

UNIVERSIDADE DE TRÁS-OS-MONTES E ALTO DOURO

# **Efeito da desidratação e da congelação sobre a microbiota de insetos edíveis**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM ENGENHARIA ALIMENTAR

**Francisca Albuquerque Melo**

**Orientador:** Luís Avelino da Silva Coutinho Patarata

**Coorientador:** Patrícia Santos Borges



Vila Real, 2019

UNIVERSIDADE DE TRÁS-OS-MONTES E ALTO DOURO

# **Efeito da desidratação e da congelação sobre a microbiota de insetos edíveis**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM ENGENHARIA ALIMENTAR

**Francisca Albuquerque Melo**

**Orientador:** Luís Avelino da Silva Coutinho Patarata

**Coorientador:** Patrícia Santos Borges

**Composição do Júri:**

---

---

---

Vila Real, 2019

**Os Orientadores:**

---

*Luís Avelino da Silva Coutinho Patarata*  
Departamento de Ciências Veterinárias, UTAD

---

*Patrícia Santos Borges*  
Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar, IPLeiria

“Eles não sabem, nem sonham,  
que o sonho comanda a vida,  
que sempre que um homem sonha  
o mundo pula e avança  
como bola colorida  
entre as mãos de uma criança.”

António Gedeão

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro e à cidade de Vila Real, que foram a minha segunda casa durante este percurso. Cinco anos que me fizeram crescer e aprender tanto, que me deixam com a certeza que nunca mais em tão pouco tempo vou ganhar tanto como ganhei aqui.

Ao Professor Doutor Luís Patarata, o meu sincero agradecimento, pela sua preciosa orientação, disponibilidade manifestada e encorajamento constante.

À Professora Patrícia Borges, porque mesmo estando longe, fez questão de se fazer sentir sempre bem perto. Todo o carinho e atenção dispensada durante esta etapa foram muito importantes.

À D. Ana, à D. Helena e ao Márcio Alves, pela paciência e instrução fornecidas durante toda a execução no laboratório. Certamente não teria sido possível sem a vossa ajuda.

À Direção do Mestrado em Engenharia Alimentar e a todos os docentes.

À Lara Dias e à Sofia Faria, pela partilha desta aventura. Foi tão especial graças a vocês.

Ao João Nunes, meu confidente, pelo companheirismo e por todo o apoio e preocupação.

À Carla Ribeiro, minha querida amiga, pela enorme amizade. Por esta bonita caminhada académica que fizeste ao meu lado, sem nunca permitires que a fraqueza me invadisse.

Ao Gonçalo Ferrari, por todo o afeto, carinho e ternura manifestados ao longo destes meses. A tua paciência e generosidade foram determinantes para conclusão desta dissertação.

Aos meus queridos pais e irmão, a minha maior gratidão. Por todo o vosso amor e dedicação. Por todo o esforço e suporte inestimável desde sempre. Sou, sem dúvida, uma mulher cheia de sorte.

## RESUMO

A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) prevê que nos próximos 30 anos a população global atinja nove mil milhões de pessoas, levando a um aumento significativo de requisitos alimentares face aos níveis atuais. A forte pressão sobre recursos ambientais já limitados, aliada ao aumento do custo de produção e comercialização no setor alimentar, força a necessidade de se encontrarem fontes nutricionais alternativas. A entomofagia, uso de insetos como alimento humano, é uma prática altamente nutritiva e sustentável, uma vez que os insetos são ricos em proteínas e gorduras essenciais e a sua produção consome menos água e emite muito menos gases com efeito de estufa do que a maioria da produção agropecuária. No entanto, para que os insetos possam contribuir, num futuro próximo, para uma evolução mais ecológica, é necessário avaliar técnicas de processamento e conservação, provando para as diferentes espécies de insetos edíveis que esses métodos, assim como os produtos finais, são seguros para consumo humano.

O presente trabalho teve como objetivo determinar a microbiota natural de *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio* e avaliar o efeito dos processos de congelação e desidratação sobre a mesma. De modo a avaliar o conhecimento e perceção do consumidor português em relação à entomofagia, foi realizado um inquérito online no qual participaram 419 consumidores do território português.

A microbiota natural das três espécies de insetos revelou-se abundante. Os processos de congelação convencional e ultracongelação não obtiveram efeito letal sobre os microrganismos. O tratamento por liofilização apresentou igualmente contagens elevadas, mas, em contrapartida, a desidratação em estufa e em forno foram os tratamentos que se mostraram mais eficazes na redução da microbiota dos insetos.

As 419 respostas recolhidas de consumidores portugueses indicaram que embora a maioria dos inquiridos já tivesse ouvido falar de entomofagia, o conhecimento sobre os potenciais benefícios nutritivos e ambientais dos insetos edíveis foi mediano. O consumidor revelou ainda uma baixa predisposição para a prática de consumir insetos ou alimentos que incluam insetos como ingrediente.

**Palavras-chave:** Entomofagia; microbiota; congelação; desidratação; consumidores.

## **ABSTRACT**

The Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) forecasts an increase of the world's population to nine billion people in the next 30 years, leading to a significant raise of feeding issues compared to the current levels. The strong pressure over the already limited environmental resources, combined with the increase of the production cost and marketing in the food sector, enhances the necessity of alternative nutritional sources. Entomophagy, the usage of insects as human food, it's a highly nutritive and sustainable feeding practice, since the insects are highly rich on essential proteins and fats and its production consumes less water and emits less greenhouse gases than most of the actual farming practices. However, for the insects to be able to contribute, in a near future, for a more ecologic evolution, it's necessary to evaluate techniques of processing and conservation, proving for the different species of edible insects with those methods, as well as final products, are safe for human consumption.

The goal of this work was to determine the natural microbiota of *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor* and *Zophobas morio* and to evaluate the effect of the freezing and dehydration processes on the same. In order to evaluate the general knowledge and perception of the Portuguese consumer about the entomophagy, an online survey was conducted in which 419 Portuguese consumers participated.

The natural microbiota of the three insect species proved to be abundant. The conventional freezing and deep freezing processes did not have a lethal effect on the microorganisms. The freeze-drying treatment also showed high counts but, in contrast, the laboratory oven and conventional oven dehydration were the treatments that showed to be more effective in reducing the insect microbiota.

The 419 answers collected from Portuguese consumers indicated that although the majority of respondents had already heard about entomophagy, the knowledge about the potential nutritional and environmental benefits of edible insects was medium. The consumer also revealed a low predisposition to the practice of consuming insects or foods that include insects as an ingredient.

**Keywords:** Entomophagy; microbiota; freezing; dehydration; consumers.

## ÍNDICE

AGRADECIMENTOS .....	V
RESUMO .....	VI
ABSTRACT .....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS .....	X
ÍNDICE DE QUADROS .....	XI
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS .....	XII
CAPÍTULO I	
1. Introdução e objetivos .....	2
CAPÍTULO II	
2. Enquadramento teórico.....	5
2.1. Entomofagia.....	5
2.2. Benefício do consumo de insetos.....	7
2.2.1. Benefícios nutricionais .....	7
2.2.2. Benefícios ambientais .....	10
2.2.2.1. Conversão alimentar .....	10
2.2.2.2. Emissões de gases com efeito de estufa .....	11
2.2.2.3. Uso de terra e água .....	11
2.3. Identificação de espécies reconhecidas como alimento humano .....	12
2.4. Enquadramento legal.....	13
2.5. Segurança alimentar .....	14
2.6. Técnicas de conservação de alimentos aplicadas à produção de insetos .....	15
CAPÍTULO III	
3. Efeito da congelação e desidratação sobre a microbiota de <i>Acheta domesticus</i> , <i>Tenebrio molitor</i> e <i>Zophobas morio</i> .....	20
3.1. Materiais e métodos .....	20
3.1.1. Delineamento experimental.....	20
3.1.1.1. Amostragem.....	21
3.1.1.2. Caracterização dos processos de conservação.....	22
3.1.1.3. Determinações microbiológicas.....	23
3.1.2. Tratamento estatístico de dados .....	25
3.2. Resultados e discussão .....	25
3.2.1. Avaliação da microbiota natural.....	25
3.2.2. Avaliação do efeito da congelação sobre a microbiota natural .....	27
3.2.3. Avaliação do efeito da desidratação sobre a microbiota natural .....	29
3.2.4. Avaliação da microbiota patogénica .....	32

3.3. Conclusão.....	32
<b>CAPÍTULO IV</b>	
4. Conhecimentos e percepções do consumidor português em relação a entomofagia .....	35
4.1. Materiais e métodos .....	35
4.1.1. Inquérito e amostragem .....	35
4.1.1.1. Avaliação da consistência e da estrutura interna do questionário .....	36
4.1.2. Tratamento estatístico de dados .....	37
4.2. Resultados e discussão .....	37
4.2.1. Avaliação da percepção e predisposição do consumidor em relação à entomofagia .....	37
4.2.2. Avaliação do conhecimento do consumidor sobre potenciais benefícios de insetos edíveis.....	39
4.2.3. Avaliação da atitude do consumidor face ao consumo de insetos .....	39
4.3. Conclusão.....	42
<b>CAPÍTULO V</b>	
5. Considerações finais .....	45
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	48
<b>ANEXOS</b> .....	57
ANEXO A. Inquérito.....	57
ANEXO B. Lista de comunicações em congresso resultantes do trabalho .....	62

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Número de espécies de insetos edíveis registado, por país (Jongema, 2017). .....	6
<b>Figura 2.</b> Comparação dos teores de proteína (% matéria seca) de insetos com outras fontes alimentares convencionais de origem animal (Adaptado de Ghosh <i>et al.</i> , 2017). .....	8
<b>Figura 3.</b> Comparação dos teores de ácidos gordos polinsaturados (% total de ácidos gordos) de insetos com outras fontes alimentares convencionais de origem animal (Adaptado de Ghosh <i>et al.</i> , 2017). .....	9
<b>Figura 4.</b> Delineamento experimental. ....	20
<b>Figura 5.</b> Grilos da espécie <i>Acheta domesticus</i> (Aki à Bixo, 2019). .....	21
<b>Figura 6.</b> A- Larvas da espécie <i>Tenebrio molitor</i> ; B- Larvas da espécie <i>Zophobas morio</i> (Aki à Bixo, 2019). .....	21
<b>Figura 7.</b> Contagem de microrganismos totais mesófilos (MTM), <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas</i> spp. e bactérias do ácido láctico (BAL) em <i>Acheta domesticus</i> , <i>Tenebrio molitor</i> e <i>Zophobas morio</i> frescos. ....	26
<b>Figura 8.</b> Proporção de consumidores com conhecimento prévio sobre entomofagia e de alimentos com insetos como ingrediente e proporção de consumidores que já consumiram insetos ou alimentos com insetos como ingrediente. ....	38
<b>Figura 9.</b> Proporção de consumidores que estaria disposto a consumir insetos como alternativa à carne/peixe e que estaria disposto a consumir alimentos com insetos como ingrediente. ...	38

## ÍNDICE DE QUADROS

<b>Quadro 1.</b> Técnicas de conservação existentes e emergentes empregadas para preservação de alimentos (Gould, 1996). .....	17
<b>Quadro 2.</b> Contagem de microrganismos totais mesófilos (MTM), <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas</i> spp. e bactérias do ácido láctico (BAL) em <i>Acheta domesticus</i> , <i>Tenebrio molitor</i> e <i>Zophobas morio</i> fresco e conservado por congelação convencional e ultracongelção. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão log ufc/g. ....	28
<b>Quadro 3.</b> Contagem de microrganismos totais mesófilos (MTM), <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas</i> spp. e bactérias do ácido láctico (BAL) em <i>Acheta domesticus</i> , <i>Tenebrio molitor</i> e <i>Zophobas morio</i> frescos e desidratados em estufa, em forno e liofilizados. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão log ufc/g. ....	31
<b>Quadro 4.</b> Estrutura fatorial do questionário. Pesos fatoriais de cada item para cada uma das duas dimensões selecionadas. ....	36
<b>Quadro 5.</b> Conhecimentos dos consumidores face à entomofagia. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão e coeficiente de variação. Padrão das respostas numa escala de 5 pontos. ....	39
<b>Quadro 6.</b> Atitude dos consumidores face ao consumo de insetos. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão e coeficiente de variação. Padrão das respostas numa escala de 5 pontos. ....	40
<b>Quadro 7.</b> Atitude dos consumidores do sexo feminino e do sexo masculino face ao consumo de insetos. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão e coeficiente de variação. Padrão das respostas numa escala de 5 pontos. ....	42

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

°C – Grau Celsius

% – Percentagem

AC – Antes de Cristo

APT – Água Peptonada Tamponada

$a_w$  – Atividade de água

BAL – Bactérias do ácido láctico

BGA – Brilliant Green Agar

CFC – Cephaloridin Fucidine Citrimide Agar

CH<sub>4</sub> – Metano

CO<sub>2</sub> – Dióxido de carbono

EFSA – European Food Safety Authority

FAO - Food and Agriculture Organization

FASFC - Federal Agency for the Safety of the Food Chain

g – Grama

GEE – Gases com efeito de estufa

HKT – Hektoen Enteric Agar

ISA – Iron Sulfite Agar

ISO - International Organization for Standardization

kcal – Quilocaloria

kg – Quilograma

LD – Limite de deteção

log – Logaritmo

Lv – Levítico

Mc – Evangelho de São Marcos

mg – Miligrama

ml – Mililitro

MKT – Muller Kauffman Tetrathionate-novobiocin Broth

mm – Milímetro

MRS – Man Rogosa Sharpe Agar

MTM – Microrganismos totais mesófilos

NaCl – Cloreto de sódio

N<sub>2</sub>O – Óxido nitroso

NVWA - The Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority

PCA – Plate Count Agar

PCR - Polymerase Chain Reaction

RVS – Rappaport Vassiliadis Broth

ufc – Unidades formadoras de colónias

UE – União Europeia

VL – Viande Levure Agar

VRBG – Violet Red bile Glucose Agar

WHO - World and Health Organization





# CAPÍTULO I



## 1. Introdução e objetivos

Os insetos, classe de animais do grupo de artrópodes que possui um exoesqueleto quitinoso, um corpo de três partes, três pares de pernas articuladas, olhos compostos e duas antenas (FAO, 2013), existem há pelo menos 400 milhões de anos, tornando-se entre os primeiros animais terrestres (Bernard & Womeni, 2017). São o maior grupo de animais na terra e constituem cerca de 80% do reino animal, estando presentes em todos os habitats terrestres do planeta. Além da sua quantidade, eles também apresentam uma infinita variedade de cores, formas e tamanhos (Costa-Neto, 2015; Bernard & Womeni, 2017).

A Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) tem avaliado o potencial dos insetos como alimento humano e para animais, salientando “os benefícios nutricionais excepcionais de muitos insetos florestais e (...) o potencial de produzir insetos para alimentação com muito menos impactos ambientais negativos do que muitos alimentos tradicionais consumidos atualmente” (FAO, 2010).

