

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Composição centesimal da farinha de grilo preto (*Gryllus assimilis*) e extração e caracterização de proteínas para a alimentação humana

Artur Slompo Muniz Bicalho

Monografia apresentada à
Coordenação do Curso de
Biotecnologia, da Universidade
Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Bacharel em
Biotecnologia.

Uberlândia - MG
Setembro 2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Composição centesimal da farinha de grilo preto (*Gryllus assimilis*) e extração e caracterização de proteínas para a alimentação humana

Artur Slompo Muniz Bicalho

Dra. Flávia Souza Almeida

Dra. Cínthia Rodarte Pereira Alane

Monografia apresentada à
Coordenação do Curso de
Biotecnologia, da Universidade
Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Bacharel em
Biotecnologia.

Uberlândia MG

Setembro 2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Composição centesimal da farinha de grilo preto (*Gryllus assimilis*) e extração e caracterização de proteínas para a alimentação humana

Artur Slompo Muniz Bicalho

Dra. Flávia Souza Almeida
Faculdade de Medicina

Dra. Cíntia Rodarte Pereira Alane
Faculdade de Medicina

Homologado pela coordenação do
Curso de Biotecnologia em __/__/

Nilson Nicolau Júnior

Uberlândia - MG
Setembro 2022

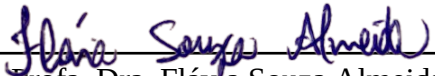
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Composição centesimal da farinha de grilo preto (*Gryllus assimilis*) e extração e caracterização de proteínas para a alimentação humana

Artur Slompo Muniz Bicalho

Aprovado pela Banca Examinadora em: 28/09/2022

Nota: 95


Profa. Dra. Flávia Souza Almeida

Uberlândia, 28 de Setembro de 2022

DEDICATÓRIA

Dedico este Trabalho de Conclusão de Curso a todos aqueles que me apoiaram e me incetivaram.

Aos meus pais que deram toda o suporte, apoio, estrutura e amor para que eu pudesse chegar até aqui.

Aos meus amigos que me acompanharam por toda a minha caminhada durante o curso, e até mesmo antes dele.

Ao meu irmão que sempre se interessou por cada assunto que eu trazia para dentro de casa.

A minha família que sempre me incentivou a mostrar mais do meu curso.À todas as pessoas que um dia me deram uma palavra de apoio, carinho e leveza.

A mim mesmo, que mesmo nos momentos mais difíceis, perseverei e mantive minha força, seguindo persistente até o final, acreditando na minha capacidade, apesar das dificuldades.

A todo o corpo docente que me apoiou, me incentivou e colaborou para a realização de todo o projeto, mesmo que direta ou indiretamente.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à empresa Hakkuna, doadora da farinha de *Gryllus assimilis*, por permitir a realização deste trabalho de conclusão de curso.

Agradeço aos laboratórios: Laboratório de Bromatologia, Laboratório de Nanobiotecnologia, Núcleo de Processos Biotecnológicos, Laboratório de Citogenética, Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular, por terem permitido a realização prática da parte experimental de forma eficaz, colaborando para que pudesse ocorrer a realização e finalização deste trabalho.

Agradeço também à docente Flávia Souza Almeida, minha orientadora, que colaborou e participou ativamente em todas as etapas deste projeto, e a técnica Danielle Oliveira Borges, que cooperou com toda a parte experimental deste projeto de forma ativa.

Agradeço, por fim, ao Instituto de Biotecnologia por ter proporcionado minha formação acadêmica de forma única e eficiente.

RESUMO

Insetos comestíveis são fontes sustentáveis de nutrientes para a alimentação humana. Este estudo buscou caracterizar a composição centesimal de farinha de *Gryllus assimilis* (GA), além de extrair as proteínas por extração alcalina e extração alcalina assistida por banho ultrassônico (US), a fim de avaliar a influência do ultrassom no rendimento e funcionalidade das proteínas obtidas. A farinha de GA apresentou elevado valor nutricional, contendo 52,97% de proteínas, 38,41% de lipídios, 5,5% de carboidratos totais, 3,1% de cinzas em base seca e 5,46% de umidade. Embora o US tenha aumentado o rendimento de extração proteico (EPUS, 13,83%) se comparado à extração alcalina (EPALC, 10%), esta última demonstrou melhores resultados para pureza (31,43% vs. 40,43% para EPUS e EPALC, respectivamente). Baixas propriedades funcionais foram observadas para ambos os extratos ao serem avaliados no pH 5, não havendo diferenças significativas na solubilidade (2,1% para EPUS e 1,78% para EPALC), capacidade espumante (6,67% para EPUS e 6,39% para EPALC) e formação de gel (sem formação), indicando a necessidade da condução de mais estudos. Pela primeira vez na literatura foi reportado a extração proteica assistida por ultrassom para proteína de *Gryllus assimilis*.

Palavras-chave: *Gryllus assimilis*; Inseto comestível; Extração proteica; Propriedade funcional; Indústria de alimentos.

ABSTRACT

Edible insects are sustainable nutrient sources for humans. The present study sought to characterize the centesimal composition of *Gryllus assimilis* (GA) flour, in addition to extracting the proteins by alkaline extraction and ultrasound-assisted alkaline extraction (US) in order to evaluate the ultrasound influence on protein yield and functional properties of the protein extract. GA flour presented high nutritional value containing 52.97% of proteins, 38.41% of lipids, 5.5% of total carbohydrates, 3.1% of ashes in dry matter and 5.46% of moisture. Although US improved protein extraction yield (EPUS, 13.83%) comparing to alkaline extraction (EPALC, 10%), the latter presented better results when it comes to purity (31.43% vs. 40.43% for EPUS and EPALC, respectively). Poor functional properties were observed for both extracts at pH 5, demonstrating no significant differences in solubility (2.1% for EPUS and 1.78% for EPALC), foaming capacity (6.67% for EPUS and 6.39% for EPALC) and gel formation (no formation), indicating the need to perform more studies. For the first time in the literature, the ultrasound-assisted extraction of *Gryllus assimilis* was reported.

Keywords: *Gryllus assimilis*; Edible insect; Protein extraction; Functional property; Food industry.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Número de espécies de insetos comestíveis ao redor do mundo.....	13
Tabela 2	Impactos ambientais da criação de insetos comparados a de outros animais.....	15
Tabela 3	Composição centesimal da Farinha de GA (%).....	28

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Farinha de grilo.....	21
Figura 2 Farinha de GA sendo desengordurada com álcool etílico 99,5% por agitação mecânica.....	25
Figura 3 Conteúdo proteico (g/100g) encontrado no concentrado proteico obtido por ultrassom (EPUS) e extração alcalina (EPALC).....	32
Figura 4 Solubilidade proteica (%) de concentrados proteicos obtidos por ultrassom (EPUS) e extração alcalina (EPALC).....	33
Figura 5 A) Capacidade de formação de espuma para EPUS e B) EPALC.....	35
Figura 6 Comparação da capacidade de Formação de Espuma (%) do concentrado proteico obtido por ultrassom (EPUS) e extração alcalina (EPALC).....	35
Figura 7 Estabilidade de Espuma ao longo de 30 minutos	36
Figura 8 Formação de gel da EPUS (tubo esquerdo) e da EPALC (tubo direito).....	38

LISTA DE ABREVIATURAS

m^2 :	Metro quadrado
μHg :	Micrômetro de mercúrico
AOAC:	Association of Official Analytical Chemists
atm:	Atmosfera
CT:	Carboidratos totais
EA:	Extração alcalina
EE:	Estabilidade de Espuma
EPALC:	Extração proteica alcalina
EPUS:	Extração proteica com ultrassom
FAO:	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
FC:	Fator de conversão de proteínas
FDA:	Food and Drug Administration
FE:	Formação de Espuma
g:	Grama
GA:	<i>Gryllus assimilis</i>
GEE:	Gases de efeito estufa
H:	Hora
Hz:	Hertz
IFAD:	Fundo Internacional de Desenvolvimento Agrícola
Kg:	Quilo
L:	Litro
m:	Massa
mg:	Miligrama
min:	Minuto

MJ:	Megajoule
mL:	Mililitro
N:	Normalidade
OMS:	Organização Mundial da Saúde
ONU:	Organização das Nações Unidas
P:	Peso de amostra
pH:	Potencial hidrogeniônico
pI:	Ponto isoelétrico
TBCA:	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
UNICEF:	Fundo das Nações Unidas para a Infância
US:	Ultrassom
V:	Volume
W:	Watts
WFP:	Programa Alimentar Mundial

SUMÁRIO

1. Introdução	12
2. Justificativa.....	19
3. Objetivo.....	20
4. Material e métodos.....	21
4.1. Material	21
4.2. Métodos	21
4.2.1. Avaliação da composição centesimal.....	21
4.2.2. Extração de proteínas	24
4.2.3. Caracterização das propriedades funcionais das proteínas	26
4.3. Análise Estatística.....	27
5. Resultados e Discussão	27
5.1. Composição Centesimal	27
5.2. Extração Proteica	30
5.2.2. Extração de proteínas e liofilização	31
5.3. Propriedades Funcionais	33
5.3.1. Solubilidade.....	33
5.3.2. Propriedades Espumantes.....	34
5.3.3. Formação de Gel	37
6. Conclusão.....	38
7. Perspectivas Futuras.....	39
8. Referências Bibliográficas.....	40
APÊNDICE A	48

1. Introdução

Estudos realizados pela Organização das Nações Unidas (ONU) preveem que o planeta Terra ultrapassará 9,5 bilhões de habitantes até 2050 (SADIGOV, 2022). Um dos principais objetivos de diversos países e instituições como a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), o Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF), o Fundo Internacional de Desenvolvimento Agrícola (IFAD), o Programa Alimentar Mundial (WFP) e a Organização Mundial da Saúde (OMS), é o combate à fome. Em 2019, foram reportadas cerca de 690 milhões de pessoas em situação de fome crônica e subnutrição ao redor do mundo (UNICEF, 2020). Esse número tende a aumentar, pois os recursos naturais estão cada vez mais escassos e mais caros. Dessa forma, fontes alternativas de nutrientes se tornam necessárias como, por exemplo, a ingestão de insetos comestíveis.

A antroponentomofagia, ato de se alimentar de insetos, é uma prática milenar (COSTA-NETO, 2016). Hominídeos primitivos tinham os insetos como a principal fonte de nutrientes. No entanto, com a evolução e sofisticação das práticas de plantio e domesticação de animais, a utilização desses insetos na alimentação foi marginalizada, principalmente nos países ocidentais modernos (VAN HUIS, 2017). De acordo com Costa-Neto (2016), a antroponentomofagia passou a ser vista como um hábito primitivo e culturalmente restrito.

