM, W. S.; PARK, S. J.; JEON, Y. J. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from an enzymatic hydrolysate of flounder fish (*Paralichthys olivaceus*) muscle as a potent anti-hypertensive agent. **Process Biochemistry**, v. 5, p. 535–541, 2016.
- KRAMER, K.J., HOPKINS T.L., SCHAEFER J. Applications of solids NMR to the analysis of insect sclerotized structures. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v.25, p.1067–80, 1995.
- KRISHNAN, M.; BHARATHIRAJA, C.; PANDIARAJAN, J.; PRASANNA, V. A. Insect gut microbiome - An unexploited reserve for biotechnological application. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, p. 16-21, 2014.
- KROECKEL, S.; HARJES, A. G. E.; ROTH, I.; KATZ, H.; WUERTZ, S.; SUSENBETH, A.; SCHULZ, C. When a turbot catches a fly: evaluation of a pre-pupae meal of the black soldier fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute—Growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). **Aquaculture**, v. 364–365, p. 345–352, 2012.
- KUMARI, S.; ANNAMAREDDY, S. H. K.; ABANTI, S.; RATH, P. K. Physicochemical properties and characterization of chitosan synthesized from fish scales, crab and shrimp shells. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 1697–1705, 2017.
- LEE, C. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 1 th ed. Barueri: Manole, 2015.
- LI, N.; XIONG, X.; HA, X.; WEI, X. Comparative preservation effect of water-soluble and insoluble chitosan from *Tenebrio molitor* waste. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 133, p. 165-171, 2019.
- LI, Y.; XIANG, Q.; ZHANG, Q.; HUANG, Y.; SU, Z. Overview on the recent study of antimicrobial peptides: Origins, functions, relative mechanisms and application. **Peptides**, 37, 207–215, 2012.
- LONGVAH, T.; MANGTHYA, K.; RAMULU, P. Nutrient composition and protein quality evaluation of erisilkworm (*Samia ricinii*) prepupae and pupae. **Food Chemistry**, v.128, p. 400–403, 2011.
- LOPES, C.; ANTELO, L. T.; FRANCO-URÍA, A.; ALONSO, A. A.; PÉREZ-MARTÍN, R. Chitin production from crustacean biomass: Sustainability assessment of chemical and enzymatic processes. **Journal of Cleaner Production**, v. 172, p. 4140-4151, 2018.
- LUCAS, A. J. S.; DA ROCHA, M.; SAAD, C. D. M.; PRENTICE, C. Efeitos das diferentes condições de processo na avaliação da hidrólise enzimática de barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, p. 48885-48898, 2020a.

LUCAS, A. J. S.; OLIVEIRA, L. M.; DA ROCHA, M.; PRENTICE, C. Edible insects: an alternative of nutritional, functional and bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 311, p. 126022, 2020b.

LUCAS, A. J. S.; OLIVEIRA, L. M.; PRENTICE, C. Como os diferentes estágios do desenvolvimento interferem na composição proximal da barata cinérea (*Nauphoeta cinerea*). **Brazilian Journal of Development**, v. 5, p. 32510-32516, 2019.

LUCAS, A. J. S.; ORESTE, E. Q.; COSTA, H. L. G.; LÓPEZ, H. M.; SAAD, C. D. M.; PRENTICE, C. Extraction and physicochemical characterization of chitin and chitosan from mealworm's (*Tenebrio molitor*) cuticles. **Food Chemistry**, v. 343, p. 128550, 2021.

LUO, Q.; WANG, Y.; HAN, Q.; JI, L.; ZHANG, H.; FEI, Z.; WANG, Y. Comparison of the physicochemical, rheological, and morphologic properties of chitosan from four insects. **Carbohydrate Polymers**, v. 209, p. 266-275, 2019.

LUO, Y.; WANG, Q. Recent advances of chitosan and its derivatives for novel applications in food science. **Journal of Food Processing & Beverages**, v. 1, p. 1-13, 2013.

MANNI, L.; GHORBEL-BELLAAJ, O.; JELLOULI, K.; YOUNES, I.; NASRI, M. extraction and characterization of chitin, chitosan, and protein hydrolysates prepared from shrimp waste by treatment with crude protease from *Bacillus cereus* SV1. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 162, p. 345–357, 2009.

MAREI, N. H.; SAMIEE, E. A. E.; SALAH, T.; SAAD, G. R.; ELWAHY, A. H. M. Isolation and characterization of chitosan from different local insects in Egypt. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 82, v. 871-877, 2016.