A entomofagia, uso de insetos como alimento, é amplamente praticada, fazendo parte da dieta de pelo menos dois mil milhões de pessoas em todo o mundo (FAO, 2013), com mais de 2000 espécies de insetos atualmente usadas como alimento (Jongema, 2017). Os insetos desempenham um papel fundamental na natureza e na história da nutrição humana, tendo, dessa forma, potencial de contribuir positivamente para a subsistência e para reduzir a desnutrição numa população global em expansão (FAO, 2013; Dobermann *et al.*, 2017).

De acordo com as estimativas, o mundo terá nove mil milhões de habitantes nos próximos 30 anos, prevendo-se assim, que as necessidades de produção de alimentos dupliquem e a escassez de água, a exploração agrícola e a sobrepesca aumentem. O meio ambiente e a biodiversidade estão fortemente ameaçados e torna-se urgente reavaliar hábitos alimentares e encontrar soluções para combater este paradigma (FAO, 2013).

O consumo de insetos oferece uma oportunidade significativa, como um recurso promissor disponível para assegurar um futuro sustentável e ecologicamente responsável (Costa-Neto, 2013), podendo ser “a última grande esperança para salvar o planeta” (Martin, 2014).

Este trabalho teve como objetivo determinar a microbiota natural de três espécies de insetos edíveis produzidos comercialmente em Portugal e avaliar o efeito de processos de conservação sobre a mesma. Com efeito, foram aplicados tratamentos por congelação, nomeadamente congelação convencional e ultracongelação e por desidratação em estufa, em forno e liofilização.



Com o objetivo de avaliar o conhecimento e a percepção do consumidor português em relação à entomofagia e aos seus benefícios para a saúde e ambiente e aferir a sua predisposição para a prática de consumir insetos, foi realizado um inquérito online.



## CAPÍTULO II



## 2. Enquadramento teórico

### 2.1. Entomofagia

Entomofagia define-se como a prática de consumir insetos por qualquer organismo, sendo comumente usada para se referir especificamente ao consumo humano. A palavra entomofagia deriva da união dos termos gregos *entomon* que significa inseto e *fagein* que exprime a noção de ingestão ou hábito alimentar (Pal & Roy, 2014; Kourimská & Adámková, 2016; Raheem *et al.*, 2018).

O consumo de insetos está enraizado na história evolutiva humana, ocupando uma importante e promissora posição na dieta humana desde os tempos antigos (Bernard & Womeni, 2017; Yin *et al.*, 2017). Evidências recolhidas em cavernas de diversos países, sugerem comportamentos entomófagos. Pinturas nas cavernas de Altamira, no norte de Espanha (3000-9000 AC) retratam a colheita de ninhos de abelhas para recolha de larvas. Coprólitos encontrados nas montanhas Ozark, nos Estados Unidos incluíam formigas, larvas de besouros, piolhos ou carrapatos (Mitsuhashi, 2008). Também Aristóteles (384-322 AC) escreveu, na *Historia Animalium*, sobre iguarias de ninfa de cigarra, mencionando ainda que as fêmeas são geralmente mais saborosas após a cópula porque estão cheias de ovos (FAO, 2013).

A entomofagia é um hábito alimentar mais comum nos trópicos, nomeadamente em comunidades africanas, asiáticas e sul-americanas (Fraqueza & Patarata, 2017) e mais ausente nas zonas temperadas (Figura 1). Isto deve-se ao facto de os insetos além de disponíveis em maior número e durante todo o ano, também apresentarem maior tamanho, facilitando o processo de colheita nas zonas tropicais (van Huis, 2017). Além disso, as populações que a praticam sabem quando, como e onde colher os diferentes tipos de recursos entomofágicos, possuindo conhecimentos de como prepará-los e preservá-los (Costa-Neto & Ramos-Elorduy, 2006).

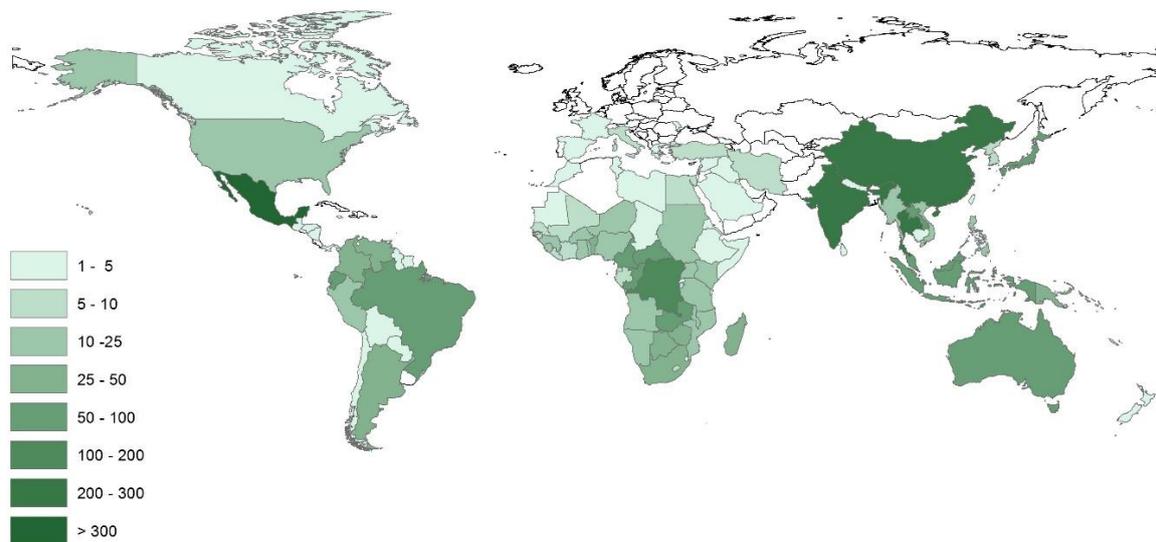
Normalmente, as práticas alimentares são também fortemente influenciadas por crenças religiosas. A prática de comer insetos é citada em todas as escrituras sagradas das religiões mais comuns na Europa (Tomila & Ziehensack, 2017). Tanto o antigo como o novo Testamento da Bíblia apresentam alguns registos do uso de insetos como alimento:

“Mas, entre os insetos voadores que andam sobre quatro patas, podereis comer aqueles que têm além das patas, articulações para poderem saltar em terra. Podeis, então, comer os seguintes: toda a espécie de gafanhotos, de locustas, de saltões e de grilos.” (Lv 11: 21-22)



“João vestia-se de pelos de camelo e trazia uma correia de couro à cintura; alimentava-se de gafanhotos e mel silvestre.” (Mc 1: 6)

No entanto, desde que os insetos comestíveis foram introduzidos nas sociedades europeias não são tradicionalmente consumidos, nem aceites como alimento (Tomila & Ziehensack, 2017). É seguro dizer que a maioria dos países ocidentais reluta considerar a ingestão de insetos, associando-os a um alimento a ser consumido apenas em tempos de extrema escassez de alimentos (Dobermann *et al.*, 2017) e considerando a prática um comportamento primitivo (FAO, 2013).



**Figura 1.** Número de espécies de insetos edíveis registado, por país (Jongema, 2017).

O conceito de neofobia alimentar, receio de experimentar novos produtos, motivado pelo desagrado devido às características organolépticas, pelo medo de risco de doença ou pela repulsa decorrente de impressão prévia da origem do produto, é sugerido como a razão para essa rejeição (Rozin & Fallon, 1980; Tao & Li, 2018).

O maior obstáculo ao consumo de insetos é a questão cultural, hábito naturalmente adquirido ao longo das gerações. Sem uma profunda compreensão das possibilidades e limitações dessa cultura, não é possível promover a entomofagia (Costa-Neto, 2013). A cultura, sob a influência do ambiente, da história, da estrutura familiar e crenças religiosas, dos sistemas políticos e económicos, conjuntamente com o esforço humano, define as regras em relação ao que é ou não comestível (Mela, 1999; FAO, 2013).



## 2.2. Benefício do consumo de insetos

Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO, 2013) a população mundial atingirá, até 2050, nove mil milhões de pessoas. Nas próximas décadas a produção de alimentos precisará de duplicar, colocando inevitavelmente uma forte pressão em recursos já limitados. A terra arável é cada vez mais escassa e a agricultura uma opção raramente viável, uma vez que o setor pecuário usa cerca de 70% da área agrícola disponível. Os oceanos estão sobreexplorados e o setor da aquicultura explodiu, correspondendo a aproximadamente 50% da produção mundial de peixe. Da mesma forma, a escassez de água relacionada com as alterações climáticas pode ter implicações profundas na produção de alimentos.

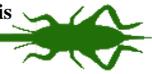
Por outro lado, pelo terceiro ano consecutivo, houve um aumento da fome no mundo. De acordo com o atual relatório do estado da segurança alimentar e nutricional no mundo, o número de pessoas subnutridas, ou seja, aquelas que enfrentam uma privação crónica de alimentos e conseqüentemente um insuficiente consumo de energia, chegou a quase mil milhões, atingindo 11% da população global (FAO, 2018).

O mundo carece de novas tecnologias agrícolas e padrões de consumo alimentar baseados em dietas mais saudáveis e sustentáveis (Sachs, 2010), permitindo corrigir ineficiências e reduzir o desperdício alimentar (FAO, 2013). Os insetos edíveis representam, deste modo, uma alternativa à pecuária tradicional e uma opção vantajosa para a insegurança alimentar presente e futura, particularmente no que se refere a fontes de proteína (Tao & Li, 2018).

### 2.2.1. Benefícios nutricionais

O alto consumo de proteínas de origem animal, particularmente carne vermelha e carne processada, foi identificado como uma das causas do aumento da prevalência de doenças cardiovasculares, diabetes e cancro, em países ocidentais (Godfray *et al.*, 2018).

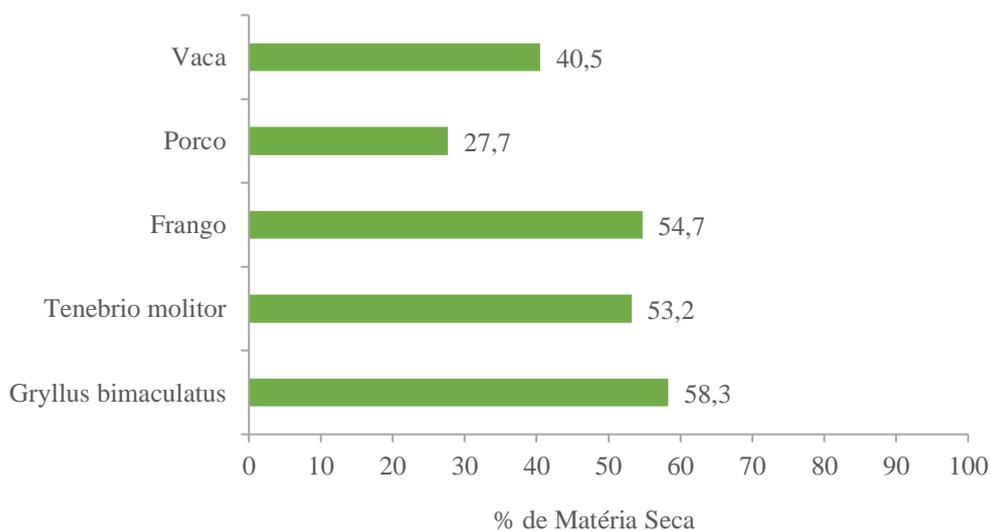
Já em 1975, Meyer-Rochow defendia a entomofagia como um recurso negligenciado para combater o problema da desnutrição e escassez mundial de proteínas. Os insetos são uma fonte de alimento altamente nutritiva e saudável (Bernard & Womeni, 2017), que fornece quantidades satisfatórias de energia e proteínas, atendendo aos requisitos de aminoácidos, vitaminas, fibras e minerais para seres humanos (FAO, 2013). No entanto, as composições nutricionais de insetos edíveis são altamente variáveis, quer entre como dentro das espécies, dependendo essencialmente do estágio metamórfico, habitat e dieta do inseto, bem como dos



métodos de preparação e processamento aplicados antes do consumo (Bernard & Womeni, 2017).

Um estudo realizado na Tailândia demonstrou que 100 g de insetos (peso fresco) apresentavam calorias comparáveis ao mesmo peso de carne de animais normalmente consumidos (Sirimungkararat *et al.*, 2010). Rumpold & Schlüter (2013) descreveram que de uma compilação de 236 composições nutricionais de insetos estudadas em países africanos, americanos e asiáticos, o conteúdo calórico variou de 217 a 777 kcal por 100 g de matéria seca. Os mesmos autores demonstraram ainda que o conteúdo proteico é um componente significativo de insetos comestíveis, compreendendo teores médios de 35% a 60% em 9 ordens analisadas, existindo espécies que atingem 77% de proteína.

Recentemente, Ghosh *et al.*, (2017) indicaram que grilos (*Gryllus bimaculatus*) e larvas do escaravelho da farinha (*Tenebrio molitor*), duas das espécies mais consumidas, oferecem quantidades superiores de proteína quando comparados a outras espécies de animais, como porco ou vaca (Figura 2).



**Figura 2.** Comparação dos teores de proteína (% matéria seca) de insetos com outras fontes alimentares convencionais de origem animal (Adaptado de Ghosh *et al.*, 2017).

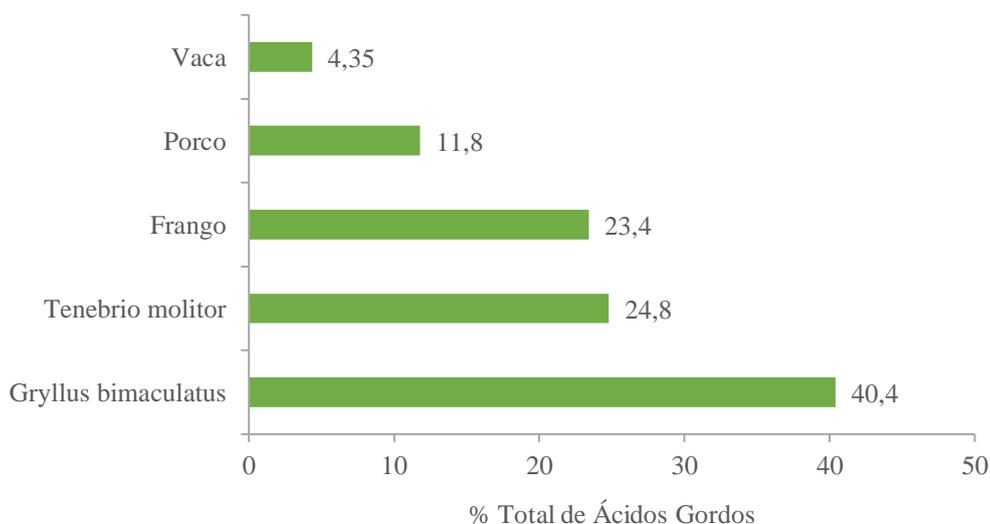
A qualidade da proteína e, portanto, o seu valor nutricional, é determinada tanto pela composição em aminoácidos quanto pela digestibilidade da fração proteica dos alimentos (Belluco *et al.*, 2013). A generalidade dos insetos fornece satisfatoriamente as quantidades de aminoácidos necessárias à nutrição humana. A composição de aminoácidos essenciais atende às recomendações diárias para adultos (Zhao *et al.*, 2016; Akhtar & Isman, 2018) e a



digestibilidade é estimada entre 77% e 98% para a maioria das espécies (Ramos-Elorduy *et al.*, 1997).