Estima-se que mais de 2000 espécies de insetos sejam propícias para o consumo humano e que cerca de 3000 grupos étnicos realizem consumos dessas espécies ao redor do mundo, em mais de 100 países (FAO et al, 2013). Os principais grupos utilizados na alimentação estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1: Número de espécies de insetos comestíveis ao redor do mundo

Grupos de Insetos	Ordem	Número de espécies	Número de espécies comestíveis documentadas
Besouros	Coleópteros	370.000	659
Lagartas	Lepidópteros	165.000	362
Abelhas, vespas e formigas	Himenópteros	198.000	321
Gafanhotos e grilos	Ortópteros	20.000	278
Insetos verdadeiros	Hemípteros	82.000	237
Libélula	Odonatas	5500	61
Cupins	Isópteros	2750	59
Moscas	Dípteros	122.000	37
Baratas	Blattodea	4000	37
Aranhas	Araneae	40.000	15

Fonte: Adaptado de Orkusz (2021)

Países como China, Tailândia, México e Zimbábue são conhecidos por se alimentarem de insetos rotineiramente (BAIANO, 2020; VAN HUIS, 2018), sendo encontrados nas formas mais variadas, como por exemplo: *street foods* [comida de rua], entradas e acompanhamentos em restaurantes, além de petiscos. Para esses países, insetos são uma fonte de alimento importante, não apenas do ponto de vista nutricional, mas também quanto aos aspectos socioculturais, econômicos e até mesmo religiosos (COSTA-NETO, 2016). Além disso, nos últimos anos na Europa, a França e a Alemanha têm se destacado pela produção de insetos comestíveis, legislações favoráveis ao consumo e criação em escala industrial (AHUJA, 2020). De acordo com a companhia de consultoria Global Market Insights (2018) há previsão de crescimento desse setor nesses países em 43%, até 2024 (AHUJA, 2020). Como exemplo, a *start-up* alemã *Bugfoundation* vem recebendo investimentos para a produção de hambúrgueres de larvas (DA SILVA, 2019). Na França, que é uma culinária de referência mundial, tem-se utilizado insetos comestíveis em acompanhamentos e aperitivos (DA SILVA, 2019).

Em contrapartida, em países ocidentais, como Estados Unidos e Brasil, a antropointomofagia se torna marginalizada (SCHARDONG, 2019), com a evolução de processos industriais, influência religiosa, aspectos climáticos e geográficos (GOVORUSHKO,

2019). Esses fatores fizeram com que os insetos passassem a ser vistos como impurezas, vetores de doenças, nojentos e, conseqüentemente, rejeitados pela maior parte da população (COSTA-NETO, 2016). Entretanto, é percebido que, culturalmente, existem regiões no Brasil, por exemplo, que realizam o consumo de insetos na alimentação, como é o caso da farofa de içá – gênero *Atta*, consumida no norte de Minas Gerais; o consumo do bicho do tucumã, larva do *Speciomerus ruficornis*, frito ou *in natura*, por tribos indígenas na Ilha dos Marajós – PA. No Parque Nacional do Xingu, insetos como cigarras, gafanhotos, içás e cupins são ingeridos com torradas ou beijos. Também, existem registros de consumo de insetos no Nordeste e no Vale do Paraíba, em São Paulo (TUNES, 2020).

De acordo com Van Huis (2018), o consumo de insetos é menos limitado nos países tropicais pelos seguintes motivos: (i) disponibilidade durante o ano todo, uma vez que, em países de zonas temperadas, os insetos passam por um processo chamado de quiescência durante o inverno; (ii) insetos de regiões tropicais normalmente são achados em grande quantidade, em um mesmo local, facilitando a colheita; (iii) a população das zonas tropicais está em maior contato com a natureza, uma vez que o clima permite maior exposição ao ar livre, mesmo que a urbanização tenha diminuído esse contato; e (iv) países ocidentais não valorizam os insetos, caracterizando-os como nojentos e sujos.

O movimento de preservação ambiental tem se tornado fundamental para a manutenção de áreas de *hotspot* [denominação de áreas de grande riqueza natural] de biodiversidade da fauna e flora, diminuição da emissão dos gases estufa, desaceleração do aquecimento dos oceanos e conservação de lençóis freáticos (HE; SHEN; ZHANG, 2018). Entretanto, o desenvolvimento e expansão de atividades agropecuárias tem sido cada vez mais crescente, como é o caso do Brasil, contrapondo-se a todos os benefícios da preservação do meio ambiente (SILVA; RUVIARO, 2017). A produção intensiva de gado nas regiões Norte, Centro-Oeste e Sudeste, tem contribuído de forma significativa para o desmatamento de espécies da flora

endêmica, essenciais para o equilíbrio e manutenção do solo e fauna dependentes (GIARETTA, 2019). Ainda, doenças antes não documentadas nas áreas urbanas passaram a ser mais frequentes, causando endemias e epidemias, como é o caso da dengue e febre amarela, devido ao aumento das áreas produtivas da agropecuária e urbanização (CAMPOS et al., 2018). A retirada da mata virgem, local de origem desses vetores, é responsável por pressionar o sistema ecológico, forçando a migração desses insetos para as cidades (KALBUS et al., 2021).

Além da problematização sanitária que se dá com o aumento da pecuária intensiva em longo prazo, tem-se o uso de energia, água e terra em grandes quantidades para a obtenção de uma boa quantidade de proteína comestível (GOVORUSHKO, 2019; ORKUSZ, 2021). Neste contexto, a produção de insetos aparece como alternativa sustentável, considerando a reduzida demanda por área de criação, baixas emissões de dióxido de carbono (CO₂) e consumo de água (GOVORUSHKO, 2019). A Tabela 2 ilustra os impactos ambientais produzidos pela criação de insetos e demais fontes animais.

Tabela 2: Impactos ambientais da criação de insetos comparados a de outros animais

Fonte de proteína	Gases de efeito estufa (GEE) liberados (g) para ganho de 1 kg de massa corpórea	Energia utilizada (MJ) para a produção de 1 kg de proteína	Área utilizada (m²) para a produção de 1 kg de proteína	Água utilizada (L) para a produção de 1 kg de proteína	Ração necessária (kg) para produção de 1 kg de massa corpórea
Insetos	1	± 170	18	23.000	1,7
Aves	300	± 150	45	34.000	2,5
Bovinos	2.850	± 270	198	112.000	10
Suínos	1.300	± 240	46	57.000	5

Fonte: Adaptado de VAN HUIS, (2019, 2013) e TUNES (2020).

Apesar do preconceito associado nas culturas ocidentais, grande parte das espécies de insetos comestíveis possuem um bom valor nutricional. Em sua constituição, há todos os aminoácidos essenciais, uma porcentagem satisfatória de vitaminas (vitaminas A, E, complexo B e C), além de ácidos graxos e minerais, principalmente o ferro, que varia entre as espécies (ORKUSZ, 2021). Insetos possuem também fibra alimentar (quitina), essencial no auxílio da digestão correta de proteínas, colesterol e gorduras, auxiliando na manutenção e prevenção de doenças cardiovasculares e *Diabetes mellitus* tipo 2 (YEGIN et al., 2020).

Além disso, foi documentada a presença de ômega-3 e ômega-6 em algumas espécies de insetos, como é o caso da larva das espécies *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio*, e do inseto adulto da espécie *Gryllus assimilis* (BISCONSIN-JUNIOR, 2018), compostos esses que ajudam na redução de doenças cardiovasculares, diminuição da inflamação crônica e do desencadeamento de doenças crônicas não transmissíveis (câncer, diabetes, síndrome metabólica), quando ingeridos em proporções corretas (BENJAMIM et al, 2019). Desta forma, tem sido comprovado que em algumas comunidades pobres, a inserção de insetos na alimentação colaborou para a resolução de casos de má nutrição de crianças e adultos (GOVORUSHKO, 2019).

Mesmo sendo perceptível o grande valor nutricional que os insetos têm e a diferença de gastos de produção – energia, terreno e água, em comparação aos outros tipos de fontes proteicas (ORKUSZ, 2021), tem-se que o mercado brasileiro de produção de insetos é muito pequeno se comparado aos grandes produtores mundiais, como a Tailândia e México. Embora o Brasil apresente cerca de 135 espécies comestíveis (FAO et al., 2013), o país conta apenas com pequenos produtores e *start-ups* para o fornecimento de insetos (DA SILVA, 2019; TUNES, 2020). Tal sub-exploração do potencial de comercialização dos insetos no Brasil fica ainda mais evidente quando comparado com o relatório realizado pela empresa de pesquisa de mercado Meticulous Research, em 2018, que estima um mercado global de insetos

movimentando cerca de 1,54 bilhões de dólares em 2023 (DA SILVA, 2019).

Apesar do grande potencial de exploração, a percepção da população brasileira em relação aos insetos é extremamente regional, sendo que os termos “nojento”, “rejeição”, “Ásia” e “estranho” foram os mais utilizados para caracterizar a antroponomofagia nas regiões Sudeste e Sul do país (BISCONSIN-JÚNIOR, 2020). Os termos “cultural”, “sobrevivência” e “sustentabilidade”, foram utilizados por grupos de regiões que possuem forte influência indígena, como no Norte, Centro-Oeste e Nordeste do país. Nota-se, então, que a implementação do hábito de alimentar-se de insetos é ainda colocado como extremamente regional, com fortes influências de costumes europeus e senso comum (BISCONSIN-JÚNIOR, 2020).

Embora o uso de insetos comestíveis na alta gastronomia esteja em ascensão, (TAGUCHI, 2021), sendo amparado pela legislação, como descrito na RDC nº 49, de 31 de outubro de 2013 (artigos 1º, 5º p.5, 12º) (BRASIL, 2013) e explorado detalhadamente no Apêndice A, ainda é um costume extremamente marginalizado e desvalorizado por boa parte da população brasileira (BISCONSIN-JÚNIOR, 2020). Dessa forma, a introdução desse alimento deve ser gradativa, pois se torna uma alternativa viável e recomendada pela FAO (VAN HUIS, 2019), cuja inserção deve ser iniciada na divulgação de pesquisas que demonstrem a riqueza nutricional desses animais.

Nesse contexto, a análise bromatológica de insetos se torna extremamente relevante para tornar conhecida a composição nutricional de forma mais aprofundada e crítica, comparando-se as quantidades nutricionais encontradas em experimentação com as composições nutricionais de outras proteínas tradicionais já descritas em literatura, tais como aves, bovinos, peixes e suínos (SOARES, 2019, ORKUSZ 2021). Além disso, a presença de óleos, fibras alimentares e elevada carga proteica em insetos torna esse alimento de suma importância para a alimentação do futuro, uma vez que terá uma melhor composição nutricional, com menores

gastos e maior rendimento do alimento (ORKUSZ, 2021, VAN HUIS, 2013).

Portanto, faz-se necessário a avaliação do perfil nutricional de algumas espécies de insetos produzidos no Brasil, bem como a caracterização das propriedades funcionais das proteínas presente nesses animais, para que haja maior compreensão das possibilidades comerciais na indústria de alimentos e implementação desses animais na alimentação do brasileiro.