MARIOD, A. A.; ABDELWAHAB, S. I.; GEDI, M. A.; SOLATI, Z. Supercritical carbon dioxide extraction of sorghum bug (*Agonoscelis pubescens*) oil using response surface methodology. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 87, p. 849–856, 2010.

MARTINS, V. G.; COSTA, J. A. V.; PRENTICE, C. Hidrolisado proteico de pescado obtido por vias química e enzimática a partir de corvina (*Micropogonias furnieri*). **Química Nova**, v. 32, p.61-66, 2009.

MAZUR, P. Freezing of living cells: Mechanisms and implications. **American Journal of Physiology**, v. 247, p. C125–C142, 1984.

MEGIDO, C. R.; GIERTS, C.; BLECKER, C.; BROSTAUX, Y.; HAUBRUGE, É.; ALABI, T.; FRANCIS, F. Consumer acceptance of insect-based alternative meat products in Western countries. **Food Quality and Preference**, v. 52, p. 237–243, 2016.

MELIS, R.; BRACA, A.; MULAS, G.; SANNA, R.; SPADA, S.; SERRA, G.; FADDA, M. L.; UZZAU, T. R. S.; ANEDDA, R. Effect of freezing and drying processes on the molecular traits of edible yellow mealworm. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 48, p. 138-149, 2018.

MELO, D. M.; ROSENO, T. F.; BARROS, W. M.; FARIA, R. A. P. G.; PAGLARINI, C. S.; FARIA, P. B.; MARIOTTO, S.; SOUZA, X. R. Fatty acid profiles and cholesterol content of

five species of pacu-pevas from the pantanal region of Mato Grosso, Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 83, p. 103283, 2019.

MENOZZI, D.; SOGARI, G.; VENEZIANI, M.; SIMONI, E.; MORA, C. Eating novel foods: An application of the Theory of Planned Behaviour to predict the consumption of an insect-based product. **Food Quality and Preference**, v. 59, p. 27–34, 2017.

MISHYNA, M.; ITZHAK, J.-J.; CHEN, J.; BENJAMIN, O. Extraction, characterization and functional properties of soluble proteins from edible grasshopper (*Schistocerca gregaria*) and honey bee (*Apis mellifera*). **Food Research International**, v. 116, p. 697-706, 2019.

MITSUHASHI, J. The future use of insects as human food. In: FOREST INSECTS AS FOOD: HUMANS BITE BACK. PROCEEDINGS OF A WORKSHOP ON ASIA-PACIFIC RESOURCES AND THEIR POTENTIAL FOR DEVELOPMENT. **Anais...** Bangkok: FAO, 2010. p. 115-122.

MONGEAU, J.-M.; SPONBERG, S. N.; MILLER, J. P.; FULL, R. J. Sensory processing within cockroach antenna enables rapid implementation of feedback control for high-speed running maneuvers. **Journal of Experimental Biology**, v. 218, p. 2344–2354, 2015.

MULEY, A. B.; CHAUDHARI, S. A.; MULCHANDANI, K. H.; SINGHAL, R. S. Extraction and characterization of chitosan from prawn shell waste and its conjugation with cutinase for enhanced thermo-stability. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 111, p. 1047-1058, 2018.

MÜLLER, A.; EVANS, J.; PAYNE, C. L. R.; ROBERTS, R. Entomophagy and Power. **Journal of Insects as Food and Feed**, v. 2, p. 121–136, 2016.

NAJAFIAN, L.; BABJI, A. S. A review of fish-derived antioxidant and antimicrobial peptides: Their production, assessment, and applications. **Peptides**, v. 33, p. 178–185, 2012.

NAKAMURA, M. T.; YUDELL, B. E.; LOOR, J. J. Regulation of energy metabolism by longchain fatty acids. **Progress in Lipid Research**, v. 53, p. 124-144, 2014.

NEVES, A. C.; HARNEDY, P. A.; O'KEEFFE, M. B.; ALASHI, M. A.; ALUKO, R. E.; FITZGERALD, R. J. Peptide identification in a salmon gelatin hydrolysate with antihypertensive, dipeptidyl peptidase IV inhibitory and antioxidant activities. **Food Research International**, v. 100, p. 112–120, 2017.

NO, L. H. K.; MEYERS, S. P. Application of chitosan for treatment of wastewaters. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 1, p. 1–27, 2000.

NONGONIERMA, A. B.; FITZGERALD, R. J. Unlocking the biological potential of proteins from edible insects through enzymatic hydrolysis: A review. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 43, p. 239-252, 2017.