Embora este macronutriente seja difícil de obter em países em desenvolvimento e, por isso, esteja frequentemente ausente nas dietas, os insetos são relativamente mais acessíveis do que outras carnes, demonstrando mais uma vez o seu valor como uma solução para reduzir a insegurança alimentar e a desnutrição global (Tao & Li, 2018).

Depois da proteína, a gordura é o componente principal dos insetos. Os resultados de um estudo conduzido por Womeni *et al.* (2009) que investigaram o conteúdo e composição lipídica de vários insetos, mostraram que os insetos eram não só uma excelente fonte de gordura, variando de 9% a 67%, mas também eram ricos em ácidos gordos polinsaturados. Quando comparado com outras fontes alimentares de origem animal, o perfil de ácidos gordos polinsaturados dos insetos apresenta valores bastantes mais elevados (Figura 3) (Payne *et al.*, 2016; Ghosh *et al.*, 2017). Além disso, este tipo de gordura inclui ácidos gordos essenciais, como o ácido linolénico (ómega-3) e o ácido linoleico (ómega-6). A importância nutricional destes dois ácidos gordos essenciais é bem reconhecida, principalmente pelo desenvolvimento saudável de crianças e recém-nascidos e prevenção de doenças cardiovasculares em adultos (Adámková *et al.*, 2017; Paul *et al.*, 2017).



**Figura 3.** Comparação dos teores de ácidos gordos polinsaturados (% total de ácidos gordos determinados em matéria seca) de insetos com outras fontes alimentares convencionais de origem animal (Adaptado de Ghosh *et al.*, 2017).



Por outro lado, os micronutrientes são também essenciais para uma vida saudável. Muitos dos insetos comestíveis contêm abundantes níveis de minerais como cálcio, cobre, ferro e zinco, além de vitaminas como riboflavina e biotina (Rumpold & Schlüter, 2013). Mwangi *et al.* (2018) encontraram teores de ferro de 4 a 62 mg por 100 g de matéria seca em 17 espécies de insetos, enquanto que carne suína e bovina não fornecem mais do que 5 e 9 mg de ferro, respetivamente. Desta forma, os insetos podem melhorar os níveis de ferro e ajudar a prevenir a anemia nos países em desenvolvimento, uma vez que a deficiência de ferro é considerada o distúrbio nutricional mais comum e difundido no mundo (FAO, 2018).

## **2.2.2. Benefícios ambientais**

### **2.2.2.1. Conversão alimentar**

Uma das principais razões pelas quais os insetos são considerados fontes potencialmente sustentáveis de proteína animal é a alta eficiência de conversão alimentar (Dobermann *et al.*, 2017; van Huis & Oonincx, 2017). Os insetos são poiquilotérmicos e por isso não usam o seu metabolismo para regular a temperatura corporal, dependendo apenas do ambiente envolvente e reduzindo, por esse motivo, o uso de energia (Alexander *et al.*, 2017; van Huis & Oonincx, 2017; Tao & Li, 2018).

As taxas de conversão alimentar (alimento necessário para produzir um aumento de 1 kg no peso) variam muito de acordo com a classe animal e práticas de produção aplicadas (FAO, 2013), especialmente a composição das rações (Oonincx *et al.*, 2015).

Estudos mostraram que, para produzir 1 kg de peso de animal vivo, pelo menos 2,5 kg de ração são necessários para carne de aves, 4 kg para carne de porco e 10 kg para carne bovina (Smil, 2002; Wilkinson, 2011). Os insetos exigem muito menos alimento, requerendo apenas 1,7 kg para produzir o mesmo peso (Collavo *et al.*, 2005). Além disso, Nakagari & DeFoliart (1991) estimaram que 80% de um grilo (*Acheta domesticus*) é comestível e digerível, em comparação com 55% para aves e suínos e 40% para bovinos. Isto significa que os grilos são 2 vezes mais eficientes na conversão de alimentos do que as aves, 4 vezes mais do que os suínos e 12 vezes mais do que os bovinos (FAO, 2013), necessitando, desta forma, de muito menos alimento do que qualquer outro animal de pecuária (Jansson & Berggren, 2015).

Do mesmo modo, o potencial dos insetos em produzirem milhares de descendentes que apresentam elevadas taxas de crescimento, incrementam ainda mais a sua eficiência para converter alimentos (Alexander *et al.*, 2017; Tao & Li, 2018).



### 2.2.2.2. Emissões de gases com efeito de estufa

Há consenso de que os maiores contribuintes para as alterações climáticas globais são as emissões de gases com efeito de estufa (GEE), predominantemente dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), metano (CH<sub>4</sub>) e óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) (Dobermann *et al.*, 2017). Embora o dióxido de carbono seja o mais importante GEE, o metano e o óxido nitroso são os que apresentam contribuições mais significativas, dado o seu elevado potencial efeito no fenómeno de aquecimento global – o metano e o óxido nitroso têm 23 e 296 vezes o potencial de aquecimento global do dióxido de carbono, respetivamente (Statham *et al.*, 2017; Godfray *et al.*, 2018).

Emissões de gases com efeito de estufa provenientes da produção animal representam aproximadamente 18% das emissões globais emitidas pelo Homem (van Huis, 2013; Dobermann *et al.*, 2017). A generalidade destes gases é libertada pelos ruminantes, durante a fermentação entérica e pelos seus dejetos (Statham *et al.*, 2017), que por sua vez, também podem levar à nitrificação e acidificação do solo (FAO, 2013).

Segundo Ooninx & de Boer (2012) os insetos apresentam um desempenho favorável quando comparados a bovinos ou suínos. O estudo do impacto ambiental de duas espécies de tenebrionídeos (*Tenebrio molitor* e *Zophobas morio*) quando comparado a fontes convencionais de proteína, indicou 2 a 4 vezes mais emissões em produções suínas e 6 a 13 vezes mais no caso de produções bovinas.

### 2.2.2.3. Uso de terra e água

A forte dependência do consumo de carne exerce uma crescente pressão sobre os produtores e indústrias para criar mais animais. Além de solo, o aumento da pecuária requer também mais ração, o que, por sua vez, leva os agricultores a aumentar a quantidade de terra cultivada à custa de desflorestação e uso de fertilizantes (Dobermann *et al.*, 2017). Evidentemente, a criação de insetos requer notavelmente menos terra do a criação de outras espécies animais (Tao & Li, 2018). Ooninx & de Boer (2012) mostraram que para produzir 1 kg de proteína comestível, as larvas de *Tenebrio molitor* exigiam apenas 10% do solo necessário para a produção de carne de bovino. Devido ao seu óbvio menor tamanho, os insetos comestíveis possuem também o potencial de serem criados verticalmente, não necessitando de qualquer deflorestação adicional para a sua produção (Tao & Li, 2018).

Da mesma forma, a agricultura usa mais água do que qualquer outra atividade humana e quase um terço é empregue na indústria pecuária (Godfray *et al.*, 2018). Estima-se que produzir 1 kg de proteína animal requer 5 a 20 vezes mais água do que produzir 1 kg de proteína



vegetal (Chapagain & Hoekstra, 2003). Por exemplo, produzir 1 kg de carne de frango requer 3500 litros de água (Pimentel *et al.*, 2004), enquanto que produzir a mesma quantidade de carne de bovino requer aproximadamente 22000 litros. No entanto, esta quantidade pode duplicar, tendo em conta consumos indiretos de água, como forragens e grãos (van Huis, 2013).

Miglietta *et al.* (2015) apontam que para larvas de *Tenebrio molitor*, a pegada hídrica média anual é consideravelmente inferior à de outros animais, uma vez que 1 kg de proteína comestível de larvas do escaravelho da farinha precisa 5 vezes menos água em comparação com carne bovina.

Apesar destes benefícios, a aceitação por parte do consumidor continua a ser uma das maiores barreiras à adoção de insetos como fontes viáveis de proteína. Mesmo assim, a história tem mostrado que os padrões alimentares alteram rapidamente (FAO, 2013). A lagosta, anteriormente considerada a “proteína do pobre” que servia para alimentar prisioneiros e escravos no século XVII, é atualmente considerada um alimento requintado. Outro exemplo interessante é o peixe cru e a sua rápida aceitação na forma de sushi (Tao & Li, 2018).

### **2.3. Identificação de espécies reconhecidas como alimento humano**

Estima-se que a entomofagia é praticada em pelo menos 113 países com mais de 2000 espécies de insetos edíveis documentadas (Jongema, 2017).

Globalmente, os insetos mais popularmente consumidos são besouros (Coleoptera, 659 espécies), lagartas (Lepidoptera, 362 espécies), abelhas e formigas (Hymenoptera, 321 espécies), gafanhotos e grilos (Orthoptera, 278 espécies) e cigarras (Hemiptera, 237 espécies) (Jongema, 2017).

O besouro comestível mais popular nos trópicos é o escaravelho da palmeira, *Rynchophorus*, distribuído por toda a África, sul da Ásia e América Latina (Raheem *et al.*, 2018). As larvas da família *Tenebrionidae*, tais como *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus* e *Zophobas morio* são também considerados particularmente adequados para consumo humano, sendo, no entanto, igualmente criados como alimento para répteis, peixes e aves. Do grupo de besouros, normalmente, apenas as larvas das espécies são consumidas (FAO, 2013).

Da ordem Lepidoptera, a lagarta mopane (*Imbrasia belina*), amplamente distribuída pelo sul do continente africano, é sem dúvida a mais consumida e importante economicamente (FAO, 2013). Do mesmo modo, a lagarta de bambu (*Omphisa fuscidentalis*) faz também parte da dieta dos asiáticos (Seni, 2017).



As formigas são iguarias muito procuradas em diversas partes do mundo (Del Toro *et al.*, 2012). Segundo Shen *et al.* (2006) a formiga preta (*Polyrhachis vicina* Roger) é amplamente usada como ingrediente nutricional e processado em vários tónicos e alimentos considerados saudáveis, disponíveis no mercado chinês. Similarmente, as espécies de formiga *Atta mexicana* e *Atta cephalotus* e a larva de *Dolichovespula* são abundantemente procuradas (FAO, 2013).

A grande maioria dos gafanhotos, da ordem Orthoptera, são comestíveis. Como surgem em enxames, o gafanhoto migratório (*Locusta migratória*), gafanhoto do deserto (*Schistocerca gregaria*), gafanhoto vermelho (*Nomadacris septemfasciata*) e gafanhoto castanho (*Locustana pardalina*) são particularmente fáceis de colher (Raheem *et al.*, 2018).

Tal como os gafanhotos, os grilos *Gryllus bimaculatus*, *Teleogryllus occipitalis* e *Teleogryllus mitratus* são colhidos na natureza e consumidos como alimento (Seni, 2017). O grilo doméstico (*Acheta domesticus*) é preferido sobre outras espécies dado o seu corpo mole, bem como o *Brachytrupes portentosus* por apresentar um corpo e cabeça grandes (FAO, 2013).

Os insetos são consumidos em todos os estádios do seu ciclo de vida, como ovos, larvas, ninfas, pupas ou adultos (Loiácono & Margaría, 2013) e com vários métodos de preparação, incluindo cru, frito, cozido, assado ou torrado (Fraqueza & Patarata, 2017). Podem ainda ter apresentações comerciais diferentes, inseto inteiro, congelado, seco ou transformado em farinha ou pasta (Fraqueza & Patarata, 2017).

#### **2.4. Enquadramento legal**

A legislação europeia tem sido escassa no que respeita ao uso e à segurança de insetos edíveis para produção de alimentos para humanos e para animais (Garofalo *et al.*, 2017).

Recentemente, a União Europeia introduziu um novo regulamento sobre novos alimentos, o Regulamento (UE) 2015/2283 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 25 de novembro de 2015, com efeito desde janeiro de 2018. Este regulamento visa clarificar e atualizar condições para que as empresas possam desenvolver e trazer alimentos novos e inovadores para a UE mais facilmente, mantendo um nível elevado de segurança alimentar para os consumidores (Comissão Europeia, 2018). Definidos como “alimentos não utilizados em quantidade significativa para consumo humano na União antes de 15 de maio de 1997”, os novos alimentos ou *novel foods* podem ser alimentos recém desenvolvidos, inovadores ou produzidos com recurso a novas tecnologias e processos, bem como alimentos tradicionalmente consumidos fora da UE. Os insetos, inteiros e respetivas partes, enquadram-se nesta definição



e a sua colocação no mercado requer uma avaliação de segurança e posterior autorização da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) (Regulamento 2015/2283).

Até ao momento foram apresentados pedidos de autorização relativos a quatro espécies, *Acheta domesticus* (grilo doméstico), *Locusta migratória* (gafanhoto doméstico), *Gryllodes sigillatus* (grilo tropical) e *Tenebrio molitor* (larva do escaravelho da farinha), que aguardam parecer da Comissão Europeia (Comissão Europeia, 2019).

## 2.5. Segurança alimentar

Devido ao facto de a União Europeia ter considerado os insetos como *novel food* é esperado que, num futuro próximo, venham a ser autorizados como alimento para animais e seres humanos no espaço europeu. Existem, no entanto, alguns riscos associados à sua produção, processamento e consumo e por esse motivo antes que os insetos possam ser comercializados é necessária uma garantia da sua segurança biológica e química (Mézes, 2018; van der Fels-Klerx *et al.*, 2018).

A criação de insetos para consumo humano tem sido essencialmente baseada em empreendimentos de pequena escala, funcionando como empresas familiares ou desenvolvidas por grupos de agricultores que geralmente criam insetos para os mercados locais. Em contrapartida, as instalações em escala industrial são recentes, surgiram nos últimos anos para intensificar e automatizar a produção de insetos e, por esse motivo, são previstas como o futuro da indústria global (Berggren *et al.*, 2018). Contudo, independentemente da escala de produção, a criação de insetos apresenta as mesmas exigências de outros sistemas de produção animal (EFSA, 2015) e deverá cumprir, igualmente, as mesmas normas de saúde e sanidade de qualquer outro alimento, a fim de garantir a segurança alimentar (Fraqueza & Patarata, 2017). As instalações devem oferecer fontes de água e alimentação adequadas, ou seja, um substrato que forneça energia e nutrientes para o crescimento e desenvolvimento, devem apresentar facilidade em monitorizar e recolher população e possuir um ambiente limpo e seguro (Berggren *et al.*, 2018).