Para isso, é importante compreender que as propriedades funcionais de proteínas em geral, estão diretamente relacionadas às características sensoriais dos alimentos com alto teor proteico, como textura . Ainda, as propriedades funcionais das proteínas são de caráter físico-químico, afetando o comportamento dos alimentos durante processamentos e tratamentos, a exemplo de aquecimento, resfriamento, processos de extração, armazenamento, entre outros fatores (ZAYAS, 1998). Tais tratamentos podem contribuir, ou não, para a melhoria das propriedades funcionais de um alimento como solubilidade, propriedades espumantes e propriedades gelificantes, que serão abordadas no presente estudo (ZAYAS, 1998). Diferentes técnicas de extração de proteínas podem ser citadas, como a extração alcalina e o uso de ultrassom. A primeira consiste na adição de solventes alcalinos, como o NaOH, capaz de elevar o pH (entre 10 e 12), visando a máxima solubilização e liberação das proteínas no meio (FONSECA, 2019). O ponto isoelétrico (pI) de proteínas de insetos gira em torno de pH 4,5, entendendo-se, pois, que a solubilização é mínima no pI e máxima em pH alcalino (GRESIANA, 2015). Isso ocorre também para plantas como arroz, soja, grão de bico, que tem a extração alcalina como principal método de extração proteica, por garantir alto rendimento de extração e fácil recuperação (FONSECA, 2019).

Já o ultrassom tem ganhado destaque na indústria de alimentos devido a melhora na qualidade de alguns alimentos com elevado teor de proteínas, como produtos lácteos e derivados de soja, uma vez que pode alterar a conformação das proteínas, influenciando em

suas propriedades funcionais de formação e estabilidade de espumas e géis, e melhora da proteica, a depender das condições utilizadas (SHEN, 2017). A ação do ultrassom ocorre por meio do que é chamado de cavitação acústica, isto é, uma formação intensa, rápida e constante de surgimento, crescimento e implosão de bolhas de ar dentro do líquido, e isso gera elevadas quantidades de energia localizada. No momento de implosão das bolhas, geram-se elevadas temperaturas e agitação mecânica capazes de romper as paredes celulares, liberando o conteúdo presente no meio intracelular, como as proteínas (SHEN, 2017).

Estudos prévios têm demonstrado que o ultrassom é capaz de aumentar a extração de proteínas de 35% para 58% para a soja (PREECE, 2016), e de 53,1% para 72,8% para o arroz (ZHANG, 2019), por exemplo. Ainda, tem sido observado que o uso do ultrassom pode melhorar a solubilidade, as propriedades espumantes e a gelificação de alimentos (PICÓ, 2013), demonstrando que essa tecnologia é promissora para obtenção de proteínas de insetos com boa funcionalidade e melhores rendimentos de extração (KINGWASCHARAPONG, 2021). É importante mencionar que, até o momento, não foram encontrados estudos na literatura que tenham utilizado o ultrassom para extração de proteínas de insetos, sendo necessário o aprofundamento no estudo da potencial influência do ultrassom não somente no rendimento de extração proteica, como também nas propriedades funcionais desse alimento.

2. Justificativa

Em decorrência das perspectivas do crescimento populacional, o aumento da demanda de produção de alimentos tem sido necessário. Entretanto, a pecuária tradicional se demonstrou ineficiente para realizar tal feito em longo prazo, considerando a demanda de grande quantidade de recursos naturais para uma baixa porcentagem de conversão em proteína (GOVORUSHKO, 2019; ORKUSZ, 2021). Recursos naturais, em geral, são finitos, exigem preservação e possuem um elevado custo de utilização (FRIEDE, 2021; IBGE, 2021). Dessa forma, a produção de insetos comestíveis se torna uma alternativa viável e eficaz, pois apresenta uma produção

sustentável, sem a necessidade de alto investimento de capital (VAN HUIS 2013, 2019). Além disso, o valor nutricional de insetos comestíveis é elevado em comparação ao de outras proteínas convencionais, apresentando versatilidade de produção de alimentos na indústria similar ao de fontes de alimentos tradicionais, como na preparação bolos, pratos salgados e doces (DE MINAS, 2020).

Apesar do grande potencial de criação de insetos alimentícios no Brasil, é perceptível a falta de pesquisas sob o tema no país. Embora já ocorra a presença desses insetos na alimentação de alguns brasileiros, não apenas de forma regional e tradicional, mas também em restaurantes, não ocorre a ampla divulgação desse alimento como uma fonte alimentar a ser integrada na alimentação da população, uma vez que os insetos são tratados com estranheza.

Com isso, a extração e utilização da proteína do inseto se torna uma alternativa viável para aproveitamento do valor nutricional do mesmo, sem que haja a necessidade da alimentação do inseto em si, garantindo uma alimentação biologicamente adequada, impercetível para o consumidor, resultando em um produto e/ou ingrediente com um maior grau de adesão dos brasileiros.

Sendo assim, os insetos comestíveis trazem um grande potencial de exploração do ponto de vista nutricional, econômico e sustentável, e a implementação e crescimento desse ramo no Brasil poderá garantir o fornecimento adequado de nutrientes para a população, além da geração de capital com baixo investimento, oferta de empregos, e desenvolvimento sustentável com a baixa utilização de recursos naturais.

3. Objetivo

O presente estudo teve como objetivo avaliar a composição centesimal da farinha de *Gryllus assimilis* e extrair proteínas a partir da farinha do inseto por extração alcalina e extração alcalina assistida por ultrassom, a fim de avaliar a influência do ultrassom no rendimento proteico e funcionalidade das proteínas obtidas.

4. Material e métodos

4.1. Material

A farinha de *Gryllus assimilis* (GA), foi doada pela empresa Hakkuna, (Piracicaba, São Paulo). As amostras da farinha do inseto (Figura 1), cerca de 310 g, foram armazenadas em freezer à -10 °C, em embalagem do próprio fornecedor, até a realização de cada análise. Todos os reagentes químicos utilizados no estudo foram de grau analítico.



Figura 1: Farinha de *Gryllus assimilis* doada pela empresa Hakkuna

4.2. Métodos

4.2.1. Avaliação da composição centesimal

A avaliação da composição centesimal das amostras foi realizada em triplicata, e expressa em média $\pm$ desvio padrão. Os teores de proteínas, lipídios, umidade e cinzas foram quantificados de acordo com a *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2000).

4.2.1.1. Determinação de Umidade

Foram utilizados cadinhos de porcelana, previamente secos em estufa à 105 °C (Modelo: Nova Ética 402-3D, Minas Gerais, Brasil), por cerca de 2 h, resfriados em dessecador de sílica-gel, e previamente pesados. Para a análise, inicialmente foram adicionados aproximadamente 3 g de amostra nos cadinhos que, em seguida, foram levados para a estufa à 105 °C, por 12 h. Após a desidratação das amostras, os cadinhos de porcelana foram retirados da estufa e

resfriados em dessecador, para posterior pesagem. A umidade foi determinada conforme as Equações 1 e 2.

$$\% \text{Matéria seca (MS)} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

$$\% \text{Umidade} = 100\% - \% \text{MS} \quad (\text{Equação 2})$$

Em que m_0 é o peso da placa de petri vazia, m_1 é o peso da amostra com a placa de petri e m_2 é o peso da amostra seca com a placa de petri.

4.2.1.2. Determinação do teor de proteínas

O conteúdo proteico foi determinado através do método micro-Kjeldahl, em um conjunto Kjeldahl para digestão e destilação de nitrogênio. Para isso, 0,2 g de amostras foram digeridas inicialmente com ácido sulfúrico concentrado 98% (m/m) e mistura catalítica de sulfato de cobre II ($\text{CuSO}_4 \cdot 5(\text{H}_2\text{O})$) com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), em um bloco digestor (Modelo: Solab SL25/40, Minas Gerais, Brasil), à $350 \text{ }^\circ\text{C} \pm 10 \text{ }^\circ\text{C}$, por 5:30 h, mantendo-se por mais 30 min após clareamento da mistura. Em seguida, após resfriamento, adicionou-se 8 mL de água destilada, agitou-se até dissolução completa do destilado e resfriamento. Em seguida, no destilador (Modelo: Solab SL 074, Minas Gerais, Brasil), a amostra foi neutralizada com NaOH 50% (m/v), para posterior destilação do nitrogênio por arraste à vapor. Um erlenmeyer contendo ácido bórico a 4% (m/v) com indicador misto foi preparado para coletar a amônia arrastada durante a destilação. O terminal do condensador foi mergulhado na solução receptora até que toda a amônia tivesse sido liberada, recolhendo-se aproximadamente 100 mL de destilado. Finalmente, o destilado foi titulado com HCl 0,06 N para quantificação do conteúdo de nitrogênio (ARAÚJO, 2018). O Teor de proteínas foi calculado conforme Equação 3.

$$\text{Teor de proteínas (\%)}: \frac{N_{\text{HCl}} \times (V_{\text{HCl}} - V_{\text{branco}}) \times f_{\text{HCl}} \times 1,4}{P_{\text{amostra}}(\text{g})} \times \text{FC} \quad (\text{Equação 3})$$

Em que N_{HCl} representa a concentração de HCl utilizada, V_{HCl} é o volume utilizado para atingir a titulação da amostra, V_{branco} é o volume de HCl utilizado para titulação do branco,

f_{HCl} é o fator utilizado para corrigir a diluição de uma substância, P é o peso da amostra e FC é o fator de conversão de porcentagem geral de proteínas para esse tipo de amostra (6,25 para proteínas animais) (RIBEIRO, 2017).

4.2.1.3. Determinação do teor de cinzas

O teor de cinzas secas foi determinado pela combustão das amostras em cadinho de porcelana, colocado em forno mufla (Modelo: Jung 42L LF4213, Minas Gerais, Brasil). Foi utilizado um cadinho previamente aquecido a 500-550 °C, por 1 h. Inicialmente, 3 g de amostra foram transferidos para o cadinho de porcelana previamente incinerado e de peso conhecido. Em seguida, houve elevação da temperatura gradualmente para 550-610 °C a qual foi mantida por cerca de 96 h para queimar todos os ingredientes orgânicos e posterior determinação de porcentagem das cinzas (ARAÚJO, 2018). O teor de cinzas foi calculado conforme equação 4.

$$\% \text{Cinzas secas} = \frac{m_2 - m_0}{m_1} \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

Em que m_0 é o peso do cadinho vazio, m_1 é o peso inicial da amostra e m_2 é o peso do cadinho mais as cinzas totais.