NONGONIERMA, A. B.; LAMOUREUX, C.; FITZGERALD, R. J. Generation of dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory peptides during the enzymatic hydrolysis of tropical banded cricket (*Gryllodes sigillatus*) proteins. **Food & function**, v. 9, p. 407-416, 2018.

NOWAK, V.; PERSIJN, D.; RITTENSCHOBBER, D.; CHARRONDIERE, U. R. Review of food composition data for edible insects. **Food Chemistry**, v. 193, p. 39–46, 2016.

- ODOTE, P. M. O.; STRUSZCZYK, M. H.; PETER, M. G. Characterisation of chitosan from blowfly larvae and some crustacean species from kenyan marine waters prepared under different conditions. **Western Indian Ocean Journal of Marine Science**, v. 4, p. 99-107, 2005.
- OLIVEIRA, A. M.; FRANCO, T. T.; OLIVEIRA JR. E. N. Physicochemical characterization of thermally treated chitosans and chitosans obtained by alkaline deacetylation. *International Journal of Polymer Science*, 2014, 1-9, 2014.
- OLIVEIRA, L. M.; LUCAS, A. J. S.; CADAVAL, C. L. SALAS-MELLADO; M. M. Bread enriched with flour from cinereous cockroach (*Nauphoeta cinerea*). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 2017.
- OONINCX, D. G. A. B.; DE BOER, I. J. M. Environmental Impact of the Production of Mealworms as a Protein Source for Humans - A Life Cycle Assessment. **Plos One**, v. 7, p. 1–5, 2012.
- OONINCX, D. G. A. B.; VAN BROEKHOVEN, S. V.; VAN HUIS, A.; VAN LOON, J. J. A. Feed conversion, survival and development, and composition of four insect species on diets composed of food by-products. **Plos One**, v. 10, 2015.
- ORTIZ, J. A. C.; RUIZ, A. T.; MORALES-RAMOS, J. A.; THOMAS, M.; ROJAS, M. G.; TOMBERLIN, J. K.; YI, L.; HAN, R.; GIROUD, L.; JULLIEN, R. L. Insect Mass Production Technologies. In: **Insects as sustainable food ingredients**, 1. ed. New York: Elsevier, 2016. cap. 6.
- PACHECO-AGUILAR, R.; MAZORRA-MANZANO, M. A.; RAMÍREZ-SUÁREZ, J. C. Functional properties of fish protein hydrolysates from Pacific whiting (*Merluccius productus*) muscle produced by a commercial protease. **Food Chemistry**, v. 109, p. 782–789, 2008.
- PARK, B. K.; KIM, M. M. Applications of chitin and its derivatives in biological medicine. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, p. 5152–5164, 2010.
- PAYNE, C. L. R.; SCARBOROUGH, P.; RAYNER, M.; NONAKA, K. A systematic review of nutrient composition data available for twelve commercially available edible insects, and comparison with reference values. **Trends in Food Science & Technology**, v.47, p.69-77, 2016.
- PEDROSA, M.; BOYANO-MARTÍNEZ, T.; GARCÍA-ARA, C.; QUIRCE, S. Shellfish allergy: a comprehensive review. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, v. 49, p. 203-216, 2015.
- PENICHE, C.; ARGÜELLES-MONAL, W. Chitosan Based Polyelectrolyte Complexes. In: ARGÜELLES-MONAL, W. **Natural and Synthetic Polymers: Challenges and Perspectives**. Wiley-VCH: Weinheim, Germany, p. 103–116, 2001.
- PIRES, C. V.; OLIVEIRA, M. G. A.; ROSA, J. C.; COSTA, N. M. B. Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes proteicas. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 26, p. 179-187, 2006.

POMA, G.; CUYKX, M.; AMATO, E.; CALAPRICE, C.; FOCANT, J. F.; COVACI, A. Evaluation of hazardous chemicals in edible insects and insect-based food intended for human consumption. **Food and Chemical Toxicology**, v. 100, p. 70–79, 2017.

POMÉS, A.; MUELLER, G. A.; RANDALL, T. A.; CHAPMAN, M. D.; ARRUDA, L. K. New insights into cockroach allergens. **Current Allergy and Asthma Reports**, v. 17, p. 17–25, 2017.

POOTVLIET, P. M.; VAN DER PAS, L.; MULDER, B. C.; FOGLIANO, V. Healthy, but disgusting: an investigation into consumer's willingness to try insect meat. **Journal of Economic Entomology**, v. 112, p. 1005–1010, 2019.