De acordo com os valores reportados de pH, humidade e atividade de água ( $a_w$ ), os insetos apresentam um ambiente favorável à sobrevivência e multiplicação de microrganismos (Vandeweyer *et al.*, 2018) e, por essa razão, a segurança microbiológica deve ser levada em consideração (Fraqueza & Patarata, 2017).

Segundo a EFSA (2015), o substrato usado para alimentar os insetos é identificado como sendo o principal ponto de entrada para contaminações. Porém, a presença de potenciais riscos



microbiológicos para a saúde humana em insetos pode também, além do substrato utilizado, ser afetada pelo ambiente de criação e pelas etapas de processamento entre a produção do substrato e o consumo.

A presença de bactérias patogênicas como *Campylobacter* spp., *Clostridium* spp., *Escherichia coli.*, *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* spp. já foi verificada em diferentes espécies de insetos comestíveis frescos (Stoops *et al.*, 2016; Grabowski & Klein, 2017a; Osimani *et al.*, 2018). Outra bactéria alimentar importante, *Listeria monocytogenes*, nunca foi relatada (EFSA, 2018), porém, *Spiroplasma* spp., um microrganismo associado à doença de Creutzfeldt-Jakob que se caracteriza por uma neurodegeneração incapacitante, foi encontrado em *Tenebrio molitor* (Vandeweyer *et al.*, 2017a; Bastian *et al.*, 2018; Osimani *et al.*, 2018).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2015), 600 milhões de pessoas adoecem depois de ingerir alimentos contaminados, sendo as doenças diarreicas as doenças alimentares mais comuns, causando cerca de 230 mil mortes por ano. Além de possíveis riscos químicos e alergênicos, os insetos podem abrigar uma grande variedade de microrganismos que podem representar potenciais ameaças para a saúde humana e animal (van der Fels-Klerx *et al.*, 2018), no entanto, é importante referir que os riscos associados ao consumo de insetos não são superiores aos associados ao consumo de outros animais (EFSA, 2015).

## **2.6. Técnicas de conservação de alimentos aplicadas à produção de insetos**

Os consumidores estão cada vez mais conscientes dos benefícios e dos riscos para a saúde associados ao consumo de alimentos. De modo a atender às expectativas do consumidor, a indústria alimentar direciona recursos e conhecimentos no sentido de desenvolver produtos saudáveis e seguros (Lado & Yousef, 2002).

A multiplicação e a sobrevivência de microrganismos nos alimentos dependem de parâmetros intrínsecos e extrínsecos. Os parâmetros que são uma parte inerente dos alimentos são referidos como intrínsecos e incluem o pH, o teor de humidade, a atividade de água ( $a_w$ ), o potencial de oxidação-redução, a disponibilidade de nutrientes e a eventual presença de componentes com ação antimicrobiana. Em contrapartida, os parâmetros extrínsecos estão relacionados com ambiente de armazenamento, sendo eles a temperatura e a humidade relativa do meio ambiente, a presença e concentração de gases e de outros microrganismos. Adicionalmente, os parâmetros ditos de processo, são aqueles que estão associados aos métodos de processamento e conservação e têm como resultado essencialmente a redução da microbiota



presente no alimento. Estes métodos incluem tratamentos pelo calor, os mais utilizados, e outros métodos de utilização mais pontual, como a radiação ionizante, alta pressão hidrostática, entre outros (Jay, 2000).

No entanto, as várias formas de deterioração microbiológica são, na grande maioria, evitáveis por meio de uma ampla gama de técnicas de conservação (Quadro 1), tradicionalmente aplicadas para inibir ou inativar a multiplicação microbiana e prolongar assim, a vida útil de produtos alimentares (Gould, 1996; Davidson & Critzer, 2012).

Entre os métodos de conservação, a secagem ao sol é conhecida por ser um método muito popular na preservação de insetos, particularmente em sociedades em que o uso de tecnologia é limitado. Este método, ainda que muito atrativo do ponto de vista ecológico, está limitado pelas oscilações e imprevisibilidades climáticas (van Huis, 2003; Kinyuru *et al.*, 2010; Fombong *et al.*, 2017).

Na Ásia, na Europa e no Norte da América já existem vários fabricantes de produtos de insetos comestíveis desidratados, para serem usados como ingredientes para preparações culinárias (Fraqueza & Patarata, 2017; Melis *et al.*, 2018). Durante a operação de secagem, a água dos insetos é removida por evaporação e ocorre uma significativa redução na microbiota por meio de uma diminuição da atividade de água ( $a_w$ ) (Fellows, 2000). Quanto mais elevada a temperatura do processo, maior a redução, para o mesmo período de secagem (Grabowski & Klein, 2017a).

Uma vez que os insetos são animais poiquilotérmicos, vulgarmente chamados de “sangue frio”, o seu metabolismo diminui com o frio e muitas espécies morrem naturalmente com a chegada do inverno (Dossey *et al.*, 2016). Desta forma, o processo de refrigeração ou congelação é normalmente aplicado para abater os insetos antes de utilizar qualquer outra técnica de conservação suplementar. A congelação também interrompe a atividade microbiológica, permitindo preservar e armazenar os produtos. Tanto a desidratação como a congelação são as operações de processamento e conservação mais críticas na indústria moderna de insetos, uma vez que podem afetar fortemente a qualidade dos produtos finais (Melis *et al.*, 2018). Em alternativa, a liofilização é um processo interessante dado que, ocorre igualmente a baixas temperaturas e resulta em menores perdas nutricionais e sensoriais, mantendo parâmetros como a cor, o aroma, a textura ou o valor nutritivo (Fraqueza & Patarata, 2017; Lenaerts *et al.*, 2018).



**Quadro 1.** Técnicas de conservação existentes e emergentes empregadas para preservação de alimentos (Gould, 1996).

<b>Objetivo</b>	<b>Fator de preservação</b>	<b>Técnica de conservação</b>
<b>Redução ou inibição da multiplicação</b>	Baixa temperatura	Refrigeração e congelação
	Redução da atividade de água ( $a_w$ )	Desidratação, secagem parcial, liofilização
	Restrição da disponibilidade de nutrientes	Compartimentação em emulsões de água em óleo
	Baixo nível de oxigênio	Embalagem a vácuo e azoto
	Alto nível de dióxido de carbono	Embalagem de atmosfera modificada
	Acidificação	Adição de ácidos
	Fermentação alcoólica	Produção de cerveja, vinificação e fortificação
	Conservantes	Adição de conservantes orgânicos e inorgânicos
<b>Inativação de microrganismos</b>	Altas temperaturas	Pasteurização e esterilização
	Irradiação	Irradiação ionizante
	Pressurização	Aplicação de alta pressão hidrostática
	Eletroporação	Descarga elétrica de alta tensão
	Manotermossonicação	Aquecimento com ultrasonicação a pressão ligeiramente elevada
	Lise celular	Adição de enzimas bacteriolíticas

Considerando os altos níveis de gordura da maioria das espécies de insetos, o embalamento deve ser feito sob atmosfera modificada ou vácuo para retardar ou evitar a oxidação lipídica (Ssepuuya *et al.*, 2016; Kinyuru *et al.*, 2018).

Outro método simples de preservação, a acidificação de insetos com vinagre parece ser uma técnica promissora contra a rápida deterioração, ainda que só possa ser aplicada a preparações em que a elevada acidez seja tolerada, quer sensorialmente, quer pela integridade dos produtos (Klunder *et al.*, 2012).



A escolha e otimização dos processos de conservação dependem não apenas das propriedades tecnológicas, funcionais e nutricionais dos insetos, mas também da qualidade que pode ser alcançada. Deste modo, as técnicas disponíveis para o processamento e conservação de insetos para a produção de alimentos devem ser avaliadas quanto à sua capacidade para garantir os mais elevados padrões nutricionais, de qualidade e de segurança nos produtos finais (Melis *et al.*, 2018).



## CAPÍTULO III



### 3. Efeito da congelação e desidratação sobre a microbiota de *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio*

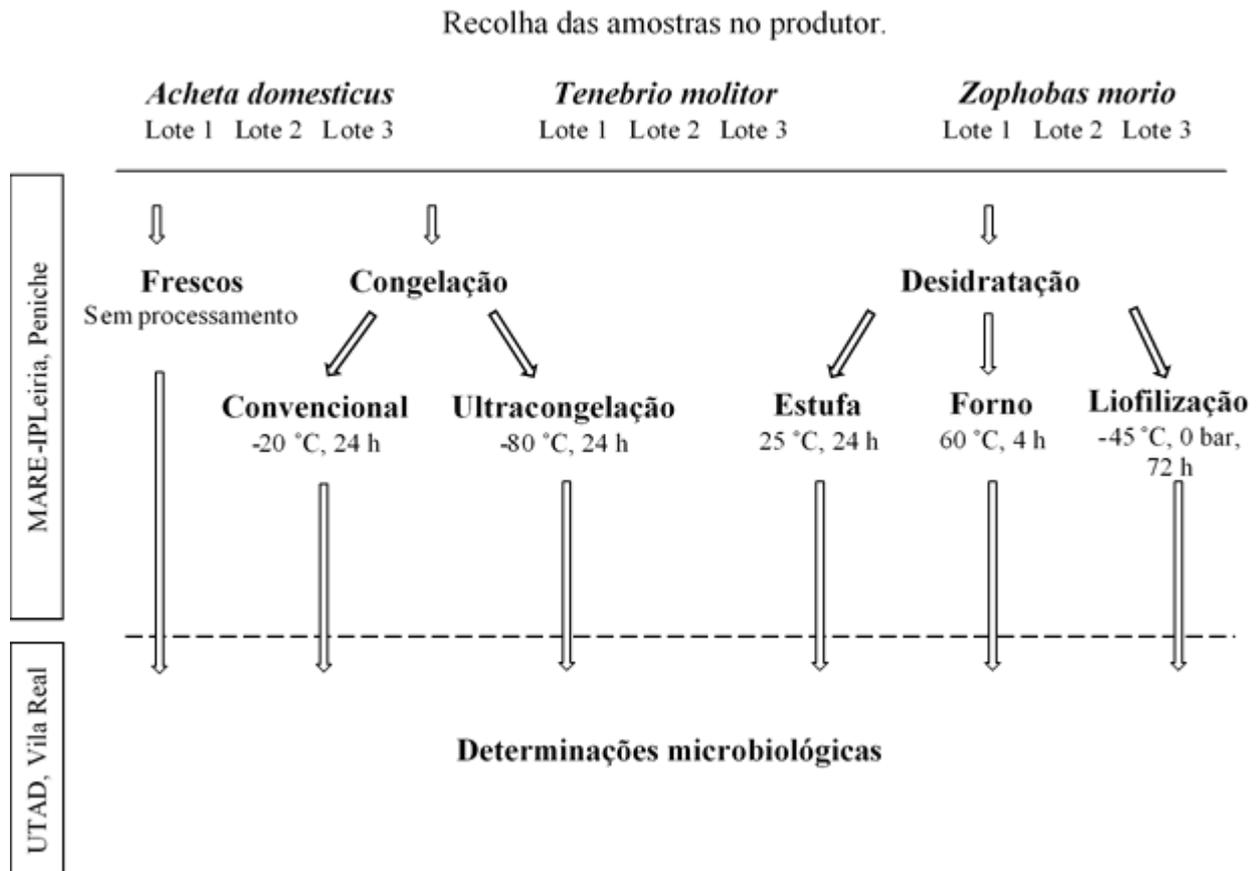
O presente estudo pretendeu determinar a microbiota natural presente em três lotes de três espécies distintas de insetos edíveis frescos e avaliar o efeito de cinco processos de conservação sobre a mesma. Os insetos foram conservados por congelação convencional, por ultracongelação, por desidratação em estufa, desidratação em forno e por liofilização.

A primeira etapa deste projeto, composta pela realização de todos os tratamentos foi desenvolvida nos laboratórios do MARE-IPLeia, em Peniche. A segunda etapa foi, posteriormente, desenvolvida no laboratório de TeQSA da UTAD, em Vila Real, onde se efetuaram as determinações microbiológicas.

#### 3.1. Materiais e métodos

##### 3.1.1. Delineamento experimental

A Figura 4 resume as diversas fases do estudo, bem como os processos que foram efetuados.



**Figura 4.** Delineamento experimental.



### 3.1.1.1. Amostragem

As espécies de insetos utilizadas neste estudo, *Acheta domesticus* (Figura 5), *Tenebrio molitor* (Figura 6A) e *Zophobas morio* (Figura 6B) foram adquiridas na empresa ‘Aki à Bixo’, especialista na criação de insetos para alimento vivo de aves e répteis, com sede em Lisboa.



**Figura 5.** Grilos da espécie *Acheta domesticus* (Aki à Bixo, 2019).



**Figura 6.** A- Larvas da espécie *Tenebrio molitor*; B- Larvas da espécie *Zophobas morio* (Aki à Bixo, 2019).

Os insetos foram criados com farelo de trigo e pedaços de cenouras ou maçãs frescas como fonte de hidratação, em caixas plásticas empilhadas com dimensões de 600x400x180 mm. A produção foi efetuada em ambiente com uma humidade relativa entre 50% a 60% e temperatura entre 25 °C a 28 °C para as espécies *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio* e entre 30 °C a 32 °C para grilos *Acheta domesticus*, com luz presente durante o período diurno.



As espécies *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio* foram colhidas na fase larvar, enquanto que os grilos da espécie *Acheta domesticus* foram colhidos na fase adulta (imago). Os diferentes lotes de cada espécie de inseto foram provenientes de diferentes caixas de criação.

As amostras de larvas e de grilos frescas foram mantidas vivas em recipientes plásticos fornecidos pelo produtor, devidamente arejadas e acondicionadas com substrato de origem e à temperatura ambiente até serem realizadas as determinações microbiológicas. Todos os insetos analisados foram mantidos em jejum por um período de 16 horas para redução do conteúdo intestinal. Após esse período e antes de qualquer tratamento, todas as amostras de larvas de *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio* foram mortas por imersão em água a uma temperatura de 85 °C, enquanto que os grilos foram abatidos num abatedor de temperatura (CF 031 AF MAGNUS, Belluno, Italy) a -18 °C durante 30 minutos. Os mesmos procedimentos foram aplicados às amostras frescas para a realização das determinações microbiológicas.

### **3.1.1.2. Caraterização dos processos de conservação**

#### **Congelação convencional**

O processo de congelação convencional foi realizado utilizando uma arca congeladora horizontal (HSA47520 Beko, Istanbul, Turkey). As amostras foram seladas hermeticamente em sacos de polietileno e colocadas a -20 °C durante 24 horas.

#### **Ultracongelação**

O processo de ultracongelação foi realizado utilizando um ultracongelador (HFU400TV Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EUA). As amostras foram seladas hermeticamente em sacos de polietileno e colocadas a -80 °C durante 24 horas.