4.2.1.4. Determinação do teor de lipídios

O percentual de lipídios foi determinado por extração com solvente orgânico no aparelho de Goldfish (Modelo: Extrator de Óleos e Graxos Marconi MA 044/8/50, Minas Gerais, Brasil), utilizando éter de petróleo. Para isso, 3 g de amostra seca e homogeneizada (com precisão de 0,0010 g), foi colocada em um cartucho extrator e extraídos com aproximadamente 150 mL de éter de petróleo, por um período de aproximadamente 6 h. Após a extração dos lipídeos, o copo reboiler (de peso conhecido) contendo os lipídeos juntamente com o solvente foi então levado a estufa à 105 °C (Modelo: Nova Ética 402-3D, Minas Gerais, Brasil) para evaporação do solvente, sendo posteriormente pesado em uma balança analítica (Modelo: Gehaka AG2205, Minas Gerais, Brasil) (ARAÚJO, 2018). Os testes foram realizados em quadruplicada. A porcentagem do teor de lipídeos foi determinada pela equação 5.

$$\% \text{Lipídeos} = \frac{m_2 - m_0}{m_1} \times 100 \quad (\text{Equação 5})$$

Em que m_0 é o peso do copo reboiler, m_1 é o peso da amostra e, m_2 é o peso do copo contendo lipídeos.

4.2.1.6. Determinação do teor de carboidratos totais

O teor de carboidratos totais (CT) – incluindo fibras, foi calculado por diferença (Equação 7), considerando-se a soma das porcentagens dos demais componentes como umidade, proteínas, lipídios e cinzas.

$$\text{CT} = 100\% - (\% \text{Umidade} + \% \text{Proteínas} + \% \text{Lipídios} + \% \text{Cinzas})$$

(Equação 7)

4.2.2. Extração de proteínas

4.2.2.1. Desengoduramento da matéria-prima

A fim de minimizar a influência da presença de lipídeos durante a extração das proteínas, realizou-se a extração dos lipídeos previamente a extração das proteínas, de acordo com metodologia previamente descrita (JEONG et al, 2021), com algumas adaptações. Foi utilizada uma suspensão na proporção de 1:5 (p/v) contendo a farinha de GA, com etanol absoluto ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) 99,5% °GL. Para auxiliar na extração, a qual durou um total de 9:30 h, utilizou-se um agitador mecânico (Figura 2). Ainda, a fim de evitar a saturação do etanol, e visando maior extração lipídica, foi realizada uma troca do solvente (etanol) próximo à metade do tempo total de extração. Ao término da extração, a amostra foi decantada e filtrada, com peneira e papel filtro, sendo, por fim, seca em estufa à 50 °C, durante aproximadamente 36 h.

Para a quantificação dos lipídeos extraídos, realizou-se a metodologia de Goldfish (4.2.1.4), obtendo-se ainda cerca de 24% de lipídeos em 100 g.



Figura 2: Farinha de GA sendo desengordurada com álcool etílico 99,5% por agitação mecânica

4.2.2.2. Extração de proteínas

Para a extração das proteínas, foram utilizadas $30 \text{ g} \pm 1 \text{ g}$, de farinha de GA desengordurada, que foi solubilizada em água destilada até atingir a razão sólidos-líquidos 1:10 (p/v). Em seguida, o pH da suspensão foi ajustado para $11 \pm 0,05$, com uma solução de NaOH 0,5% (p/v). Em seguida, a suspensão foi colocada em um banho ultrassônico (40Hz, Sanders Medical, Minas Gerais, Brasil) por 30 min, à temperatura de $40 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$. O pH foi mantido constante por ajuste com HCl 0,5M ou NaOH 0,5M ($11 \pm 0,05$) ao longo da extração. Para separar as proteínas extraídas, realizou-se uma centrifugação a $8000 \times g$, por 20 min, à $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e, o sobrenadante foi coletado para posterior liofilização. Para fins de comparação, realizou-se, ainda, a extração proteica alcalina com auxílio de um banho maria para controle de temperatura, sob as mesmas condições da extração alcalina feita com auxílio do ultrassom. Todas as condições de extração foram realizadas em triplicatas.

4.2.2.3. Liofilização

A fim de concentrar o extrato proteico, retirando-se a umidade do mesmo, realizou-se processos de liofilização (Modelo: Liofilizador L101 Liotop, Minas Gerais, Brasil), à $-45 \text{ }^{\circ}\text{C}$, pressão de 245 μHg (aproximadamente 0,0003 atm), durante 72 h, até que todo o resíduo líquido fosse liofilizado, obtendo-se no final um concentrado em proteínas. O rendimento de pó após a liofilização foi de 13,83% para a liofilização do extrato proteico obtido por extração assistida

pelo ultrassom (EAUS) e de 10,07% de extrato proteico obtido por extração alcalina (EA). As amostras foram armazenadas a -10 °C até posteriores análises.

4.2.3. Caracterização das propriedades funcionais das proteínas

A fim de caracterizar as propriedades funcionais dos extratos proteicos obtidos e avaliar a influência do US nas propriedades, foram avaliados a solubilidade, propriedades espumantes e capacidade de formação de gel para os extratos obtidos por US ou não. Todas as análises de funcionalidade foram avaliadas no pH 5,0, uma vez que a maioria dos alimentos *in natura* e industrializados apresentam pH entre 4 e 6,5 (FDA, 2003).

4.2.3.1. Solubilidade

Para a determinação da solubilidade das proteínas, inicialmente, utilizou-se uma suspensão 1% (p/p) dos extratos preparada em água destilada. Posteriormente, o pH das dispersões foi ajustado para 5 pela adição de solução de HCl 1 N ou solução de NaOH 1 N. Após agitação contínua por 1 h, as dispersões foram centrifugadas à $10.000 \times g$, 20 °C, por 10 min (QUINTEROS et al, 2022). Posteriormente, a quantidade de proteína no sobrenadante e quantidade de proteína total originalmente no concentrado foram comparadas (Equação 8) (QUINTEROS et al, 2022).

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{\text{Proteína presente no sobrenadante}}{\text{Proteína total da amostra}} \times 100 \quad (\text{Equação 8})$$

4.2.3.2. Propriedades espumantes

A capacidade de formação e estabilização de espumas foi avaliada de acordo com metodologia prévia (DE SOUZA et al, 2020). Para isso, inicialmente, o pH de 60 mL de soluções 1% (p/p) contendo os extratos proteicos liofilizados foi ajustado para 5, pela adição de HCl 1 N, ou NaOH 0,5 N. As soluções foram agitadas continuamente, por 2 min, utilizando-se um liquidificador (Modelo: Britânia Diamante 900 W, Minas Gerais, Brasil). As amostras foram subsequentemente transferidas para uma proveta graduada de 100 mL e o volume de espuma foi registrado imediatamente após a transferência da espuma para a proveta, a fim de

determinar a capacidade de formação de espuma (FE) (Equação 9). A estabilidade das espumas (EE) também foram determinadas em diferentes tempos (Equação 10).

$$FE (\%) = \frac{V_i - V_0}{V_0} \times 100 \quad (\text{Equação 9})$$

$$EE (\%) = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100 \quad (\text{Equação 10})$$

Em que V_i é o volume imediatamente após agitação, V_0 é o volume antes da agitação e V_t é o volume após os tempos 5 min, 10 min, 20 min e 30 min.

4.2.3.3. Formação de gel

A fim de avaliar a capacidade de formação de gel, 1 g dos extratos proteicos liofilizados foram dissolvidos em água destilada para atingir a concentração de 10% (m/v). Posteriormente, o pH foi ajustado para 5 com soluções de HCl 1 N, ou NaOH 0,5 N. As soluções foram aquecidas em banho-maria (86 ± 1 °C) por 25 min. A formação de gel foi determinada por observação visual, após o resfriamento das soluções à 4 °C. Se o líquido não se mover ao girar o tubo, é considerado um gel (YI, 2013).

4.3. Análise Estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata e expressas como médias $\pm$ desvio padrão. As diferenças estatísticas foram avaliadas pela Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey, a 95% de confiança, utilizando o programa Sisvar (FERREIRA, 2011).

5. Resultados e Discussão

5.1. Composição Centesimal

Os resultados da composição centesimal da farinha de *Gryllus assimilis* estão demonstrados na Tabela 3.

Tabela 3: Composição centesimal da Farinha de GA (%)

	Umidade (%)	*Cinzas (%)	*Lipídios (%)	*Proteínas (%)	*Carboidratos totais (%)
Farinha de GA	5,46% ± 0,28	3,1% ± 0,06	38,41% ± 2,83	52,97% ± 1,48	5,5%
Valor de referência da empresa doadora (Hakkuna) ¹	-	4,08%	21,8%	65,52%	8,6%
Valor encontrado em literatura ²	4,75%	2,83%	24,08%	63,66%	8,41%

*Expresso em matéria seca (94,54%)

¹Hakkuna (2017); ²Silva (2021)

Fonte: Autoria Própria

Com base na Tabela 3, tem-se que a farinha de *Gryllus assimilis* utilizada continha 5,46% de umidade, indicativo de que há uma baixa quantidade de água total no alimento, sendo os valores dentro da faixa encontrada na literatura (3,74% a 6,79%) (SILVA, 2021; ALEXANDER, 2020; GRESIANA, 2015). O parâmetro umidade está intimamente relacionado à qualidade de um produto processado, influenciando na estabilidade, valor comercial, textura, aparência e método de conservação necessário (PARK, 1996). O valor obtido de cinzas para as amostras de GA foi de aproximadamente 3,1%, menor que o valor de referência (4,08%) encontrado no site da empresa que forneceu o material (HAKKUNA, 2017) e pouco acima de valor encontrado em literatura (2,83%) (SILVA, 2021). As cinzas representam a quantidade de minerais presentes em um alimento, e tal medida é indicativo da qualidade nutricional do mesmo, podendo ser utilizada para identificá-los, já que cada alimento tem uma proporção de minerais diferentes uns dos outros (MOREIRA, 2021). A diferença entre a quantidade de cinzas encontradas e o valor de referência pode ser explicada devido à diferença de lote da matéria-prima, ou mesmo devido à degradação desses minerais na mufla durante a análise (CECCHI, 2003). Embora não tenha sido avaliado o teor do mineral ferro isoladamente, de acordo com a

literatura, a farinha de GA apresenta uma boa quantidade de ferro, comparável à carne bovina (ARAÚJO, 2019; USDA, 2018).

A porcentagem de lipídeos encontrada foi de 38,41% (Tabela 3), valor bem acima se comparado ao disponível no site da empresa (21,8%) (HAKKUNA, 2017) e valor da literatura (24,08%). Essa diferença de valores pode ser justificada por diferença de alimentação do lote de grilos utilizado, tempo e metodologia de extração de lipídios. É sabido que insetos possuem lipídios importantes para a saúde humana, como os ômega-3 e ômega-6 poli-insaturados que estão intimamente relacionados à resposta inflamatória (BENJAMIM et al, 2018), e o mesmo ocorre com o *Gryllus assimilis* (HAKKUNA, 2017). Sendo assim, entende-se que, possivelmente, uma maior quantidade de lipídios encontrada, corresponderá a uma maior quantidade desses ácidos graxos essenciais, mesmo embora o presente estudo não tenha avaliado a quantidade de ômega 3 e 6 na farinha de GA.