POSHINA, D. N.; RAIK, S. V.; POSHIN, A. N.; SKORIK, Y. A. Accessibility of chitin and chitosan in enzymatic hydrolysis: A review. **Polymer Degradation and Stability**, v. 156, p. 269–278, 2018.

PRIYANTO, A. D.; DOERKSEN, R. J.; CHANG, C. I.; SUNG, W. C.; WIDJANARKO, S. B.; KUSNADI, J.; LIN, Y. C.; WANG, T. C.; HSU, J. L. Screening, discovery, and characterization of angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptides derived from proteolytic hydrolysate of bitter melon seed proteins. **Journal of Proteomics**, 128, 424–435, 2015.

PURSCHE, B.; STEGMANN, T.; SCHREINER, M.; JÄGER, H. Pilot-scale supercritical CO₂ extraction of edible insect oil from *Tenebrio molitor* L. larvae—Influence of extraction conditions on kinetics, defatting performance and compositional properties. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 118, 1600134, 2016.

RAHAL, A.; KUMAR, A.; SINGH, V.; YADAV, B.; TIWARI, R.; CHAKRABORTY, S.; DHAMA, K. Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 761264, 2014.

RAHNAMEAIEAN, M.; CYTRYŃSKA, M.; ZDYBICKA-BARABAS, A.; DOBSLAFF, K.; WIESNER, J.; TWYMAN, R. M.; ET AL. Insect antimicrobial peptides show potentiating functional interactions against Gram-negative bacteria. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 282 p. 2–10, 2015.

RAMOS-ELORDUY, J.; GONZALEZ, E. A. Use of *Tenebrio molitor* (Coleoptera : Tenebrionidae) to recycle organic wastes and as feed for broiler chickens. **Journal of Economic Entomology**, v. 95, p. 214–220, 2002.

RAVZANAADII, N.; KIM, S.-H.; CHOI, W.H.; HONG, S.-J.; KIM, N.J. Nutritional value of mealworm, *Tenebrio molitor* as food source. **International Journal of Industrial Entomology**, v.25, p.93–98, 2012.

RAWLINGS, N. D.; BARRETT, A. J.; BATEMAN, A. MEROPS: the peptidase database. **Nucleic Acids Research**, v. 38, p. D227–D233, 2010

ROSLAN, J.; MUSTAPA KAMAL, S. M.; KHAIRUL, K. F.; ABDULLAH, N. Assessment on multilayer ultrafiltration membrane for fractionation of tilapia by-product protein

hydrolysate with angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity. **Separation and Purification Technology**, v. 173, p. 250–257, 2017.

ROY, B. C.; SASAKI, M.; GOTO, M. Effect of temperature and pressure on the extraction yield of oil from sunflower seed with supercritical carbon dioxide. **Journal of Applied Sciences**, v. 6, p. 71–75, 2006.

RUDOLPH, S.; LUNOW, D.; KAISER, S.; HENLE, T. Identification and quantification of ACE inhibiting peptides in enzymatic hydrolysates of plant proteins. **Food Chemistry**, v. 224, p. 19–25, 2017.

RUMPOLD, B. A.; SCHLÜTER, O. K. Insect-based protein sources and their potential for human consumption: nutritional composition and processing. **Animal Frontiers**, v. 5, p. 20–24, 2015.

RUMPOLD, B. A.; SCHLÜTER, O. K. Nutritional composition and safety aspects of edible insects. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 57, p. 802–823, 2013.

RUMPOLD, B. A.; SCHLÜTER, O. K. Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 17, p. 1–11, 2012.

RUTTEN, M. T. J.; ACHTERBOSCH, I. J. M.; DEBOER, J. C.; CUARESMA, J. M.; GELEIJNSE, P.; HAVLÍK, T.; HECKELEI, J.; INGRAM, A.; LEIP, S.; MARETTE, H.; VAN MEIJL, L.G.; SOLER, J.; SWINNEN, P.; VAN'T VEER, J.; VERVOORT, A.; ZIMMERMANN, K. L.; ZIMMERMANN, M.; ZUREK, M. Models and foresight for European sustainable food and nutrition security: The vision of the SUSFANS project. **Agricultural Systems**, 2016.