#### **Desidratação em estufa**

O processo de desidratação em estufa foi realizado utilizando uma estufa de laboratório (UF450 Memmert, Schwabach, Germany). As amostras foram dispostas uniformemente em bandejas e colocadas a 25 °C durante 24 horas. Após esse período, as amostras foram seladas hermeticamente em sacos de polietileno e armazenadas em temperatura ambiente.

#### **Desidratação em forno**

O processo de desidratação em forno foi realizado utilizando um forno convetor (MM100 EEP Foinox, Codognè, Italy). As amostras foram dispostas uniformemente em



bandejas e colocadas a 60 °C durante 4 horas. Após este período, as amostras foram seladas hermeticamente em sacos de polietileno e armazenadas em temperatura ambiente.

### **Liofilização**

O processo de liofilização foi realizado utilizando um liofilizador (CoolSafe 55-4 Labogene, Allerød, Denmark). As amostras foram colocadas em tubos falcon, congeladas num ultracongelador (HFU400TV Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EUA) a -80 °C durante 24 horas e posteriormente liofilizadas em vácuo, a uma temperatura de -46 °C e pressão 0 bar durante 72 horas.

#### **3.1.1.3. Determinações microbiológicas**

Foram efetuadas contagens de microrganismos em insetos frescos e após processamento. A microbiota avaliada incluiu bactérias do ácido láctico (BAL), *Enterobacteriaceae*, microrganismos totais mesófilos, *Pseudomonas* spp. e esporo de clostrídios sulfito-redutores. Foi ainda realizada pesquisa de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp.

#### **Preparação das diluições e sementeiras**

A contagem da microbiota natural e a pesquisa dos dois patogênicos foram realizadas a partir da diluição de 5 g de amostra em 45 ml de APT (Água Peptonada Tamponada) em sacos de polietileno com filtro lateral, homogeneizados em aparelho *Stomacher* durante 90 segundos. A partir da solução-mãe preparada foram efetuadas diluições decimais sucessivas em 9 ml de solução NaCl 0,9%. Seguidamente, foram realizadas sementeiras em superfície ou por incorporação nos respetivos meios de cultura, dependendo da análise microbiológica a efetuar.

#### **Contagem de microrganismos totais mesófilos (MTM)**

De acordo com a Norma ISO 4833 de 1991, foi efetuada sementeira por incorporação de 1 ml da solução-mãe e das respetivas diluições em meio de cultura PCA (Plate Count Agar, Biokar). As placas foram incubadas a 30 °C durante 72 horas e após esse período efetuou-se a contagem de colónias, sendo os resultados expressos em log ufc/g.



### **Contagem de bactérias do ácido lático (BAL)**

De acordo com a Norma ISO 15214 de 1998, foi efetuada sementeira por incorporação de 1 ml das respetivas diluições em meio de cultura MRS (Man Rogosa Sharpe Agar, Biokar) por dupla camada. As placas foram incubadas a 30 °C durante 72 horas e após esse período efetuou-se a contagem de colónias, sendo os resultados expressos em log ufc/g.

### **Contagem de *Enterobacteriaceae***

De acordo com a Norma ISO 21528-2 de 2004, foi efetuada sementeira por incorporação de 1 ml da solução-mãe e das respetivas diluições em meio de cultura VRBG (Violet Red Bile Glucose Agar, Biokar) por dupla camada. As placas foram incubadas a 37 °C durante 24 horas e após esse período efetuou-se a contagem de colónias típicas de coloração púrpura, sendo os resultados expressos em log ufc/g.

### **Contagem de *Pseudomonas spp.***

De acordo com a Norma ISO 13720 de 2010, foi efetuada sementeira em superfície de 0,1 ml da solução-mãe em meio de cultura CFC (Cephaloridin Fucidine Citrimide Agar, Biokar). As placas foram incubadas a 30 °C durante 72 horas e após esse período efetuou-se a contagem de colónias, sendo os resultados expressos em log ufc/g.

### **Pesquisa de esporos de clostrídios sulfito-redutores**

De acordo com a Norma ISO 15213 de 2003, foi efetuada sementeira por incorporação de 1 ml da solução-mãe e das respetivas diluições, previamente inativadas por choque térmico num banho de água a 80 °C durante 10 minutos e arrefecidas em água fria, em meio de cultura ISA (Iron Sulfite Agar) preparado a partir dos ingredientes de base. As placas foram colocadas numa jarra de anaerobiose e incubadas a 37 °C durante 5 dias e após esse período, efetuou-se a contagem de colónias típicas negras e com enegrecimento do meio de cultura. Os resultados foram expressos em log ufc/g.

### **Contagem de *Listeria monocytogenes***

Com base na Norma ISO 11290-2 de 1998, a contagem de *Listeria monocytogenes* efetuou-se a partir de sementeira em superfície de 0,1 ml da solução-mãe em meio de cultura Oxford Agar (Biokar). As placas foram incubadas a 37 °C, durante 24 horas e após esse período



efetuou-se a contagem de colónias típicas de tonalidade azul-esverdeada rodeadas por um halo negro e centro negro em depressão. Os resultados foram expressos em log ufc/g.

### **Pesquisa e contagem de *Salmonella* spp.**

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi realizada basicamente de acordo com o procedimento da Norma ISO 21528-2 de 2004. Incubou-se a diluição inicial de 5 g de amostra em 45 ml de APT (Água Peptonada Tamponada) a 37 °C durante 16 a 18 horas. Retirou-se 0,1 ml do pré-enriquecimento para um tubo com 10 ml de meio RVS (Rappaport Vassiliadis Broth, Biokar) e incubou-se a 41,5 °C durante 24 horas. Retirou-se 1 ml para um tubo com 10 ml de meio MKT (Muller Kauffmann Tetrathionate-novobiocin broth, Biokar) e incubou-se a 37 °C durante 24 horas. Deste enriquecimento seletivo fizeram-se sementeiras por esgotamento em meio HKT (Hektoen Enteric Agar, Biokar) e em BGA (Brilliant Green Agar, Biokar) e incubaram-se a 37 °C durante 24 horas. O procedimento inclui o isolamento de colónias típicas e confirmação, que seria para ser realizado por PCR específico de espécie, tal como descrito em Talon *et al.* (2007), no entanto não foi realizado pois não foram detetadas colónias suspeitas.

#### **3.1.2. Tratamento estatístico de dados**

Todos os dados recolhidos foram tratados estatisticamente recorrendo ao programa SPSS 25.0 (SPSS Inc., Chicago). As variáveis contínuas foram comparadas por análise de variância simples, recorrendo-se ao teste de Tukey para localizar diferenças entre médias. Considerou-se uma diferença estatisticamente significativa quando  $p < 0,05$ .

### **3.2. Resultados e discussão**

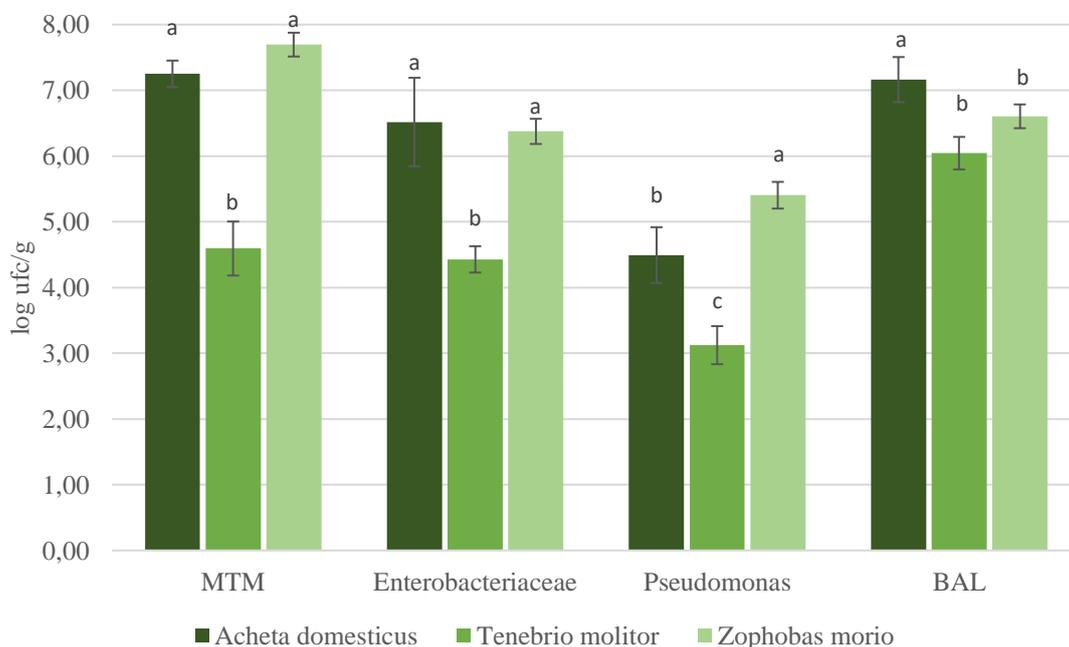
#### **3.2.1. Avaliação da microbiota natural**

As contagens de microrganismos em *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio* frescos são apresentados na Figura 7. A partir da sua análise verificou-se que os insetos analisados apresentavam uma microbiota elevada, destacando-se as amostras de *Acheta domesticus* e *Zophobas morio*. *Tenebrio molitor* foi a espécie que apresentou uma menor contaminação, com contagens inferiores de MTM, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas* spp. No caso de BAL, as amostras de *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio* apresentaram uma contagem semelhante. As contagens de clostrídios sulfito-redutores estiveram abaixo do limite de deteção do método (1 log ufc/g) nas três espécies de insetos.



Vandeweyer *et al.* (2017b) através da análise de amostras frescas não jejuadas de *Acheta domesticus* provenientes de três produtores diferentes, destacaram contagens médias de 8,4 log ufc/g para MTM, 7,7 log ufc/g para *Enterobacteriaceae* e 7,9 log ufc/g para BAL, valores superiores aos obtidos no presente estudo. Do mesmo modo, Stoops *et al.* (2016) avaliaram a microbiota natural em três lotes de larvas de *Tenebrio molitor* e obtiveram contagens de aproximadamente 8 log ufc/g para MTM, 7 log ufc/g para *Enterobacteriaceae* e contagens entre 7 e 8 log ufc/g para BAL. Segundo os autores, estes resultados podem estar relacionados com as condições de higiene durante o processo de criação, uma vez que não foi possível obter nenhuma informação sobre o mesmo e sobre o produtor.

Valores semelhantes aos obtidos neste estudo foram retratados por Grabowski & Klein (2017b) em amostras frescas de *Zophobas morio* não jejuadas. A análise revelou contagens de aproximadamente 7 log ufc/g para *Enterobacteriaceae*.



**Figura 7.** Contagem de microrganismos totais mesófilos (MTM), *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. e bactérias do ácido lático (BAL) em *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio* frescos. ab - Médias seguidas de letras diferentes no mesmo microrganismo apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

Atualmente, não existem critérios microbiológicos específicos para insetos edíveis. Alguns Estados Membros, tais como a Bélgica e Holanda, já têm recomendações para esta matriz alimentar. De acordo com a Agência Federal para a Segurança da Cadeia Alimentar (FASFC) e Autoridade de Segurança dos Produtos de Consumo e Alimentação da Holanda (NVWA), os critérios de higiene do processo para carne fresca picada descritos no Regulamento



(CE) 2073/2005, podem aplicar-se aos insetos (FASFC, 2014; NVWA, 2014). Segundo o Regulamento (CE) 1441/2007 da Comissão, de 5 de Dezembro de 2007 que altera o Regulamento (CE) 2073/2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios, as contagens obtidas para colónias aeróbias a 30 °C são satisfatórias quando são inferiores a 5,7 log ufc/g e aceitáveis entre 5,7 e 6,7 log ufc/g, tomando por exemplo as exigências para a carne picada. Embora no presente trabalho não tenham sido estudados cinco lotes diferentes, conforme definido nos critérios, os valores obtidos (Figura 7) para MTM foram considerados satisfatórios no caso de *Tenebrio molitor* mas insatisfatórios para *Acheta domesticus* e *Zophobas morio* frescos, uma vez que excederam o limite aceitável.

A microbiota encontrada (Figura 7) é muito superior à detetada em carne e pescado frescos, podendo atingir-se contagens desta ordem de grandeza apenas no fim da validade (Adams & Moss, 2000). Isto deve-se, de entre outros motivos ao facto de os insetos não serem eviscerados, e apesar do jejum a que foram submetidos antes da análise, a amostra revelou sempre a inclusão de conteúdos intestinais que são sempre as partes do animal mais contaminadas.

Recentemente, Peruzy *et al.* (2019) também descreveram um resultado insatisfatório para MTM, aproximadamente 7 log ufc/g, em amostras carne fresca de porco picada de diversos supermercados italianos. Além disso, obtiveram o valor de 7,28 log ufc/g para *Pseudomonas* spp., que se mostrou superior ao resultado apresentado na Figura 7 para qualquer uma das três espécies em estudo.

### 3.2.2. Avaliação do efeito da congelação sobre a microbiota natural

Os resultados das contagens de microrganismos em *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio* frescos e após tratamentos por congelação convencional e ultracongelação são apresentados no Quadro 2. Nas três espécies, as contagens de clostrídios sulfito-redutores estiveram abaixo do limite de deteção do método (1 log ufc/g).

O efeito da congelação sobre os MTM foi muito reduzido. Em *Zophobas morio*, a contagem de MTM foi ligeiramente menor nas amostras congeladas, ainda que com o teste de localização de diferenças entre médias utilizado não foi possível detetá-las. No mesmo sentido, não se observaram diferenças na contagem de *Enterobacteriaceae* entre as amostras frescas ou congeladas, por qualquer um dos métodos testados.

No caso de *Pseudomonas* spp. a congelação manifestou alguma letalidade em *Acheta domesticus* e *Zophobas morio*, determinando diferenças altamente significativas entre as



amostras frescas e as congeladas. Esta letalidade poder-se-á dever às alterações do lipopolissacarídeo que compõe a camada externa da parede celular das bactérias, levando a que algumas das funções membranares fiquem comprometidas, nomeadamente a perda de catiões, reduzindo assim a viabilidade do microrganismo após descongelação (Boziaris & Adams, 2008).

No caso das BAL apenas em *Tenebrio molitor* se verificou uma redução altamente significativa na multiplicação de bactérias. A baixa temperatura e subsequente cristalização de gelo durante o processo de congelamento pode provocar danos celulares. A formação de cristais de gelo ocorre primeiro nos espaços extracelulares criando um ambiente hiperosmótico, que por sua vez retira água das células. À medida que o processo progride pode haver danos em organitos celulares, o que compromete definitivamente a viabilidade do microrganismo (Kwon *et al.*, 2018).