A quantidade de proteínas obtidas para farinha de GA foi de 52,97% (Tabela 3), ilustrando que tal espécie de inseto pode ser considerada uma ótima fonte alternativa de proteínas. O valor encontrado foi menor que o valor referencial (65,52%) (HAKKUNA, 2017) e da literatura, de 63,66% (SILVA, 2021). As proteínas são responsáveis pelo bom funcionamento do organismo, estando relacionado a rotas metabólicas, formação de células e tecidos, além de atuarem no sistema imunológico (LINK, 2019). Ainda, a quantidade de proteínas encontradas na farinha de GA é muito superior à de outras fontes alimentares, como o boi (21%), o frango (18,7%), o grão de bico (21%), o porco (19,8%) e a soja (39,9%) (TBCA, 1998). A farinha de Grilo se torna, assim, um potencial uso para suplementação proteica diária, uma vez que apresenta todos os aminoácidos essenciais em quantidades suficientes e necessários para o organismo, com exceção da metionina e triptofano (aminoácidos limitantes) (ARAÚJO, 2019). Ressalta-se que não foi avaliado o perfil de aminoácidos no presente estudo.

Com relação ao teor de carboidratos (Tabela 3), obteve-se um total de 5,5% de carboidratos totais na farinha GA, contrapondo-se aos 8,6% e 8,41% dos valores de referência e encontrado na literatura, respectivamente (SILVA, 2021; HAKKUNA, 2017). Os carboidratos são fundamentais para um bom funcionamento do organismo humano, pois além de servirem como reserva energética para as células do corpo, em especial aos neurônios, esses açúcares são importantes para evitar que as proteínas presentes nos tecidos sejam utilizadas como fonte energética, o que causaria danos para o funcionamento celular (LINK, 2019). Os carboidratos presentes nos insetos são representados, principalmente, pela quitina, que é uma fibra insolúvel, presente no exoesqueleto de do *Gryllus assimilis*, podendo compor entre 5 a 14 g/100 g do peso seco do inseto, variando com o estágio de desenvolvimento (SOARES, 2019; BISCONSIN-JUNIOR, 2018). Insetos são a única fonte proteica animal que possuem fibras (ORKUSZ, 2021). Entretanto, estudos revelaram que as fibras alimentares de insetos não são compostas apenas por quitina, mas também por proteínas estruturais (RIBEIRO, 2017; WEMANS, 2015) que auxiliam na manutenção e tratamento de doenças crônicas, como a *Diabetes mellitus* tipo 2 (YEGIN et al., 2020).

5.2. Extração Proteica

5.2.1. Desengorduramento

A extração de lipídios é um passo relevante para uma melhor extração proteica e rendimento de proteínas (JEONG, 2021; ZOZO et al, 2021), já que este efeito é atribuído às altas constantes dielétricas de solventes polares para extração de lipídios polares como ácidos graxos livres e glicolipídios presentes na parede celular desses insetos, garantindo uma maior facilidade de extração de proteínas e outros componentes orgânicos (JEONG, 2021).

Com o desengorduramento, a farinha GA teve um aumento no teor de proteínas (de 50,08% para 59,7%), além de uma redução no teor original de lipídios de 36,32% para 24%, indicando uma baixa porcentagem de lipídios extraídos ao se utilizar álcool etílico 99,5% como

solvente. Outros estudos demonstraram que um desengorduramento eficiente está em torno da presença de 2% de lipídios após desengordurar (JEONG, 2021; CHOI, 2017). Todavia, acredita-se que a baixa extração no presente estudo deve-se ao tempo de extração lipídica utilizado (12h), o qual foi menor se comparado com a literatura (CHOI, 2017), aproximadamente 48 h. Portanto, futuros estudos devem ser realizados para melhor otimizar as condições de desengorduramento, avaliando-se parâmetros como tempo, agitação e tipo de solvente.

5.2.2. Extração de proteínas e liofilização

O rendimento de pó do extrato proteico obtido com extração alcalina assistida por ultrassom (EPUS) correspondeu a 13,83% da massa de farinha GA desengordurada adicionada inicialmente, apresentando 31,43% de pureza. Já o rendimento de pó do extrato obtido por extração alcalina sem ultrassom (EPALC) foi de 10,07% da massa usada da matéria-prima, com pureza de 40,43% (Figura 3). Quando comparado com a literatura, em que se obteve 15% de pó e 95% de pureza (SANTIAGO, 2021), é possível perceber que o rendimento de concentrado no presente trabalho foi similar ao previamente mencionado (10-14%), mas com níveis de pureza bem abaixo (31,43% para EPUS e 40,43% para EPALC) do valor encontrado na literatura. A menor pureza pode ser explicada devido ao menor número de estágios de extração, além da não realização da etapa de purificação adicional, geralmente efetuada pela precipitação das proteínas no ponto isoelétrico. Ainda, nota-se que, apesar de um maior rendimento de pó ao se utilizar o ultrassom ($p < 0,05$), não houve diferença estatística ($p < 0,05$) para o rendimento de extração proteica entre as amostras (2,62% EPUS vs. 2,43% EPALC).

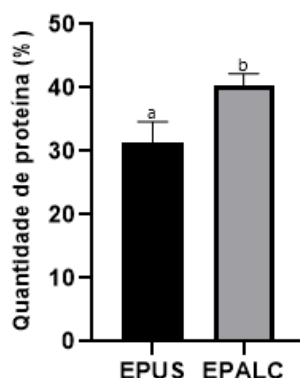


Figura 3: Conteúdo proteico (g/100g) encontrado no extrato proteico obtido por extração alcalina assistida por ultrassom (EPUS) e extração alcalina (EPALC). Letras diferentes representam diferença significativa estatisticamente ($p < 0,05$). Fonte: Autoria Própria

Ainda, de acordo com a literatura, o rendimento de proteínas da espécie *Gryllus mitratus*, se comparado ao teor de proteína inicial da matéria-prima, gira em torno de 14,26% quando utilizado precipitação de proteínas por ponto isoelétrico, 64,94% quando utilizado recuperação por acetona e de 75,03% quando utilizado sulfato de amônia na etapa de concentração (GRESIANA, 2015). Entretanto, no presente estudo, não foi realizado recuperação de proteínas, mas apenas a extração por EPUS e EPALC, com posterior liofilização do extrato proteico obtido, considerando um baixo rendimento de proteína quando comparado à recuperação de proteínas por ponto isoelétrico (aproximadamente 2,5%) (GRESIANA, 2015). Ratifica-se, ainda, que não foi verificado em literatura a presença de nenhuma metodologia de extração proteica assistida por ultrassom para proteína de inseto, em especial *Gryllus assimilis*.

Em analogia com fontes vegetais, cuja parede celulósica pode ser um empecilho para extração de proteínas (KUMAR, 2021), o baixo rendimento proteico observado durante as extrações de proteínas de *Gryllus assimilis* pode estar associado à presença da quitina (fibras insolúveis), que poderia dificultar a solubilização e migração das proteínas para o meio extracelular, reduzindo o rendimento das proteínas. Além disso, o processamento da amostra foi adaptado da literatura (SANTIAGO, 2021; GRESIANA, 2015), uma vez que houve redução

das etapas de extração, não foi realizado a recirculação da amostra, e não foi feito recuperação de proteínas por precipitação no ponto isoelétrico, ou utilizado acetona ou sulfato de amônia, o que pode ter influenciado diretamente no rendimento de proteína.

5.3. Propriedades Funcionais

5.3.1. Solubilidade

A solubilidade proteica é definida como a quantidade de nitrogênio solúvel dissolvido em um líquido (ZAYAS, 1997). Essa propriedade funcional é a primeira a ser testada para o desenvolvimento de um novo produto, ou ingrediente de alimentos ricos em proteína, principalmente de alimentos líquidos e dispersões coloidais, já que influencia diretamente em outras propriedades, como formação e estabilização de espumas, além de géis (ZAYAS, 1997). A Figura 4 ilustra a capacidade de solubilização das proteínas de GA após serem extraídas por extração alcalina ou por extração assistida por ultrassom.

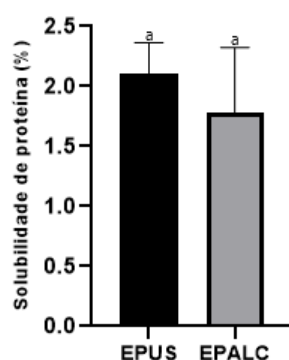


Figura 4: Solubilidade proteica (%) de extratos proteicos obtidos por extração alcalina assistida por ultrassom (EPUS) e extração alcalina (EPALC). Letras iguais indicam semelhança estatística entre as amostras ($p < 0,05$). Fonte: Autoria própria

Com base na Figura 4, tem-se que a proteína de GA testada, no pH 5,0, apresentou a solubilidade de $2,1\% \pm 0,49$ para EPUS e de $1,78 \pm 0,54$ para EPALC, sem diferenças estatísticas ($p < 0,05$). Tais valores são muito abaixo, se comparado com a literatura, que tem demonstrado solubilidade em torno de 29,6% para proteínas de GA, no pH 5,0 (STONE, 2019). Existem diversos fatores que podem afetar a solubilidade proteica, dentre eles, tem-se o pH. Uma menor

solubilidade proteica é encontrada para a maioria das proteínas próximo ao ponto isoeletrico, como realizado no presente experimento (pH 5), zona cujas interações de repulsão eletrostática entre as moléculas são menores que as interações hidrofóbicas (ZAYAS, 1997).

Outro fator interferente para aumento da solubilidade proteica é o aumento de interações iônicas por adição de sais, a exemplo de cloretos, que aumentam a solubilidade de proteína a partir do aumento da repulsão eletrostática por se ligar aos grupos de proteínas carregados positivamente (ZAYAS, 1997). Ainda, outros dois fatores interferem nesta propriedade: aquecimento e agitação, em que o primeiro garante uma boa solubilização até 50 °C, mas a partir dessa temperatura, pode ocorrer desnaturação proteica, diminuindo a solubilidade (ZAYAS, 1997). Já a agitação feita de forma eficiente pode ser capaz de auxiliar o aumento da solubilização proteica por aumentar a interação entre proteína-solvente, permitindo ligações mais estáveis (ZAYAS, 1997).

Apesar da baixa solubilidade encontrada neste estudo, sabe-se do elevado valor proteico de GA, com boas quantidades de quase todos os aminoácidos essenciais e seu potencial solúvel (GRESIANA, 2015). Sendo assim, é necessária a experimentação de outras condições de processamento da proteína (pH, sais e agitação) para determinar melhores condições para solubilidade proteica de GA.