SÁENZ-MENDOZA, A.; ZAMUDIO-FLORES, P.; PALOMINO-ARTALEJO, G.; TIRADO-GALLEGOS, J.; GARCÍA-CANO, V.; ORNELAS-PAZ, J.; RÍOS-VELASCO, C.; ACOSTA-MUÑIZ, C.; VARGAS-TORRES, A.; SALGADO-DELGADO, R.; APARICIO-SAGUILÁN, A. Physicochemical, morphological and structural characterization of the chitin and chitosan of tenebrio molitor and galleria mellonella insects. **Revista Mexicana De Ingeniería Química**, v. 18, p. 39-56, 2018.

SAMAR, M. .M; EL KALYOUBI, M. H.; KHALAF, M. M.; EL-RAZIK, M. M. A. Physicochemical, functional, antioxidante ans antibacterial properties of chitosan extracted from shrimp wastes by microwave technique. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 58, p. 33-41, 2013.

SÁNCHEZ-MUROS, M. J.; DE HARO, C.; SANZ, A.; TRENZADO, C. E.; VILLARECES, S., BARROSO, F. G. Nutritional evaluation of Tenebrio molitor meal as fishmeal substitute for tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet. **Aquaculture Nutrition**, v. 22, p. 943-955, 2015.

SANTOS, D. S., CARVALHO, E. L., DE LIMA, J. C.; BREDÁ, R. V.; OLIVEIRA, R. S.; FREITAS, T. C.; SALAMONI, S. D.; DOMINGUES, M. F.; PIOVESAN, A. R.; BOLDO, J. T.; ASSIS, D. R.; COSTA, J. C.; BELO, C. A. D.; PINTO, P. M. *Bothriurus bonariensis* scorpion venom activates voltage-dependent sodium channels in insect and mammalian nervous systems. **Chemico-Biological Interactions**, v. 258, p. 1-9, 2016.

SARMADI, B. H.; ISMAIL, A. Antioxidative peptides from food proteins: A review.

Peptides, v. 31, p. 1949–1956, 2010.

SCHLÜTER, O.; RUMPOLD, B.; HOLZHAUSER, T.; ROTH, A.; VOGEL, R. F.; QUASIGROCH, W.; VOGEL, S.; HEINZ, V.; JÄGER, H.; BANDICK, N.; KULLING, S.; KNORR, D.; STEINBERG, P.; ENGEL, K. H. Safety aspects of the production of foods and food ingredients from insects. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 61, p. 1600520, 2016.

SHADIDI, F.; ARACHCHI, J.; JEON, Y. Food applications of chitin and chitosans. **Trends in Food Science and Technology**, v. 10 2, p. 37–51, 2011.

SHARP, R.G. A review of the applications of chitin and its derivatives in agriculture to modify plant-microbial interactions and improve crop yields. **Agronomy**, v. 3, p. 757–793, 2013.

SHIN, C. S.; KIM, D. Y.; SHIN, W.S. Characterization of chitosan extracted from Mealworm Beetle (*Tenebrio molitor*, *Zophobas morio*) and Rhinoceros Beetle (*Allomyrina dichotoma*) and their antibacterial activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 125, p. 72-77, 2019.

SIGSGAARD, T.; THORNE, P. S; SCHLÜNSSEN, V.; BØNLØKKE, J.; RIDDERVOLD, I. S.; HOPPE, K. A.; ANDERSEN, N. T.; MACKENZIE, N. M. The change in nasal inflammatory markers after intranasal challenges with particulate chitin and lipopolysaccharide: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study with a positive control. **International Forum of Allergy & Rhinology**, v. 5, p. 716-723, 2015.

SILA, A.; ALVAREZ, O. M.; HADDAR, A.; FRIKHA, F.; DHULSTER, P.; NEDJAR-ARROUME, N.; BOUGATEF, A. Purification, identification and structural modelling of DPP-IV inhibiting peptides from barbel protein hydrolysate. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 1008, p. 260–269, 2016.

SIRIMUNGKARARAT, S.; SAKSIRIRAT, W.; NOPPARAT, T.; NATONGKHAM, A. Edible products from eri and mulberry silkworms in Thailand. FOREST INSECTS AS FOOD: HUMANS BITE BACK. PROCEEDINGS OF A WORKSHOP ON ASIA-PACIFIC RESOURCES AND THEIR POTENTIAL FOR DEVELOPMENT. **Anais...** Bangkok: FAO, 2010. p. 115-122.

ŠLIŽYTE, R.; DAUKŠAS, E.; FALCH, E.; STORRØ, I., RUSTAD, T. Yield and composition of different fractions obtained after enzymatic hydrolysis of cod (*Gadus morhua*) by-products. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 1415-1424, 2005.