**Quadro 2.** Contagem de microrganismos totais mesófilos (MTM), *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. e bactérias do ácido láctico (BAL) em *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio* fresco e conservado por congelação convencional e ultracongelação. Resultados expressos em média  $\pm$  desvio padrão log ufc/g.

Inseto	MTM	<i>Enterobact.</i>	<i>Pseudomonas</i>	BAL
Tratamento				
<i>Acheta domesticus</i>				
Fresco	7,25 $\pm$ 0,20	6,52 $\pm$ 0,67	4,49 $\pm$ 0,43 <sup>a</sup>	7,16 $\pm$ 0,34
Congelado	7,33 $\pm$ 0,37	6,59 $\pm$ 0,51	2,56 $\pm$ 0,23 <sup>b</sup>	6,82 $\pm$ 0,54
Ultracongelado	7,56 $\pm$ 0,20	6,67 $\pm$ 0,25	2,38 $\pm$ 0,30 <sup>b</sup>	6,44 $\pm$ 0,84
p-value	0,406	0,934	< 0,001	0,398
<i>Tenebrio molitor</i>				
Fresco	4,59 $\pm$ 0,41	4,43 $\pm$ 0,20	3,12 $\pm$ 0,29	6,04 $\pm$ 0,25 <sup>a</sup>
Congelado	4,26 $\pm$ 0,04	4,37 $\pm$ 0,18	3,00 $\pm$ 0,10	4,53 $\pm$ 0,20 <sup>b</sup>
Ultracongelado	4,33 $\pm$ 0,24	4,48 $\pm$ 0,36	2,92 $\pm$ 0,46	4,20 $\pm$ 0,24 <sup>b</sup>
p-value	0,364	0,866	0,741	< 0,001
<i>Zophobas morio</i>				
Fresco	7,70 $\pm$ 0,18	6,37 $\pm$ 0,19	5,40 $\pm$ 0,20 <sup>b</sup>	6,60 $\pm$ 0,18
Congelado	7,31 $\pm$ 0,16	6,48 $\pm$ 0,46	3,71 $\pm$ 0,24 <sup>a</sup>	6,77 $\pm$ 0,24
Ultracongelado	7,15 $\pm$ 0,19	6,35 $\pm$ 0,08	4,20 $\pm$ 0,05 <sup>c</sup>	6,62 $\pm$ 0,38
p-value	0,024	0,835	< 0,001	0,727

ab - Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, e para o mesmo inseto, apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).



Adámek *et al.* (2018) num estudo efetuado em insetos edíveis sujeitos a congelação convencional, obtiveram contagens compreendidas entre 5 e 7 log ufc/g para *Enterobacteriaceae* e BAL em *Tenebrio molitor*, valores superiores aos observados no presente estudo.

De um modo geral e como observado anteriormente (Quadro 2) a congelação é um método de conservação que não tem um efeito letal expectável sobre os microrganismos. Segundo Blond & Le Meste (2004) e Augusto *et al.* (2018), os alimentos congelados estão longe de ser estéreis e seguros para consumo. Embora algumas reações sejam interrompidas, como é o caso da multiplicação microbiana, muitos microrganismos não são destruídos pelo processo e entram em estado de latência, retomando a sua atividade quando a temperatura se torna favorável e a água retorna ao estado líquido.

Da análise feita a amostras de carne de frango de três cadeias de supermercados congeladas a -12 °C verificou-se a contagem para MTM de 4,15 log ufc/g (Fernandes *et al.*, 2016), valor muito aproximado do obtido neste estudo para *Tenebrio molitor*. Esta contagem parece ir ao encontro com o valor apresentado por Medić *et al.* (2018) em carne de porco congelada a -20 °C, durante 3 meses. Contagens inferiores às obtidas no presente trabalho foram igualmente obtidas em amostras de filetes de peixe gato vietnamita de seis marcas diferentes, a -20 °C, com valores entre 4 e 5 log ufc/g e 2 e 4 log ufc/g para MTM e *Enterobacteriaceae*, respectivamente (Thi *et al.*, 2016).

### 3.2.3. Avaliação do efeito da desidratação sobre a microbiota natural

Os resultados das contagens de microrganismos em *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio* frescos e após tratamentos por desidratação em estufa, em forno e por liofilização são apresentados no Quadro 3.

Para MTM verificou-se que, com exceção da desidratação em forno, todos os tratamentos revelaram uma letalidade marginal na microbiota dos três insetos estudados e, no caso particular das larvas de *Tenebrio molitor*, as contagens não foram mesmo ao encontro do esperado uma vez que a contagem mais elevada se verificou na desidratação em estufa, com um aumento de aproximadamente 1,7 log ufc/g em relação ao valor em fresco. Como os microrganismos mesófilos se multiplicam entre 20 °C e 45 °C, com a temperatura ótima a rondar os 30 °C (Jay, 2000) é compreensível que este grupo de microrganismos tenha apresentado quantidades elevadas após tratamento em estufa a 25 °C, pois enquanto não houve perda de água suficiente para inativar os microrganismos, esses ter-se-ão multiplicado.



Nas espécies *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio* desidratadas em estufa e forno, a quantidade de *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas* spp. mostrou-se inferior ao limite de detecção (LD) do método (1 e 2 log ufc/g, respectivamente). O mesmo verificou-se também para *Pseudomonas* spp. em *Acheta domesticus* mas apenas no tratamento por desidratação em forno. Segundo Adams & Moss (2000) as bactérias Gram negativas são mais sensíveis à reduzida atividade de água ( $a_w$ ), resultando num efeito letal mais acentuado. Por exemplo, as espécies de *Pseudomonas* não se multiplicam em meios com valor inferior a 0,94, tornando-as desta forma, muito suscetíveis à desidratação (Chordash & Potter, 1972).

No caso das BAL, a liofilização foi a única que não apresentou nenhum efeito redutor na multiplicação de bactérias nas três espécies estudadas. Em *Tenebrio molitor*, destaca-se o resultado obtido na desidratação em forno, uma vez que o valor se encontrou inferior ao limite de detecção (LD) (1 log ufc/g).

No que se refere às contagens de clostrídios sulfito-redutores, estas encontraram-se abaixo do limite de detecção do método (1 log ufc/g) nas três espécies de insetos desidratadas.

Recentemente, Caparros Megido *et al.* (2018) testaram o efeito da desidratação em forno, a 70 °C durante 30 minutos na microbiota de larvas do escaravelho da farinha com um jejum de 24 horas e obtiveram o valor de 6,1 log ufc/g. Embora o valor não esteja em concordância com o valor obtido neste estudo, 3,37 log ufc/g, aqueles autores sugerem que esta diferença pode ter origem no curto período de tempo de tratamento aplicado.

Grabowski & Klein (2017c) num estudo efetuado em grilos da espécie *Gryllus bimaculatus* sujeitos a tratamento por desidratação em estufa, a 60 °C durante 24 horas, obtiveram a contagem de aproximadamente 7 log ufc/g para *Enterobacteriaceae*. O valor é consideravelmente superior aos observados no presente trabalho, quer para o tratamento por desidratação em estufa, quer por desidratação em forno, no entanto, a microbiota de um produto desidratado é muito dependente da contaminação inicial antes do tratamento térmico, pelo que essa comparação deve ser feita com as devidas reservas. No mesmo estudo, em amostras de *Zophobas morio* sujeitas ao mesmo tratamento, os autores relataram a contagem de 4,15 log ufc/g para *Enterobacteriaceae*, não mostrando novamente concordância com os resultados apresentados no Quadro 3.

A desidratação é um processo de conservação que se baseia na redução da atividade da água ( $a_w$ ) do alimento. Essa redução tem um efeito essencialmente bacteriostático, podendo ter um efeito bactericida residual. No entanto, se a temperatura usada durante a desidratação for suficientemente elevada, poderá haver uma redução significativa da microbiota por ação do



calor (Adams & Moss, 2000). Os resultados do presente trabalho (Quadro 3) apontam nesse sentido, já que a desidratação em forno, como foi realizada a uma temperatura de 60 °C, contribuiu para a redução da contagem de microrganismos pela ação do calor, dado que essa temperatura já tem um efeito letal assinalável, e pela redução da atividade da água ( $a_w$ ). Na desidratação em estufa, realizada a 25 °C, não há nenhum efeito direto da temperatura, mas sim da reduzida atividade de água ( $a_w$ ).

**Quadro 3.** Contagem de microrganismos totais mesófilos (MTM), *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. e bactérias do ácido lático (BAL) em *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio* frescos e desidratados em estufa, em forno e liofilizados. Resultados expressos em média  $\pm$  desvio padrão log ufc/g.

Inseto	MTM	<i>Enterobact.</i>	<i>Pseudomonas</i>	BAL
Tratamento				
<b><i>Acheta domesticus</i></b>				
Fresco	7,25 $\pm$ 0,20 <sup>b</sup>	6,52 $\pm$ 0,67 <sup>c</sup>	4,49 $\pm$ 0,43 <sup>b</sup>	7,16 $\pm$ 0,34 <sup>b</sup>
D. Estufa	6,97 $\pm$ 0,67 <sup>b</sup>	4,26 $\pm$ 0,21 <sup>ab</sup>	1,64 $\pm$ 1,44 <sup>ab</sup>	2,87 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>
D. Forno	3,46 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	3,17 $\pm$ 0,41 <sup>a</sup>	< LD <sup>a</sup>	2,24 $\pm$ 0,89 <sup>a</sup>
Liofilizado	7,23 $\pm$ 0,30 <sup>b</sup>	5,11 $\pm$ 0,50 <sup>b</sup>	1,98 $\pm$ 1,72 <sup>ab</sup>	6,64 $\pm$ 0,32 <sup>b</sup>
p-value	<0,001	<0,001	0,009	<0,001
<b><i>Tenebrio molitor</i></b>				
Fresco	4,59 $\pm$ 0,41 <sup>ab</sup>	4,43 $\pm$ 0,20 <sup>b</sup>	3,12 $\pm$ 0,29 <sup>b</sup>	6,04 $\pm$ 0,25 <sup>c</sup>
D. Estufa	6,28 $\pm$ 0,75 <sup>b</sup>	< LD <sup>a</sup>	< LD <sup>a</sup>	3,13 $\pm$ 0,71 <sup>b</sup>
D. Forno	3,37 $\pm$ 0,20 <sup>a</sup>	< LD <sup>a</sup>	< LD <sup>a</sup>	< LD <sup>a</sup>
Liofilizado	5,06 $\pm$ 1,13 <sup>ab</sup>	4,74 $\pm$ 0,45 <sup>b</sup>	1,13 $\pm$ 1,97 <sup>b</sup>	5,82 $\pm$ 0,36 <sup>c</sup>
p-value	0,007	<0,001	0,015	<0,001
<b><i>Zophobas morio</i></b>				
Fresco	7,70 $\pm$ 0,18 <sup>d</sup>	6,37 $\pm$ 0,19 <sup>c</sup>	5,40 $\pm$ 0,20 <sup>c</sup>	6,60 $\pm$ 0,18 <sup>c</sup>
D. Estufa	5,24 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	< LD <sup>a</sup>	< LD <sup>a</sup>	4,20 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>
D. Forno	3,01 $\pm$ 0,15 <sup>b</sup>	< LD <sup>a</sup>	< LD <sup>a</sup>	0,64 $\pm$ 1,11 <sup>a</sup>
Liofilizado	7,04 $\pm$ 0,43 <sup>c</sup>	5,86 $\pm$ 0,27 <sup>b</sup>	3,14 $\pm$ 0,60 <sup>b</sup>	6,21 $\pm$ 0,33 <sup>c</sup>
p-value	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

ab - Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, para o mesmo inseto, apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).  
LD - Limite de Detecção; para efeitos de cálculo considerou-se 0.

A liofilização foi o tratamento que melhor preservou os microrganismos. Grabowski & Klein (2017c) explicaram que embora a liofilização seja frequentemente utilizada para obter



alimentos seguros com um prazo de validade relativamente longo (se armazenado adequadamente em local fresco e seco), tem sido também utilizada, ao longo de décadas, como um método eficiente para preservar bactérias e fungos. A associação entre a congelação rápida e a sublimação do gelo é uma combinação que protege as células de muitos dos danos que, quer a congelação, quer a desidratação isoladamente inferem às células microbiana (Costa & Ferreira, 1991).

Um estudo desenvolvido por Rahman *et al.* (2005) analisou a microbiota de amostras de carne de cabra liofilizada após abate em matadouro. A quantidade de MTM encontrada foi na ordem de 5 log ufc/g enquanto que a quantidade de *Pseudomonas* spp. foi de aproximadamente 2 log ufc/g, valores mais reduzidos quando comparados com os apresentados no Quadro 3, para *Acheta domesticus* ou *Zophobas morio*. Contudo, as mesmas amostras desidratadas em forno a 80 °C durante 18 horas, revelaram valores aproximados de 5 e 3 log ufc/g para MTM e *Pseudomonas* spp., respetivamente. Resultados igualmente superiores aos obtidos no presente estudo, foram verificados por Nagwekar *et al.* (2017). Estes obtiveram o valor médio de 5,56 log ufc/g para MTM em peixe pato de Bombaim eviscerado e desidratado em forno a 50 °C durante 8 horas.

#### **3.2.4. Avaliação da microbiota patogénica**

Em *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio* frescos e após tratamento não foram obtidas contagens para *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. A pesquisa da última bactéria mostrou-se igualmente negativa. A partir destes resultados, admite-se a garantia de segurança alimentar das três espécies de insetos comestíveis pela ausência dos microrganismos patogénicos em causa.

### **3.3. Conclusão**

Com o presente estudo foi possível analisar o efeito da congelação e da desidratação sobre a microbiota natural de três espécies de insetos edíveis. As amostras de *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio* apresentaram uma microbiota abundante, destacando-se a espécie *Tenebrio molitor* com a que revelou a menor contaminação. Tanto a congelação convencional como a ultracongelação, não surtiram nenhum efeito letal significativo sobre os microrganismos enumerados. Nos tratamentos por desidratação em estufa e em forno observaram-se os resultados mais satisfatórios, atendendo a que as contagens de microrganismos apresentaram valores reduzidos, em certos casos inferiores ao limite de deteção



do método. No que se refere ao tratamento por liofilização os resultados obtidos permaneceram altos, destacando a eficácia deste processo na preservação de bactérias. Devido à sua elevada carga microbiana, os insetos edíveis podem incluir vários perigos para a saúde do consumidor. Deste modo, o seu consumo deve ser sempre precedido de preparação culinária que envolva uma etapa de tratamento térmico ou similar, de forma a assegurar consideravelmente a redução de microrganismos e eliminar a níveis seguros os eventuais patogénicos presentes.