5.3.2. Propriedades Espumantes

Proteínas com capacidade de formação de espuma que sejam estáveis, ou seja, que formem um sistema bifásico de bolhas de ar que são impedidas de se juntarem por finas camadas de água (fase lamelar), são importantes para produzir vários alimentos (ZAYAS, 1997). Neste contexto, a capacidade e estabilidade de espuma foram avaliadas para os extratos proteicos obtidos a partir de GA (Figuras 5 e 6).

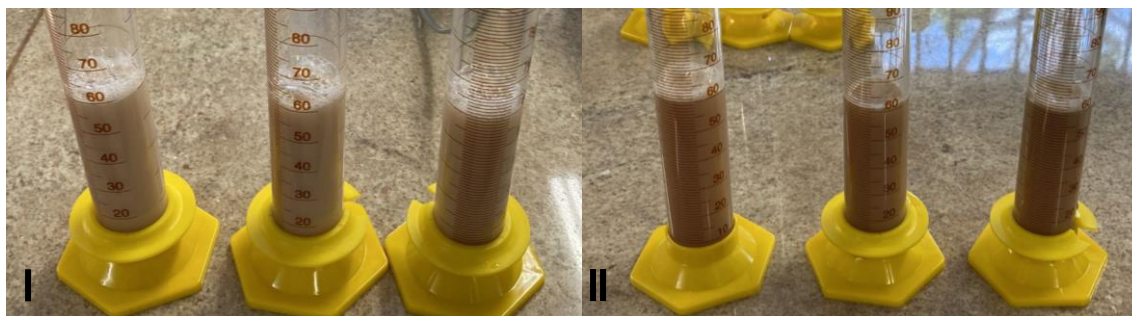


Figura 5: I) Capacidade de formação de espuma para EPUS e II) EPALC. Fonte: Autoria Própria

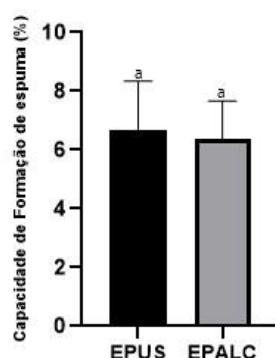


Figura 6: Comparação da capacidade de Formação de Espuma (%) do extrato proteico obtido por extração alcalina assistida por ultrassom (EPUS) e extração alcalina (EPALC). Letras iguais indicam semelhanças estatísticas entre as amostras ($p < 0,05$). Fonte: Autoria Própria

Com base nas Figuras 5 e 6, nota-se que há uma baixa capacidade de formação de espuma, representando uma média de $6,67\% \pm 1,67$ do volume inicial da solução para EPUS liofilizado e $6,39\% \pm 1,27$ para EPALC, sem diferenças significativas entre os tratamentos com ou sem ultrassom. O baixo valor da formação de espuma pode estar relacionado ao fato do pH estar próximo ao pI das proteínas do grilo (4,5) (GRESIANA, 2015), pois as atrações eletrostáticas entre as cadeias das proteínas são máximas no pI, ocorrendo maior agregação proteica (ZAYAS, 1997). Isso justifica a baixa formação de espuma, uma vez que está intimamente relacionada à interação das proteínas solúveis com a água, formando um sistema proteína-proteína e proteína-água que garante uma distribuição homogênea dessas proteínas solúveis, impedindo o aumento da tensão superficial existente em cada bolha, e uma maior eficiência de formação de bolhas (ZAYAS, 1997; JEONG, 2021). Logo, acredita-se que no

presente experimento ocorreu elevada tensão superficial, pela baixa presença de proteínas solúveis, reduzindo a formação de espuma.

Ainda, a FE depende da ausência de inibidores de espuma, caracterizados por substâncias insolúveis em água, a exemplo dos lipídios, sendo assim, a formação de espuma dos extratos proteicos pode ter sido prejudicada (ZAYAS, 1997), uma vez que a porcentagem de lipídios presentes nas amostras estava elevada mesmo após desengorduração (24%).

Considerando que a Estabilidade da Espuma (EE) é outro fator importante para avaliar a qualidade da espuma produzida, tal propriedade foi avaliada para ambos os extratos proteicos obtidos (Figura 7).

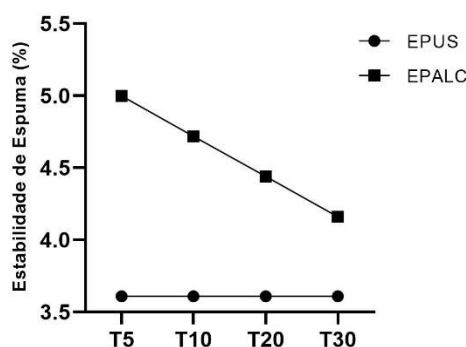


Figura 7: Estabilidade de Espuma ao longo de 30 minutos.

Fonte: Autoria Própria

A partir dos dados coletados, obteve-se uma estabilidade de espuma média de 4,6% para a EPALC e de 3,6% para a EPUS. Considera-se uma baixa estabilidade da espuma, já que foi encontrado em outros trabalhos para o gênero *Gryllus* uma estabilidade de espuma de até 92,3% (JEONG, 2021). É sabido que a EE depende de propriedades específicas das proteínas, como formação de um filme viscoso, elástico, contínuo e impermeável do ar ao redor de cada bolha formada durante a agitação da solução proteica (ZAYAS, 1997). Além disso, a formação de espuma depende do efeito Marangoni, que se dá pela capacidade de um líquido se mover de uma região de baixa tensão superficial para uma região com elevada tensão superficial, evitando, assim, o rompimento das bolhas formadas (ZAYAS, 1997).

A baixa formação e estabilidade de espuma podem contribuir para o desenvolvimento de produtos que não necessitam de espuma em sua composição, como a produção de refrigerantes de frutas e processos de fermentação (natural e química), indústria de pães, bolos, bolachas, farinhas e suplementação (GRUPO PCC, 2020; MACHADO, 2019; DE MINAS, 2016).

5.3.3. Formação de Gel

A gelificação, ou formação de gel, é importante para a indústria de alimentos, pois é capaz de determinar a textura, suculência e estabilidade dos alimentos, principalmente para aqueles como gelatinas, sucos, recheios, massas, sobremesas, como pudim, e até produtos cárneos, contendo boi, ou peixe (ZAYAS, 1997).

A formação de gel ocorre nos momentos em que há alterações (desdobramentos) parciais da estrutura secundária das proteínas, as quais formam segmentos polipeptídicos entre as proteínas e a interação proteína-água, gerando “redes” tridimensionais (ZAYAS, 1997). Ressalta-se que, para uma gelificação mais rápida e eficaz, há a necessidade da presença de proteínas solúveis na solução, permitindo maior quantidade de interações intermoleculares (ZAYAS, 1997). Além disso, a adição de sais, como o NaCl pode aumentar a capacidade de formação de géis (NDIRITU, 2019). O tratamento térmico se torna necessário para a formação de gel, bem como o resfriamento adequado, pois ao aquecer a solução, tem-se o desenovelamento das proteínas de forma parcial, permitindo com que se liguem umas às outras, e, ao resfriar, se agregam criando redes tridimensionais e formando uma textura gelificada (ZAYAS, 1997).

A Figura 8 mostra a capacidade de formação de gel do concentrado proteico obtido por ultrassom (EPUS) e extração alcalina (EPALC).



Figura 8: Formação de gel de EPUS (tubo esquerdo) e de EPALC (tubo direito).

Fonte: Autoria Própria

A partir da observação da Figura 8, é possível determinar que não houve a formação visual de gel, possivelmente devido a concentração de proteínas solúveis ser insuficiente na solução, impedindo a formação intensa de interações entre as proteínas e proteína-água. Ainda, há a possível interferência do pH 5, uma vez que, próximo ao ponto isoelétrico, há menor gelificação devido à falta de forças repulsivas, ou seja, que impedem que as proteínas se agreguem e interajam com a água (ZAYAS, 1997). Sendo assim, é possível concluir que, nas condições estudadas, a proteína de GA não poderia ser aplicada com intuito de formação de gel para produtos com pH 5.

Em literatura comparativa (JEONG, 2021; NDIRITU, 2019), observou-se que pode haver formação de gel com outras espécies de grilo, como *Gryllus bimaculatus* e *Acheta domesticus*. Entretanto, não foi avaliada a formação de gel nessas espécies no pH 5, além de ser utilizado maiores concentrações de proteína, a partir de 20% (m/v), com a adição de NaCl e agitação (NDIRITU, 2019).

6. Conclusão

A farinha de *Gryllus assimilis* é de potencial uso para a alimentação humana por apresentar um perfil nutricional excelente, contendo elevado teor proteico (52,97%), bem como de lipídios (38,41%) e minerais (3,1%), além de carboidratos (5,5%) - especialmente fibras.

Todavia, seu uso se torna limitado a dois fatores: a falta de incentivo dos órgãos reguladores e a não aceitação do consumidor. Deste modo, a utilização do extrato ou concentrado proteico se torna um potencial atrativo para uso no enriquecimento de alimentos já amplamente distribuídos na alimentação da população como iogurtes, pães, bolos, geleias, barras de proteína, suplementos, bolachas e biscoitos, a fim de que se tenha maior adesão dos consumidores.

O presente trabalho demonstrou a aplicação da extração alcalina e extração alcalina assistida por ultrassom para obtenção de concentrado proteico de *Gryllus assimilis*. Baixos rendimentos de extração foram observados para ambos os métodos de extração (10,07 – 13,83%), o que pode estar relacionado a barreiras físicas para a extração, como a parede de quitina, que é composta por fibras insolúveis presente nos insetos. Ainda, um único estágio foi executado durante a extração, sem a utilização de etapas posteriores para a concentração de proteínas, como a precipitação isoeletrica.

O uso do ultrassom durante a extração não influenciou nas propriedades funcionais das proteínas tal como solubilidade, capacidade espumante e de gelificação (sem formação). Tais resultados podem também estar diretamente associados ao pH de avaliação (pH 5), o qual foi próximo ao ponto isoeletrico das proteínas, ponto de solubilidade mínima. É importante ressaltar que a escolha do pH foi baseada no intervalo encontrado para a maioria dos alimentos (pH 4-6,5).

7. Perspectivas Futuras

Mais estudos devem ser conduzidos para otimizar as condições de desengorduramento da farinha de grilo, além das condições de extração proteica e propriedades funcionais das proteínas de GA . A exemplo, pode-se avaliar a execução da extração em tempos maiores de extração, com o emprego de temperatura mais elevada, diferentes valores de pH e adição de sais, além do uso de mais estágios de extração, com a etapa de concentração de proteínas. Ao se otimizar as condições experimentais tanto para a extração proteica, quanto para as

propriedades funcionais da proteína de *Gryllus assimilis*, será possível direcionar a aplicação na indústria de alimentos, a fim de obter um produto com qualidade comercial e competitividade industrial, permitindo a utilização da proteína de grilo na alimentação diária da população.