SOON, C. Y.; TEE, Y. B.; TAN, C. H.; ROSNITA, A. T.; KHALINA, A. Extraction and physicochemical characterization of chitin and chitosan from *Zophobas morio* larvae in varying sodium hydroxide concentration. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 135–142, 2018.

SOUZA, N. L. G. D.; SALLES, T. F.; BRANDÃO, H. M.; EDWARDS, H. G. M.; DE OLIVEIRA, L. F. C. Synthesis, vibrational spectroscopic and thermal properties of oxocarbon cross-linked chitosan. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, p. 1247-1256, 2015.

SOSA, D. A. T.; FOGLIANO, V. Potencial of insect-derived ingredients for food applications. In: SCHIELDS, V. D. C. **Insect physiology and ecology**. InTech. 2017.

SPRINGMANN, M., CLARK, M., MASON-D'CROZ, D., WIEBE, K., BODIRSKY, B.L., LASSALETTO, L., DE VRIES, W., VERMEULEN, S.J., HERRERO, M., CARLSON, K.M., JONELL, M., TROELL, M., DECLERCK, F., GORDON, L.J., ZURAYK, R., SCARBOROUGH, P., RAYNER, M., LOKEN, B., FANZO, J., GODFRAY, H.C.J., TILMAN, D., ROCKSTRÖM, J. AND WILLETT, W. Options for keeping the food system within environmental limits. **Nature**, v. 562, p. 519-525, 2018.

SRINIVASAN, H.; VELAYUTHAM, K.; RAVICHANDRAN, R. Chitin and chitosan preparation from shrimp shells *Penaeus monodon* and its human ovarian cancer cell line, PA-1. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 662-667, 2017.

STAHL, E.; SCHUETZ, E.; MANGOLD, H. K. Extraction of seed oils with liquid and supercritical carbon dioxide. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 28, p. 1153–1157, 1980.

STAMER, A. Insect proteins-a new source for animal feed: The use of insect larvae to recycle food waste in high-quality protein for livestock and aquaculture feeds is held back largely owing to regulatory hurdles. **EMBO Reports**, v. 16, p. 676–80, 2015.

SUN-WATERHOUSE, D.; WATERHOUSE, G. I. N.; YOU, L.; ZHANG, J.; LIU, Y.; MA, L. Transforming insect biomass into consumer wellness foods: A review. **Food Research International**, v. 89, p. 129–151, 2016.

TAN, H. S. G.; FISCHER, A. R. H.; VAN TRIJP, H. C. M.; STIEGER, M. Tasty but nasty? Exploring the role of sensory-liking and food appropriateness in the willingness to eat unusual novel foods like insects. **Food Quality and Preference**, v. 48, p. 293–302, 2016.

TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N. F. **Borror and DeLong's Introduction of the Study of Insects**. 7th ed. Belmont: Thomson Brooks, 2005.

TZOMPA-SOSA, D. A.; YI, L. Y.; VAN VALENBERG, H. J. F.; VAN BOEKEL, M. A. J. S.; LAKEMOND, C. M. M. Insect lipid profile: Aqueous versus organic solvent- based extraction methods. **Food Research International**, v. 62, p. 1087–1094, 2014.

UDENIGWE, C. C.; MOHAN, A. Mechanisms of food protein-derived antihypertensive peptides other than ACE inhibition. **Journal of Functional Foods**, v. 8, p. 45–52, 2014.

USHAKOVA, N. A.; BRODSKII, E. S.; KOVALENKO, A. A.; BASTRAKOV, A. I.; KOZLOVA, A.; PAVLOV, D. Characteristics of lipid fractions of larvae of the Black soldier fly *Hermetia illucens*. **Doklady Biochemistry and Biophysics**, v. 468, p. 209-212, 2016.

VANDEWEYER, D.; LENAERTS, S.; CALLENS, A.; VAN CAMPENHOUT, L. Effect of blanching followed by refrigerated storage or industrial microwave drying on the microbial load of yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*). **Food Control**, v.71, p.311–314, 2017.

VAN DYKEN, S. J.; LOCKSLEY, R. M. Chitins and chitinase activity in airway diseases. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 142, n. 2, p. 364-369, 2018.

VAN HUIS, A., Edible insects are the future? **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 75, p. 294–305, 2016.

VAN HUIS, A. Insects as food and feed, a new emerging agricultural sector: a review. **Journal of Insects as Food and Feed**, v. 6, p. 27–44, 2020.