## CAPÍTULO IV



#### **4. Conhecimentos e percepções do consumidor português em relação a entomofagia**

A abordagem da entomofagia em Portugal surge numa altura em que já cerca de um terço da população mundial consome insetos como parte da alimentação (FAO, 2013). Tendo em conta as crises económicas e as altas taxas de desemprego que o país tem vindo a enfrentar ao longo das décadas, é oportuno falar na criação de novas oportunidades. Desta forma, de modo a avaliar os conhecimentos e percepções do consumidor português face à entomofagia, no âmbito do presente estudo, foi realizado um inquérito usando uma plataforma online (Google Docs). O inquérito teve como base alguns aspetos tratados na revisão bibliográfica do presente trabalho e os trabalhos de Hartmann *et al.* (2015), Hartmann & Siegrist (2016), House (2016) e Shelomi (2015).

#### **4.1. Materiais e métodos**

##### **4.1.1. Inquérito e amostragem**

O inquérito foi realizado entre os dias 10 e 14 de maio de 2019. O pedido de resposta foi realizado através da rede de contactos pessoais e profissionais, da qual foram recolhidas 419 respostas de consumidores do território nacional.

O questionário (ANEXO A) apresentava 4 questões de caracterização sociodemográfica, que permitiam obter informações sobre o género, idade, escolaridade e ocupação profissional e 18 questões que incluíam hábitos de consumo de insetos ou alimentos que incluem insetos como ingrediente, conhecimento genérico sobre aspetos nutricionais e ambientais relacionados com insetos e a atitude dos consumidores face aos benefícios do seu consumo. As questões relativas à intenção e experiência de consumo tinham resposta dicotómica (sim/não) e as relativas ao conhecimento e atitude face ao consumo tinham resposta numa escala de Likert de 5 pontos, variando entre o “discordo completamente” e o “concordo completamente” ou entre o “nunca consumiria” e o “certamente consumiria”. O questionário não permitia voltar atrás, evitando assim a retificação das respostas dadas. Algumas respostas foram invertidas no sentido de a uma pontuação total maior, corresponder uma atitude, benefício ou conhecimento mais favoráveis (assinaladas com uma cruz).

A amostra foi composta por 67,5% de mulheres, com uma idade média de  $33,7 \pm 12,4$  anos, variando entre os 18 e 85 anos. A proporção de estudantes na amostra foi de 23,2%. O ensino superior foi o mais representativo da amostra recolhida, com uma percentagem de 79,7%. O estudo reuniu um leque variado de ocupações profissionais, verificando-se uma abrangência de diversos setores económicos, desde profissões das forças armadas, do poder



legislativo, especialistas, técnicos, agricultores, operadores de indústria a trabalhadores não qualificados. Os dados recolhidos desta classe não são apresentados, justamente pela grande diversidade de profissões recolhidas.

#### 4.1.1.1. Avaliação da consistência e da estrutura interna do questionário

A consistência interna do questionário foi avaliada através do alfa de Cronbach e a sua estrutura interna, foi avaliada por análise fatorial (Quadro 4).

**Quadro 4.** Estrutura fatorial do questionário. Pesos fatoriais de cada item para cada uma das duas dimensões selecionadas.

Item do inquérito	Fator	
	1	2
Estaria disposto a consumir insetos como alternativa à carne/peixe?	<b>0,785</b>	0,250
Estaria disposto a consumir alimentos que incluem insetos?	<b>0,857</b>	0,211
A entomofagia é uma alternativa à pecuária tradicional.	0,217	<b>0,597</b>
Os insetos são um alimento altamente nutritivo e saudável.	0,147	<b>0,702</b>
O impacto ambiental da produção de insetos é semelhante ao da produção de outros animais.	0,112	<b>0,498</b>
Os riscos associados ao consumo de insetos são superiores aos associados ao consumo de outros animais.	0,126	<b>0,729</b>
Sabendo que os insetos comestíveis são tão ou mais nutritivos que a carne ou o peixe, estaria disposto a experimentar?	<b>0,929</b>	0,197
Sabendo que a pegada ecológica dos insetos comestíveis é 13 vezes menor que a produção de carne de vaca e 4 vezes menor que a carne de porco, estaria disposto a experimentar?	<b>0,928</b>	0,205
Sabendo que os insetos devidamente cozinhados ou processados são tão seguros para a saúde como a carne ou peixe, estaria disposto a experimentar?	<b>0,921</b>	0,187
Estaria disposto a experimentar ou consumir este produto após preparação culinária?	<b>0,822</b>	0,205
Estaria disposto a experimentar ou consumir este produto que inclui 5% de farinha de grilo?	<b>0,888</b>	0,188



Num total de 13 questões relacionadas com conhecimento e atitudes face ao consumo, foram detetadas duas perguntas com padrão de resposta que fugiu à estrutura da escala, revelada pelo seu contributo individual para o indicador de confiabilidade da escala e pela sua ausência de relação com as duas componentes da escala definidas, indicados por pesos fatorais da ordem dos 0,1 ou menores, sendo elas “Os insetos comestíveis podem abrigar uma grande variedade de microrganismos” e “A legislação europeia é amplamente inexistente no que respeita ao uso e à segurança de insetos comestíveis para alimentação humana”.

Assim, após exclusão dos dois itens, a escala apresentou um alfa de Cronbach de 0,91, considerado excelente. A estrutura da escala, apresentada no Quadro 4 ficou definida com a formação dos dois fatores principais que se pretendiam estudar, um relacionado com a atitude face ao consumo (Fator 1) e outro com o conhecimento do consumidor (Fator 2).

#### **4.1.2. Tratamento estatístico de dados**

Todos os dados recolhidos foram tratados estatisticamente recorrendo ao programa SPSS 25.0 (SPSS Inc., Chicago). As variáveis contínuas foram comparadas por análise de variância simples, recorrendo-se ao teste de Tukey para localizar diferenças entre médias. Considerou-se uma diferença estatisticamente significativa quando  $p < 0,05$ .

### **4.2. Resultados e discussão**

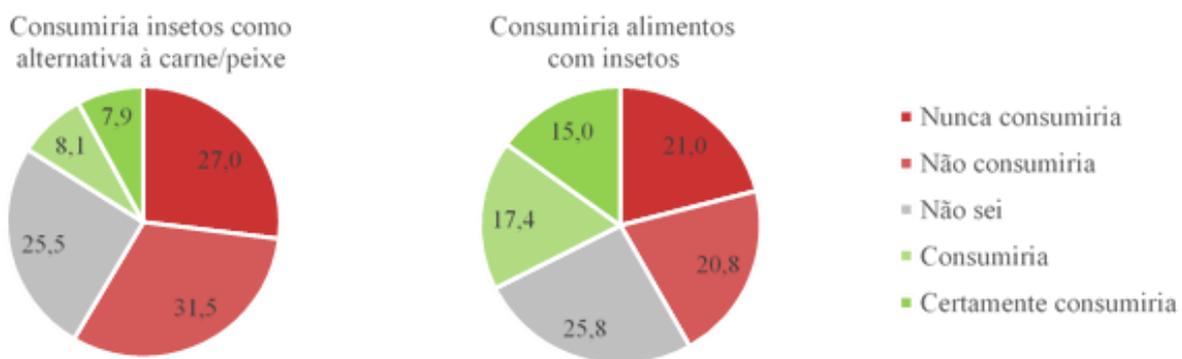
#### **4.2.1. Avaliação da perceção e predisposição do consumidor em relação à entomofagia**

A parte inicial do questionário teve como objetivo determinar o conhecimento prévio dos consumidores portugueses em relação à entomofagia. Na Figura 8 encontra-se ilustrada a proporção de inquiridos que tinha conhecimento prévio do conceito entomofagia e que já tinham consumido insetos ou produtos com insetos como ingrediente. A maioria dos consumidores já tinham ouvido falar de entomofagia (84,2%) ou já tinham conhecimento de alimentos que incluem insetos como ingrediente (72,3%), mas somente 18,1% já tinham consumido insetos ou alimentos com insetos.



**Figura 8.** Percentagem de consumidores com conhecimento prévio sobre entomofagia e de alimentos com insetos como ingrediente e percentagem de consumidores que já consumiram insetos ou alimentos com insetos como ingrediente.

No sentido de avaliar a predisposição do consumidor para o consumo de insetos, questionou-se se estaria disposto a experimentar. Como se pode observar na Figura 9, apenas 15,8% dos inquiridos estariam dispostos a consumir insetos como alternativa à carne. E em contrapartida com os 58,5% que não demonstraram essa intenção, havendo cerca de um quarto dos consumidores (25,5%) indecisos. No entanto, quando se questionou “Estaria disposto a consumir alimentos que incluem insetos como ingrediente (bolachas, snacks, barras proteicas ou energéticas)?” a percentagem dos que respondem afirmativamente aumenta para 32,4%. Estes resultados estão de acordo com as observações feitas por Tan *et al.* (2015), onde a maioria dos participantes expressou negatividade e relutância em comer insetos demonstrando, contudo, mais disposição para experimentar produtos à base de insetos.



**Figura 9.** Proporção de consumidores que estaria disposto a consumir insetos como alternativa à carne/peixe e que estaria disposto a consumir alimentos com insetos como ingrediente.



#### 4.2.2. Avaliação do conhecimento do consumidor sobre potenciais benefícios de insetos edíveis

De forma a apurar os conhecimentos do consumidor sobre os potenciais benefícios para a saúde e para o ambiente, apresentaram-se no questionário diversos itens para indicar o grau de concordância numa escala de 5 pontos. No Quadro 5 são apresentados os resultados médios para cada item. Os conhecimentos dos respondentes são medianos, como se observa pelos valores médios de resposta ligeiramente superiores ao centro da escala. Estes valores indicam que há no consumidor uma grande variabilidade de conhecimentos.

**Quadro 5.** Conhecimentos dos consumidores face à entomofagia. Resultados expressos em média  $\pm$  desvio padrão e coeficiente de variação. Padrão das respostas numa escala de 5 pontos.

Item do inquérito	M $\pm$ DP	CV (%)
A entomofagia é uma alternativa à pecuária tradicional.	3,05 $\pm$ 0,96	31,40
Os insetos são um alimento altamente nutritivo e saudável.	3,63 $\pm$ 0,86	23,61
O impacto ambiental da produção de insetos é semelhante ao da produção de outros animais.	3,56 $\pm$ 1,00	28,21
Os riscos associados ao consumo de insetos são superiores aos associados ao consumo de outros animais.	3,27 $\pm$ 0,77	23,58

#### 4.2.3. Avaliação da atitude do consumidor face ao consumo de insetos

Com a finalidade de explorar qual a atitude do consumidor face ao consumo de insetos, apresentaram-se no questionário diversos itens para indicar o grau de disposição de consumo numa escala de 5 pontos. O questionário foi criado de modo a avaliar a atitude inicial dos inquiridos face ao consumo de insetos e após informação ou com recurso a fotografias. No Quadro 6 são apresentados os valores médios para cada item.

No caso da atitude face ao consumo inicial, embora os coeficientes de variação sejam altos, ambos os valores médios são ligeiramente inferiores ao centro da escala, o que sugere que o consumidor estaria pouco disposto a consumir insetos ou alimentos com insetos como ingrediente.

Os principais motivos apontados para a fraca predisposição para o consumo foram “Tenho nojo/repugnância” (75,7%), “Tenho medo de transmissão de doenças” (27,2%), “Associo a falta de higiene” (25,1%) e “Acho que têm mau sabor” (18,9%). Em percentagens mais reduzidas, houve quem referisse o facto de levar uma dieta vegetariana/vegan ou de falta



de hábito ou costume cultural. Por outro lado, motivações como “Tenho curiosidade” (57,1%), “Acho que são muito nutritivos” (37,8%) ou “Acho que são mais amigos do ambiente que a carne e o peixe” (30,5%) fizeram com que alguns inquiridos estivessem dispostos a consumir.

**Quadro 6.** Atitude dos consumidores face ao consumo de insetos. Resultados expressos em média  $\pm$  desvio padrão e coeficiente de variação. Padrão das respostas numa escala de 5 pontos.

Item do questionário	M $\pm$ DP	CV (%)
<i>Atitude face ao consumo inicial</i>		
Estaria disposto a consumir insetos como alternativa à carne/peixe?	2,38 $\pm$ 1,19	49,88
Estaria disposto a consumir alimentos que incluem insetos?	2,85 $\pm$ 1,34	47,18
<i>Atitude face ao consumo após informação</i>		
Sabendo que os insetos comestíveis são tão ou mais nutritivos que a carne ou o peixe, estaria disposto a experimentar?	3,16 $\pm$ 1,40	44,10
Sabendo que a pegada ecológica dos insetos comestíveis é 13 vezes menor que a produção de carne de vaca e 4 vezes menor que a carne de porco, estaria disposto a experimentar?	3,30 $\pm$ 1,38	41,96
Sabendo que os insetos devidamente cozinhados ou processados são tão seguros para a saúde como a carne ou peixe, estaria disposto a experimentar?	3,37 $\pm$ 1,41	41,72
<i>Atitude face ao consumo com fotografias</i>		
(GRILO) Estaria disposto a experimentar ou consumir este produto após preparação culinária?	2,61 $\pm$ 1,39	53,22
(BOLACHAS COM FARINHA DE GRILO) Estaria disposto a experimentar ou consumir este produto que inclui 5% de farinha de grilo?	3,54 $\pm$ 1,42	40,00

Quando se inquiriu o consumidor se estaria disposto a consumir insetos, tendo em consideração algumas vantagens, quer nutritivas quer ambientais, o padrão de respostas assemelhou-se ao observado com o conhecimento (Quadro 5), no entanto com coeficientes de variação mais altos. O ligeiro aumento do valor médio de resposta, em relação ao verificado com a questão inicial “Estaria disposto a consumir insetos como alternativa à carne/peixe” revela que a informação tem influência na predisposição do consumidor para a prática da entomofagia.



Quando se observa a resposta dos consumidores relativa à intenção de consumo de um produto apresentado em fotografia, revela-se a importância da repugnância do consumidor face ao inseto em si, pois a disposição para consumir o grilo *Acheta domesticus* (em fotografia) foi somente 2,61 (numa escala de 5 pontos, em que o 1 corresponde ao “Não, nunca experimentaria” e o 5 ao “Sim, certamente experimentaria”), enquanto para bolachas com 5% de farinha de grilo (em fotografia) subiu para 3,54. Esta tendência do consumidor mostrar uma maior disponibilidade para consumir produtos processados em que não reconheça o inseto, tem sido identificado em vários estudos com consumidores, uma vez que o reflexo de repugnância que a imagem provoca no consumidor fica mitigada (Gmuer *et al.*, 2016). As características visuais tendem a criar associações relacionadas com a natureza do inseto quando falta experiência de sabor, que são muitas vezes negativas devido à sua imagem como pragas ou portadores de doenças (Tan *et al.*, 2016).

Fatores sociodemográficos também influenciaram a atitude face ao consumo de insetos ou alimentos com insetos como ingrediente. Pela análise do Quadro 7 verificou-se que as médias de respostas são ligeiramente mais favoráveis no caso do sexo masculino, semelhantes aos resultados obtidos noutros estudos anteriores (Hartmann *et al.*, 2015; Verbeke, 2015). Isto pode estar relacionado com o facto de os indivíduos do sexo masculino serem mais aventureiros do que o sexo feminino e, assim, estar mais predisposto a experimentar novos alimentos (de Boer *et al.*, 2013).