8. Referências Bibliográficas

AHUJA, K. Edible insects market size by Product (beetles, caterpillars, grasshoppers, bees, wasps, ants, scale insects & tree bugs), by Application (flour, protein bars, snacks), Industry Analysis report, Regional outlook, Application potential, Price trends, Competitive market share & forecast, 2020 – 2026. 2020. Disponível em: <Edible Insects Market Analysis 2020-2026 | Industry Forecasts (gminsights.com)> Acesso em: 05/10/2021.

ALEXANDER, V. Caracterización de la composición nutricional de la harina del grillo común (*Gryllus assimilis*). Universidad Central del Ecuador. Quito, 2020.

AOAC: Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of AOAC international. 17^a ed., AOAC International, Arlington, 2000.

ARAÚJO, R. Nutritional composition of insects *Gryllus assimilis* and *Zophobas morio*: potential foods harvested in Brazil. Journal of Food Composition and Analysis, v, p, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.11.005>.

ARAÚJO, R. Nutritional composition of insects *Gryllus assimilis* and *Zophobas morio*: Potential foods harvested in Brazil. Journal of Food Composition and Analysis. v. 76, pg 22-26. Maio de 2019.

BAIANO, A. Edible insects: An overview on nutritional characteristics, safety, farming, production technologies, regulatory framework, and socioeconomic and ethical implications. Elsevier Ltd, 2020.

BENJAMIM, C. et al. O consumo de ômega 3 e 6 e a sua relação com doenças crônicas não transmissíveis. Revista E-Ciência, v. 6, n. 2, p. 114-120 2019.

BISCONSIN-JUNIOR, A. Composição de insetos comestíveis. Belém: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Agosto de 2018.

BORTOLINI, G. Orientação nutricional do paciente com deficiência de ferro. *Revista brasileira de hematologia e hemoterapia*, v. 32, p. 105-113. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 49, de 31 de outubro de 2013, dispõe sobre a regularização para o exercício de atividade de interesse sanitário do microempreendedor individual, do empreendimento familiar rural e do empreendimento econômico solidário e dá outras providências. *Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF*, 31 de out. 2013.

CAMPOS, F. Environment, development and expansion of diseases transmitted by vectors. Centro Universitario de Anapolis, 2018.

CECCHI, H. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. Campinas, São Paulo. Editora UNICAMP, 2ª ed. 2003.

CHOI, B. Defatting and Sonication Enhances Protein Extraction from Edible Insects. *Korean Journal Food Science of Animal Resources*, v. 37, p. 955~961. 2017. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2017.37.6.955>.

COSTA-NETO, E.M.; DUNKEL, F.V. Insects as Food: History, Culture, and Modern Use around the World. In: *Insects as sustainable food ingredients*. Elsevier, 2016. p. 29–60.

FF

DA CRUZ, L. Biotransformação de proteínas de grilo-preto (*Gryllus assimilis*) por fermentação submersa para obtenção de peptídeos com propriedade antioxidantes. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, 2021.

DA SILVA, B. A utilização de insetos comestíveis como uma fonte alternativa para alimentação humana. Rio de Janeiro, 2019.

DE MINAS, R. Antropoentomofagia e entomofagia: insetos, a salvação da humanidade.

Brasília: Editora Kiron, 2016.

DE SOUZA, T., DIAS, F., KOBLITZ, M., DE MOURA, J. Effects of enzymatic extraction of oil and protein from almond cake on the physicochemical and functional properties of protein extracts. *Journal of Food and Bioproducts Processing*, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.06.002>.

FAO et al. Edible Insects - Future prospects for food and feed security. FAO Forestry Paper. Rome, Wageningen UR. Food and Agriculture Organization of the United Nations 2013.

FDA. Approximate pH of Foods and Food products. Food and Drug Administration, United States, 2003. Disponível em: <https://www.webpal.org/SAFE/aaarecovery/2_food_storage/Processing/lacf-phs.htm>.

Acesso em: 17/09/2022.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. Science and Agrotechnology. Universidade Federal de Lavras, 2011.

FONSECA, E. Métodos de extração de proteínas em leguminosas. Universidade Federal de Uberlândia. Patos de Minas, 2019.

FRIEDE, R. Aumento populacional e degradação ambiental: a conta que não quer fechar. *Revista Augustus*, Rio de Janeiro, p. 82–93, 2021.

GIARETTA, J. Avanço da atividade agropecuária sobre as áreas de vegetação natural na capital nacional do agronegócio. São Paulo, 2019. Disponível em: <<https://orcid.org/0000-0002-8413-3876>> . Acesso em 09/10/2021.

GOVORUSHKO, S. Global status of insects as food and feed source: A review. Elsevier Ltd, 2019.

GRESIANA, F. Protein Isolation from Cricket (*Gryllus mitratus*). Proceedings of the International Conference on Innovation, Entrepreneurship and Technology. BSD City, Indonesia. Novembro de 2015.

GRUPO PPC. Copolímeros em bloco na indústria de alimentos ou como remover espuma com eficiência. Grupo PPC, 2020. Disponível em:

<<https://www.products.pcc.eu/pt/blog/copolimeros-em-bloco-na-industria-de-alimentos-ou-como-remover-espuma-com-eficiencia/>>. Acesso em: 18/09/2022.

HAKKUNA. Análise da composição nutricional de *Zophobas morio* e *Gryllus assimilis*. Hakkuna, 2017. Disponível em: <<https://hakkuna.com/compre-nossos-produtos/>>. Acesso em: 20/06/2022.

HE, L.; SHEN, J.; ZHANG, Y. Ecological vulnerability assessment for ecological conservation and environmental management. *Journal of Environmental Management*, v. 206, p. 1115–1125, 2018.

IBGE. IPCA - Índice Nacional de Preços ao Consumidor Amplo. 2021. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2021. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em 29/09/2021.

JEONG, M.-S.; LEE, S.-D.; CHO, S.-J. Effect of Three Defatting Solvents on the Techno-Functional Properties of an Edible Insect (*Gryllus bimaculatus*) Protein Concentrate. *Molecules* 2021. <https://doi.org/10.3390/molecules26175307>.

JORDÃO, R. Prevalência de anemia ferropriva no Brasil: uma revisão sistemática. *Revista Paulista de Pediatria*, v. 27. 2009.

KINGWASCHARAPONG, P. Ultrasound-assisted extraction of protein from Bombay locusts and its impact on functional and antioxidative properties. Tailândia, 2021. Disponível em: <Scientific Reports (nature.com)>. Acesso em: 19/09/2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96694-w>.

KOGA, R. Estudio del valor nutricional e identificación de los diferentes minerales que alberga el *Gryllus assimilis* (Orthoptera: Grillidae). Perú, 2006.

KUMAR M. Advances in the plant protein extraction: Mechanism and recommendations. *Food*

Hydrocolloids, v. 115. 2021.

LINK, J. Ciência dos Alimentos. Indaial: Uniasselvi, 235 p. 2019.

LIYA, Y. Extraction and characterization of protein fractions from five insect species. Food Chemistry, vol. 141, p., 2013.

MACHADO, C. Cricket powder (*Gryllus assimilis*) as a new alternative protein source for gluten-free breads. Innovative Food Science and Emerging Technologies, v. 56. 2019.

MOREIRA, D. Determinação do teor de cinzas em alimentos e sua relação com a saúde. Revista Ibero- Americana de Humanidades, Ciências e Educação- REASE. São Paulo, v.7, n.10. Outubro de 2021.

NDIRITU, A. Effects of NaCl and pH on the functional properties of edible crickets (*Acheta domesticus*) protein concentrate. Journal of Food Measurement and Characterization v. 13, pg 1788–1796. Quênia, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00097-5>.

ORKUSZ, A. Edible insects versus meat – nutritional comparison: Knowledge of their composition is the key to good health. Nutrients, v. 13, p., 2021.

PARK, Y. W. Determination of Moisture and Ash contents of Foods. Handbook of Food Analysis. Leo M.L. Nollet (ed). Marcel Dekker, New York. p. 59-92. 1996.

PICÓ, Y. Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. Trends in Analytical Chemistry, Vol. 43. Espanha, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2012.12.005>.

PREECE, K. Intensified soy protein extraction by ultrasound. Chemical Engineering and Processing, v. 113, p. 94–101. Reino Unido, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cep.2016.09.003>.

QUINTEROS, M. F.; MARTÍNEZ, J.; BARRIONUEVO, A.; ROJAS, M.; CARRILLO, W. Functional, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Properties of Cricket Protein Concentrate (*Gryllus assimilis*). Biology 2022, v. 11. <https://doi.org/10.3390/biology11050776>.

Tabela brasileira de composição de alimentos: TBCA-USP. Composição de Alimentos (Em Medidas Caseiras). 1998. Disponível em: <<http://www.tbca.net.br/base->

dados/composicao_alimentos.php>. Acesso em: 10/08/2022.

RIBEIRO, J. Estudo do potencial dos insetos comestíveis para aplicação na indústria alimentar. Entomophagy: the practice of eating bugs. Universidade do Porto. Portugal, 2017.

SADIGOV, R. Rapid Growth of the World Population and Its Socioeconomic Results. The Scientific World Journal, v. 2022. Arzerbaijão. Mar de 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/8110229>.

SANTIAGO, L. How does the thermal-aggregation behavior of black cricket protein isolate affect its foaming and gelling properties?. Journal of Food Hydrocolloids v. 110. 2021.

SCHARDONG, I. Brazilian consumers' perception of edible insects. Ciência Rural, v. 49, 2019.

SHEN, X. Effects of ultrasound treatment on physicochemical and emulsifying properties of whey proteins pre- and post-thermal aggregation. Food Hydrocolloids, 2017.10.1016/j.foodhyd.2016.10.003.

SILVA, J. Farinha de gryllus assimilis: padronização, caracterização e aplicação na produção de proteases fúngicas. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo. Trabalho de Conclusão de Curso, Campus Avaré. 2021.

SILVA, J.; RUVIARO, C. Livestock intensification as a climate policy: Lessons from the Brazilian case. Land Use Policy, v. 62, p. 232–245, 2017.

SOARES, B. A utilização de insetos comestíveis como uma fonte de alternativa para alimentação humana, Centro Universitário Estadual da Zona Oeste. Rio de Janeiro, 2019.

STONE, A.K., TANAKA, T. & NICKERSON, M.T. Protein quality and physicochemical properties of commercial cricket and mealworm powders. J Food Sci Technol 56, 3355–3363 (2019). <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03818-2>.

TAGUCHI, V. Insetos no cardápio. Farinha de grilo e formiga frita: criação de insetos como comida vira opção lucrativa para produtores. UOL, 2021. Disponível em: <<https://economia.uol.com.br/reportagens-especiais/agronegocio-criacao-de-insetos->

alimentacao/#cover>. Acesso em: 25/03/2022.