VAN HUIS, A.; VAN ITTERBEECK, J.; KLUNDER, H.; MERTENS, E.; HALLORAN, A.; MUIR, G.; VANTOMME, P. Edible Insects. Future Prospects for Food and Feed Security. FAO: Rome, 201 p., 2013. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/018/i3253e/i3253e00.htm> Acesso em: 18/04/2018.

VELDKAMP, T.; VAN DUINKERKEN, G.; VAN HUIS, A.; LAKEMON, C. M. M.; OTEVANGER, E.; BOSCH, G.; VAN BOEKEL, M. A. J. S. **Insects as a sustainable feed ingredient in pig and poultry diets – a feasibility study**. 1th ed. Wageningen: Wageningen UR Livestock Research, 2012. 49 p.

VERCRUYSSSE, L., SMAGGHE, G., HERREGODS, G., VAN CAMP, J. ACE inhibitory activity in enzymatic hydrolysates of insect protein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 5207–5211, 2005.

VERCRUYSSSE, L.; SMAGGHE, G.; BECKERS, T.; CAMP, J. V. Antioxidative and ACE inhibitory activities in enzymatic hydrolysates of the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis*. **Food chemistry**, v. 114, p. 38–43, 2009.

VERHOECKX, K. C.; VAN BROEKHOVEN, S.; DEN HARTOG-JAGER, C. F.; GASPARI, M.; DE JONG, G. A.; WICHERS, H. J.; VAN HOFFEN, E.; HOUBEN, G. F.; KNULST, A. C. House dust mite (Der p 10) and crustacean allergic patients may react to food containing *Yellow mealworm* proteins. **Food and Chemical Toxicology**, v. 65, p. 364–373, 2014.

VO, T.-S.; NG, D.-H.; KIM, S.-K. Cosmeceutical compounds from marine sources. In Kirk-Othmer Chemical Technology of Cosmetics; Seidel, A., Bickford, M., Eds.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2013; pp. 483–499.

WANG, D.; BAI, Y.; LI, J.; ZHANG, C. Nutritional value of the field cricket (*Gryllus testaceus* Walker). **Insect Science**, v. 11, p. 275–283, 2004.

WANG, X. J.; ZHENG, X. Q.; KOPPARAPU, N. K.; CONG, W. S.; DENG, Y. P.; SUN, X. J.; LIU, X. L. Purification and evaluation of a novel antioxidant peptide from corn protein hydrolysate. **Process Biochemistry**, v. 49, p. 1562–1569, 2014.

WILLIAMS, J. P.; WILLIAMS, J. R.; KIRABO, A.; CHESTER, D.; PETERSON, M. Nutrient Content and Health Benefits of Insects. In: **Insects as sustainable food ingredients**, 1. ed. New York: Elsevier, 2016. cap. 3.

XIAOMING, C.; YING, F.; HONG, Z.; ZHIYONG, C. Review of the nutritive value of edible insects. In: FOREST INSECTS AS FOOD: HUMANS BITE BACK, PROCEEDINGS OF A WORKSHOP ON ASIA-PACIFIC RESOURCES AND THEIR POTENTIAL FOR DEVELOPMENT. **Anais...** Bangkok: FAO, 2010. p. 85–92.

YAN, Y. M.; XIANG, B.; ZHU, H. J.; QI, J. J.; HOU, B.; GENG, F. N.; CHENG, Y. X. N-containing compounds from *Periplaneta americana* and their activities against wound healing. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 6020, p. 1–10, 2018.

YANG, R.; ZHAO, X.; KUANG, Z.; YE, M.; LUO, G.; XIAO, G.; XIONG, Z. Optimization of antioxidant peptide production in the hydrolysis of silkworm (*Bombyx mori* L.) pupa protein using response surface methodology. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 11, p. 952956, 2013.

YI, L. Y.; LAKEMON, C. M. M.; SAGIS, L. M. C.; EISNER-SCHADLER, V.; VAN HUIS, A.; VAN BOEKEL, M. A. J. S. Extration and characterisation of protein fractions from five insect species. **Food Chemistry**, v. 141, p. 3341–3348, 2013.

YI, L.; VAN BOEKEL, M. A. J. S.; BOEREN, S.; LAKEMON, C. M. M. Protein identification and *in vitro* digestion of fractions from *Tenebrio molitor*. **European Food Research and Technology**, v. 242, p. 1285–1287, 2016.

YNSECT. Nathalie Berezina, Antoine Humbert, Fabrice Berro, Jean-Gabriel Levon, Karine Le Roux, Cecilia Socolsky, Lorena Sanchez, Sophie Laurent. Chitin, hydrolysate and method for the production of one or more desired products from insects by means of enzymatic hydrolysis. US n. 2018/0016357 A1, 18 jan. 2018.

YONG, C.; BOND, Y.; HUI, C.; TALIB, A. Extraction and physicochemical characterization of chitin and chitosan from *Zophobas morio* larvae in varying sodium hydroxide concentration. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 135–142, 2018.

YOO, J. S.; CHO, K. H.; HONG, J. S.; JANG, H. S.; CHUNG, Y. H.; KWON, G. T.; SHIN, D. G.; KIM, Y. Y. Nutrient ileal digestibility evaluation of dried mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae compared to three animal protein by-products in growing pigs. Asian-Australas. **Journal Animal Science**, v. 32, p. 387–394, 2019.

YOUNES, I.; GHORBEL-BELLAAJ, O.; NASRI, R.; CHAABOUNI, M.; RINAUDO, M.; NASRI, M. Chitin and chitosan preparation from shrimp shells using optimized enzymatic deproteinization. **Process Biochemistry**, v. 47, p. 2032–2039, 2012.

YUST, M. D. M.; PEDROCHE, J.; DEL CARMEN MILLÁN-LINARES, M.; ALCAIDE-HIDALGO, J. M.; MILLÁN, F. Improvement of functional properties of chickpea proteins by hydrolysis with immobilised Alcalase. **Food Chemistry**, v. 122, p. 1212–1217, 2010.

YVES, B. **Beetles associated with stored products in Canada: an identification guide**. Canadian Government Pub Centre, 1990.

ZAMBROWICZ, A.; POKORA, M.; SETNER, B.; DĄBROWSKA, A.; SZOŁTYSIK, M.; BABIŃ, K.; CHRZANOWSKA, J. Multifunctional peptides derived from an egg yolk protein hydrolysate: Isolation and characterization. **Amino Acids**, v. 47, p. 369–380, 2015.

ZAMORA-SILLERO, J.; TAVARES KÜTTER, M.; BORGES TESSER, M.; MONSERRAT, J. M.; PRENTICE, C. Effect of dietary common carp by-product protein hydrolysates on antioxidant status in different organs of zebrafish (*Danio rerio*). **Aquaculture Nutrition**, 2018. Doi: 10.1111/anu.12835

ZAVAREZE, E. D. R.; SILVA, C. M.; SALAS-MELLADO, M.; Prentice-Hernández, C. Funcionalidade de hidrolisados proteicos de cabrinha (*Prionotus punctatus*) obtidos a partir de diferentes proteases microbianas. **Química Nova**, v.32, p.1739-1743, 2009.

ZHANG, T.; WANG, T.; LIU, R.; CHANG, M.; JIN, Q.; WANG, X. Chemical characterization of fourteen kinds of novel edible oils: A comparative study using chemometrics. **LWT**, v. 118, p. 108725, 2020.

ZHAO, Q.; SELOMULYA, C.; XIONG, H.; CHEN, X. D.; RUAN, X.; WANG, S.; ZHOU, Q. Comparison of functional and structural properties of native and industrial process-modified proteins from long-grain indica rice. **Journal of Cereal Science**, v. 56, p. 568–575, 2012.

ZHAO, X., VAZQUEZ-GUTIERREZ, J. L., JOHANSSON, D. P., LANDBERG, R., & LANGTON, M. Yellow mealworm protein for food purposes - extraction and functional properties. **PLoS ONE**, v. 11, e0147791, 2016.

ZIELIŃSKA, E.; BARANIAK, B.; KARAS', M.; RYBCZYŃSKA, K.; JAKUBCZYK, A. Select species of edible insects as a source of nutrient composition. **Food Research International**, v. 77, p. 460-466, 2015.

ZIELIŃSKA, E.; KARAS', M.; BARANIAK, B. Comparison of functional properties of edible insects and protein preparations thereof. **LWT - Food Science and Technology**, v. 91, p. 168-174, 2018.

ZIELIŃSKA, E.; KARAS', M.; JAKUBCZYK, A. Antioxidant activity of predigested protein obtained from a range of farmed edible insects. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 52, p. 306-312, 2017.

ZITNAN, D.; ADAMS, M. E. neuroendocrine regulation of ecdysis. **Insect Endocrinology**, p. 253–309, 2012.