TUNES, S. Insetos comestíveis. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, 2020. Disponível em: <<https://revistapesquisa.fapesp.br/insetos-comestiveis/>>. Acesso em: 04/09/2021.

UNICEF. À medida que mais pessoas não têm o suficiente para comer e a desnutrição persiste, acabar com a fome até 2030 é uma incerteza, alerta relatório da ONU. Fundo das Nações Unidas para a Infância, 2020. Disponível em: <<https://www.unicef.org/brazil/comunicados-de-imprensa/acabar-com-fome-ate-2030-e-incerteza-alerta-relatorio-onu>>. Acesso em 13/09/2021.

United States Department of Agriculture, USDA. FoodData Central Search Results. Disponível em: <<https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/174032/nutrients>>. Acesso em: 28/08/2022.

VAN HUIS, A. Potential of Insects as Food and Feed in Assuring Food Security. Annual Review of Entomology, 2013. Disponível em: <<https://www.annualreviews.org/doi/full/10.1146/annurev-ento-120811-153704>>. Acesso em: 24/03/2022.

VAN HUIS. Did early humans consume insects?. Journal of Insects as Food and Feed, v. 3, p. 161–163, 2017.

VAN HUIS, Arnold. Insects as Human Food. In: Ethnozoology Animals in our Lives. Elsevier Inc., 2018. p. 195–213.

WEMANS, M. Insetos comestíveis: Avaliação Nutricional de duas espécies comercializadas em Portugal. Universidade de Lisboa. 2015.

YEGIN, S. et al. Dietary fiber: a functional food ingredient with physiological benefits. Dietary Sugar, Salt and Fat in Human Health, p. 531–555, 2020.

YI, L. Extraction and characterisation of protein fractions from five insect species. Food

Chemistry, v. 141 (2013), pg 3341–3348. Países Baixos, 2013.

ZAYAS, J. Functionality of Proteins in Food. Kansas State University Dept. of Foods and Nutrition, USA. Kansas, 1997.

ZHANG, Y. Effects and mechanism of dilute acid soaking with ultrasound pretreatment on rice bran protein extraction. *Journal of Cereal Science* 87 (2019), pg 318-324. China, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.04.018>.

ZOZO, B.; WICHT, M.M.; MSHAYISA, V.V.; VAN WYK, J. The Nutritional Quality and Structural Analysis of Black Soldier Fly Larvae Flour before and after Defatting. *Insects* 2022, 13, 168. <https://doi.org/10.3390/insects13020168>.

APÊNDICE A

Legislações vigentes para a criação e comércio de insetos comestíveis no Brasil

No Brasil, como a criação de insetos em escala industrial ainda não é regularizada por um órgão federal, como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) ou o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o controle da quantidade de produtores, ou da existência de empresas produtoras de insetos comestíveis acaba por depender da existência de associações independentes como é o caso da Associação Brasileira de Criadores de Insetos Alimentícios (ASBRACIA). De acordo com TAGUCHI (2021), até junho de 2021, a associação apresentava 56 associados e 22 fábricas produtoras de insetos, distribuídos em amplo território nacional. Tal como observado no site da associação (ASBRACIA, 2016), a ASBRACIA além de organizar congressos e encontros com os produtores, empresas e interessados, visando a troca de informações e padronização de cartilhas de criação, também colabora para o desenvolvimento de livros informativos, como é o caso dos livros “Antropoentomofagia: insetos na alimentação humana”, do autor Eraldo Medeiros Costa Neto (COSTA NETO, 2014), e “Antropoentomofagia e Entomofagia: insetos, a salvação nutricional da humanidade”, produzido por Ramon Santos de Minas e colaboradores (DE MINAS, 2016).

Considerando-se a produção de insetos no Brasil (Tabela 2), compreende-se que a produção e o consumo de insetos para a alimentação humana apresentam um grande potencial de inovação no país. Contudo, devido à falta de incentivo e regularização dessa prática por órgãos federais, a divulgação desse setor em desenvolvimento, com grande abertura para novos empreendimentos, se torna limitada e escassa, mesmo embora se tenha um elevado potencial produtivo.

Atualmente, sabe-se que não há necessidade de autorização pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) ou pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) para a criação de insetos, como é descrito na instrução normativa

IBAMA nº 07, de 30 de abril de 2015, artigo 5º, p.3 (IBAMA, 2015); e na resolução nº 489 do CONAMA, de 26 de outubro de 2018, artigo 2º, p.2 (BRASIL, 2018). Entretanto, não há nenhuma lei que possa regularizar e controlar as espécies que estão sendo criadas, a finalidade da criação, nem a estrutura de criatórios, tanto na área urbana, quanto na área rural. Ainda, em pesquisa nos sítios correspondentes do MAPA, não se encontra nenhuma lei que sugere a criação de insetos para alimentação humana.

Contudo, a resolução da ANVISA RDC nº 49, de 31 de outubro de 2013 (artigos 1º, 5º p.5, 12º) (BRASIL, 2013) rege a venda e consumo de insetos e produtos derivados de insetos de forma indireta. Em tal resolução, é permitido o comércio de produtos em que a atividade seja realizada por microempreendedores individuais e empreendimento familiar rural, de produção artesanal, e de costumes tradicionais da região. Tais atividades são fiscalizadas por órgãos locais de vigilância sanitária nos locais de produção e comercialização (BRASIL, 2013). Ainda, tem-se que o Ministério da Agricultura, embora permita a criação dos insetos, o abatimento e a produção do alimento no mesmo local, exige que tais procedimentos sejam realizados em estruturas independentes e com garantia de preservação da condição sanitária (TUNES, 2020). Salienta-se que o consumo de insetos é considerado um costume tradicional de povos indígenas e de comunidades do interior de todo o Brasil (COSTA NETO e RAMOS-ELOURDY (2006); APODONEPA (2015); TUNES (2020); DE MINAS (2016)).

Para que produtos derivados de insetos possam ser produzidos em larga escala e sofrer transformações industriais, é necessário que empreendedores adquiram a matéria-prima de um produtor com registro no Serviço de Inspeção Federal (SIF), órgão de fiscalização de produtos de origem animal, de acordo com o Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017 (BRASIL, 2017). Ainda, é necessário que, posteriormente, solicitem uma autorização da Anvisa para a produção do alimento por meio da solicitação via código 404, que intenciona a implementação de novos alimentos ou ingredientes (BRASIL, 2016).

Complementa-se que a única lei que se refere a insetos nos processos industriais é a RDC nº 14, de 28 de março de 2014 (BRASIL, 2014), a qual diz sobre a presença de matérias estranhas em alimentos processados que podem causar riscos à saúde humana, além do limite de tolerância das mesmas, em que inclui insetos como baratas, formigas e moscas (BRASIL, 2014). Entretanto, a lei não se refere aos insetos e malefícios destes para a saúde humana, e sim aos hábitos desses insetos nas áreas urbanas, como alimentar-se de fezes, manter contato com o esgoto, serem vetores de microrganismos patogênicos (BRASIL, 2014), pois quando criados em ambientes esterilizados e controlados, insetos se tornam incapazes de transmitir doenças aos seres humanos.

Contudo, casos de alergia em humanos desencadeados por insetos alimentícios já foram previamente descritos, principalmente porque insetos possuem uma certa similaridade taxonômica com crustáceos, que são uma das principais causas de alergia no ocidente (RIBEIRO, 2017). A possibilidade de presença de tropomiosinas e arginina cinases com reatividade cruzada com crustáceos em insetos comestíveis tem sido estudada, bem como outras substâncias como proteínas quimiossensoriais, hexamerina e proteínas de liberação de odor, que são presentes em algumas espécies de insetos comestíveis (BARRE, 2021). Todavia, sabe-se que insetos não comestíveis são as principais fontes de casos alergênicos, e há a necessidade de aprofundamento em estudos para descobrir qual o potencial alergênico de insetos alimentícios em humanos e quais as possíveis espécies (RIBEIRO, 2017; BARRE, 2021).

Referências Bibliográficas

APODONEPA, L. Conhecimento Etnoentomológico Na Comunidade Indígena Umutina (Mato Grosso, Brasil). *Etnobiología, Associação Etnobiológica Mexicana*, v. 13 nº . 3, 2015.

ASBRACIA. Asbracia Associação Brasileira dos Criadores de Insetos Alimentícios. Disponível em: <Asbracia Associação Brasileira dos Criadores de Insetos Alimentícios - Página inicial | Facebook>. Acesso em: 25/02/2022.

BARRE, A. A Proteomic- and Bioinformatic-Based Identification of Specific Allergens from Edible Insects: Probes for Future Detection as Food Ingredients. *Foods*, v.10, 2021. [https://doi.org/ 10.3390/foods10020280](https://doi.org/10.3390/foods10020280).

BRASIL, Ministério do meio ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 489, define as categorias de atividades ou empreendimentos e estabelece critérios gerais para a autorização de uso e manejo, em cativeiro, da fauna silvestre e da fauna exótica. Diário oficial da união, DF, 26 de outubro de 2018. Disponível em: <Resolução Nº 489, de 26 De Outubro De 2018 - Resolução Nº 489, De 26 De Outubro De 2018 - Dou - Imprensa Nacional (in.gov.br)>. Acesso em: 03/03/2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 49, de 31 de outubro de 2013, dispõe sobre a regularização para o exercício de atividade de interesse sanitário do microempreendedor individual, do empreendimento familiar rural e do empreendimento econômico solidário e dá outras providências. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 de out. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 14, de 14 de março de 2014, dispõe sobre matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos e bebidas, seus limites de tolerância e dá outras providências. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 14 de mar. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 14, de 14 de março de 2014, dispõe sobre matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos e bebidas, seus limites de tolerância e dá outras providências. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 14 de mar. 2014.

COSTA-NETO, E.M. e RAMOS-ELORDUY, J. Los insectos comestibles de brasil: etnicidad,

diversidad e importancia en la alimentación. Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa, v. 38, p. 423–442. 2014.

DE MINAS, R. Antropoentomofagia e entomofagia: insetos, a salvação da humanidade. Brasília: Editora Kiron, p. 7–353, 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. República Federativa do Brasil. Instrução Normativa IBAMA nº 07, de 30 de abril de 2015.

RIBEIRO, J. Estudo do potencial dos insetos comestíveis para aplicação na indústria alimentar. Entomophagy: the practice of eating bugs. Universidade do Porto. Portugal, 2017.

TAGUCHI, V. Insetos no cardápio. Farinha de grilo e formiga frita: criação de insetos como comida vira opção lucrativa para produtores. UOL, 2021. Disponível em: <Grilo com chocolate e formiga frita: criar insetos é lucrativo (uol.com.br)>. Acesso em: 25/03/2022.

TUNES, S. Insetos comestíveis. 2020. Disponível em: <Insetos comestíveis : Revista Pesquisa Fapesp>. Acesso em: 04/09/2021.