A idade e o nível de escolaridade não mostraram influência ( $p > 0,05$ ) na atitude face ao consumo.



**Quadro 7.** Atitude dos consumidores do sexo feminino e do sexo masculino face ao consumo de insetos. Resultados expressos em média  $\pm$  desvio padrão e coeficiente de variação. Padrão das respostas numa escala de 5 pontos.

Item do questionário	Feminino M $\pm$ DP	Masculino M $\pm$ DP	p-value
<i>Atitude face ao consumo inicial</i>			
Estaria disposto a consumir insetos como alternativa à carne/peixe?	2,20 $\pm$ 1,14	2,77 $\pm$ 1,19	< 0,001
Estaria disposto a consumir alimentos que incluem insetos?	2,66 $\pm$ 1,35	3,23 $\pm$ 1,25	< 0,001
<i>Atitude face ao consumo após informação</i>			
Sabendo que os insetos comestíveis são tão ou mais nutritivos que a carne ou o peixe, estaria disposto a experimentar?	2,99 $\pm$ 1,42	3,53 $\pm$ 1,28	< 0,001
Sabendo que a pegada ecológica dos insetos comestíveis é 13 vezes menor que a produção de carne de vaca e 4 vezes menor que a carne de porco, estaria disposto a experimentar?	3,13 $\pm$ 1,42	3,63 $\pm$ 1,23	0,001
Sabendo que os insetos devidamente cozinhados ou processados são tão seguros para a saúde como a carne ou peixe, estaria disposto a experimentar?	3,23 $\pm$ 1,46	3,68 $\pm$ 1,24	0,002
<i>Atitude face ao consumo com fotografias</i>			
(GRILO) Estaria disposto a experimentar ou consumir este produto após preparação culinária?	2,43 $\pm$ 1,35	2,97 $\pm$ 1,40	< 0,001
(BOLACHAS COM FARINHA DE GRILO) Estaria disposto a experimentar ou consumir este produto que inclui 5% de farinha de grilo?	3,37 $\pm$ 1,49	3,90 $\pm$ 1,18	< 0,001

### 4.3. Conclusão

As análises das respostas ao inquérito permitiram concluir que o consumidor português apresenta um conhecimento mediano em relação à entomofagia e aos seus potenciais benefícios para a saúde e ambiente. Além disso, os consumidores demonstraram a sua relutância em consumir insetos, uma vez que estavam pouco predispostos a esta prática, mostrando-se, no entanto, mais recetivos a experimentar alimentos com insetos como ingrediente. Com efeito,



torna-se necessário informar a população e desmistificar conceitos associados aos insetos comestíveis. O conhecimento e a informação correta e segura sobre esta temática podem alterar a percepção de benefício e atitude do consumidor.



# CAPÍTULO V



## 5. Considerações finais

A entomofagia é uma prática alimentar perfeitamente consolidada em algumas regiões do mundo, nomeadamente na Ásia, África e América do Sul. Devido ao impacto ambiental da produção pecuária em consequência da produção de gases com efeito de estufa, dos consumos de água, e dos riscos para o equilíbrio dos ecossistemas marinhos que a pesca (e sobrepesca) podem representar, têm sido equacionadas várias estratégias para minimizar esses impactos. Essas passam quase sempre por promover sistemas de produção mais amigos do ambiente, tendencialmente mais extensivos, recorrendo a alimentação para os animais baseada nos recursos naturais da região de produção, pela valorização de produções pecuárias com menor impacto ecológico, pela estimulação para a redução do consumo de carne nos países desenvolvidos, entre outras. Face ao crescimento da população global do planeta, as preocupações com o fornecimento alimentar de proteína em níveis e qualidade adequados e suficientemente económicos para estarem ao alcance das classes socialmente mais desfavorecidas, sem que se tenha que aumentar a produção pecuária e aquacultura na mesma proporção, é um grande desafio que a humanidade tem atualmente que enfrentar.

Os insetos configuram-se como potenciais atores na solução deste problema, uma vez que possuem uma riqueza nutricional muito interessante, podendo substituir a carne ou o peixe, e a sua produção, tal como a conhecemos atualmente, é muito mais amiga do ambiente, pois tem taxas de conversão muito mais elevadas que a generalidade dos animais usados na alimentação humana. Não obstante, esta aparente simplicidade na substituição da carne e peixe na alimentação por insetos e a sua introdução na dieta dos países ditos desenvolvidos é um processo de extrema complexidade. Um dos primeiros problemas que se coloca é a dimensão da criação e a sua rentabilidade. A entomofagia que se conhece atualmente nos países asiáticos, africanos e sul-americanos está muito associada à agricultura de subsistência, com pequenas produções domésticas, ou a culturas em que a recolção diretamente da natureza ainda tem algum peso na alimentação dessas populações. Para se considerar a entomofagia como uma verdadeira alternativa à carne ou peixe como fonte de proteínas e outros nutrientes de elevada qualidade, é preciso que haja uma dimensão de produção tal, que consiga aprovisionar mercados urbanos com insetos edíveis a preços concorrenciais. Há já várias empresas a produzir industrialmente insetos, mas como produto gourmet, com preços muito elevados, o que viola completamente o princípio da entomofagia como alternativa à pecuária tradicional e como uma proteína barata e de fácil acesso por todos. Num cenário hipotético de haver um desvio da alimentação do consumidor dos países desenvolvidos do consumo de carne para o consumo de



insetos, não se percebeu ainda muito bem qual poderá vir a ser a pegada ecológica de produções intensivas, altamente industrializadas, que seriam necessárias para produzir quantidades suficientes a preços concorrenciais.

Um outro problema que se coloca com a entomofagia é o eventual risco que pode representar para o consumidor. A União Europeia, por força do quadro legislativo que enquadra a segurança alimentar e fazendo-se valer do princípio da precaução, produziu regulamentação que limita a comercialização de insetos para alimentação humana, desde o início de 2018. Essa precaução da UE surge da análise da inúmera investigação produzida na última década, em que se demonstra o interessante perfil nutritivo dos insetos edíveis, mas também a sua abundante carga microbiana e parasitária, nomeadamente de quase todos os agentes patogénicos por via alimentar, assim como a presença de compostos potencialmente alergénicos. Assim, a UE faz depender a introdução de insetos no mercado de uma análise detalhada de risco/benefício, enquadrada na regulamentação de “novos alimentos”. Os resultados do presente trabalho são basicamente confirmatórios do conhecimento já existente sobre microbiota de insetos edíveis, tendo-se observado uma carga microbiana elevada em *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio*. Observou-se também, que a conservação por congelação, como era esperado, não tem qualquer influência na viabilidade da microbiota e que a desidratação só produz reduções com interesse quando associada à utilização de temperaturas com efeito letal.

Para além das potenciais limitações que se colocam à entomofagia suprarreferidas, aquela que é provavelmente o maior obstáculo é a aceitação pelo consumidor. Nas sociedades ditas desenvolvidas, a entomofagia como prática ancestral de alimentação, já não é praticada há muitas gerações, pelo que a reação do consumidor fica dividida entre a repugnância por associar os insetos a falta de limpeza, e um conjunto de reações características que constituem aquilo que habitualmente se designa por neofobia. O Homem nasce com esta capacidade intrínseca de ter medo de comer o que não conhece, o que é um excepcional mecanismo de defesa da espécie. O problema que se coloca com a neofobia intrínseca é que é habitualmente resolvida nos primeiros anos de vida, através de valores adquiridos com os progenitores. Como a ingestão de insetos está fora dos hábitos alimentares europeus ou norte-americanos há muitas gerações, essa neofobia não tem sido ultrapassada e hoje coloca-se como um dos principais obstáculos ao desenvolvimento desta forma de alimentação. Aquilo que se prevê é que, lentamente, os insetos comecem a ser introduzidos e a partir daí possa começar a haver alguma generalização para a população em geral. Os resultados do presente trabalho vão também muito neste sentido. Uma parte considerável dos participantes no estudo já ouviram falar de entomofagia, mas a proporção



daqueles que manifesta vontade de experimentar é muito limitada, menos de um quarto dos consumidores. Esta proporção, ainda que aparentemente pequena, pode ser muito significativa num estágio ainda muito embrionário da entomofagia como o que se observa em Portugal. Um dos resultados do presente trabalho que nos merece destaque é o facto da informação sobre as vantagens da entomofagia aumentar a predisposição do consumidor para provar, nomeadamente as informações relativas aos benefícios nutricionais e à pegada ecológica.

Com o presente trabalho confirma-se a necessidade de utilizar insetos na alimentação somente depois de tratamento culinário suficientemente forte para garantir uma elevada letalidade da microbiota. Poder-se-á apontar como medida de referência as boas práticas para cozinhar preparados com carne de aves picada. O consumidor português conhece, na generalidade, a entomofagia, mas o número de pessoas dispostas a experimentar ainda é pequeno. Porém, há um grande potencial nesses indivíduos, pois se a sua experiência for satisfatória, serão potenciais disseminadores do interesse da entomofagia. Face aos resultados do presente trabalho, a tendência já latente em alguns países europeus para introduzir a entomofagia tem em Portugal um forte potencial.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adámek, M., Mlcek, J., Adámková, A., Suchánková, J., Janalíková, M., Borkovcová, M., & Bednárová, M. (2018). Effect of different storage conditions on the microbiological characteristics of insect. *Slovak Journal of Food Sciences*, 12(1): 248-253.
- Adámková, A., Mlcek, J., Kourismská, L., Borkovcová, M., Busina, T., Adámek, M., . . . Krajsa, J. (2017). Nutritional Potencial of Selected Insect Species Reared on the Island of Sumatra. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(5): 521.
- Adams, M. R., & Moss, M. O. (2000). *Food Microbiology. Second Edition*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry.
- Akhtar, Y., & Isman, M. B. (2018). Insects as an Alternative Protein Source. Em R. Y. Yada, *Proteins in Food Processing* (pp. 263-288). Woodhead Publishing.
- Alexander, P., Brown, C., Arneith, A., Dias, C., Finnigan, J., Moran, D., & Rounsevell, M. D. (2017). Could consumption of insects, cultured meat or imitation meat reduce global agricultural land use? *Global Food Security*, 15: 22-32.
- Augusto, P. E., Soares, B. M., & Castanha, N. (2018). Conventional Technologies of Food Preservation. Em F. Barba, A. S. Sant'Ana, V. Orlien, & M. Koubaa, *Innovative Technologies for Food Preservation: Inactivation of Spoilage and Pathogenic Microorganisms* (pp. 3-23). Oxford, United Kingdom: Elsevier Inc.
- Bastian, F. O., Lynch, J., Hagius, S., Wu, X., McCormick, G., Luther, D. G., & Elzer, P. H. (2018). Novel *Spiroplasma* Spp. Cultured From Brains and Lymph Nodes From Ruminants Affected With Transmissible Spongiform Encephalopathy. *Journal of Neuropathology Experimental Neurology*, 77(1): 64-73.
- Belluco, S., Losasso, C., Maggioletti, M., Alonzi, C. C., Paoletti, M. G., & Ricci, A. (2013). Edible Insects in a Food Safety and Nutritional Perspective: A Critical Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(3): 296-313.
- Berggren, A., Jansson, A., & Low, M. (2018). Using current systems to inform rearing facility design in the insect-as-food industry. *Journal of Insects as Food and Feed*, 4(3): 167-170.
- Bernard, T., & Womeni, H. M. (2017). Entomophagy: Insects as Food. Em V. D. Shields, *Insect Physiology and Ecology* (pp. 233-253). IntechOpen.
- Bíblia Sagrada - Para o Terceiro Milénio da Encarnação (versão dos textos originais)*. (2000). Lisboa/Fátima: Difusora Bíblica.
- Blond, G., & Le Meste, M. (2004). Principles of Frozen Storage. Em Y. H. Hui, P. Cornillon, I. G. Legarreta, M. H. Lim, K. D. Murrell, & W. Nip, *Handbook of Frozen Foods* (pp. 25-53). New York: Marcel Dekker, Inc.
- Boziaris, J. S., & Adams, M. R. (2008). Temperature shock, injury and transiente sensitivity to nisin in Gram negatives. *Journal of Applied Microbiology*, 91(4): 715-724.
- Caparros Megido, R., Poelaert, C., Ernens, M., Liotta, M., Blecker, C., Danthine, S., . . . Francis, F. (2018). Effect of household cooking techniques on the microbiological load and the

- nutritional quality of mealworms (*Tenebrio molitor* L.1758). *Food Research International*, 106: 503-508.
- Chapagain, A. K., & Hoekstra, A. Y. (2003). 'Virtual water flows between nations in relation to trade in livestock and livestock products', *Value of Water Research Report series No. 13*. Delft, the Netherlands: UNESCO-IHE Institute for Water Education.
- Chordash, R. A., & Potter, N. N. (1972). Effects of dehydration through the intermediate moisture range on water activity, microbial growth, and texture of selected foods. *Journal of Milk and Food Technology*, 35(7): 395-398.
- Collavo, A., Glew, R. H., Huang, Y., Chuang, L., Bosse, R., & Paoletti, M. G. (2005). House Cricket Small-scale Farming. Em P. M. G., *Ecological Implications of Minilivestock. Potential of Insects, Rodents, Frogs and Snails* (pp. 519-544). Enfield, New Hampshire, USA: Science Publishers.
- Comissão Europeia. (2018). *Questions and Answers: New Novel Food Regulation*. Brussels.
- Costa, C. P., & Ferreira, M. C. (1991). Preservation of microorganisms - A review. *Revista de Microbiologia*, 22: 263-268.
- Costa-Neto, E. M. (2013). Insects as human food: An overview. *Amazônica Revista de Antropologia*, 5(3): 562-582.
- Costa-Neto, E. M. (2015). Anthro-entomophagy in Latin America: an overview of the importance of edible insects to local communities. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1(1): 17-23.
- Costa-Neto, E., & Ramos-Elorduy, J. (2006). Los insectos comestibles de Brasil: etnicidad, diversidad e importancia en la alimentación. *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa*, 38: 423-442.
- Davidson, P. M., & Critzer, F. M. (2012). Interventions to Inhibit or Inactivate Bacterial Pathogens in Foods. Em O. A. Oyarzabal, & S. Backert, *Microbial Food Safety: An Introduction* (pp. 189-202). New York, USA: Springer International Publishing.
- de Boer, J., Schosler, H., & Boersema, J. (2013). Motivational differences in food orientation and the choice of snacks made from lentils, locusts, seaweed or "hybrid" meat. *Food Quality and Preference*, 28: 32-35.
- Del Toro, I., Ribbons, R. R., & Pelini, S. L. (2012). The little things that run the world revisited: a review of ant-mediated ecosystem services and disservices (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, 17: 133-146.
- Dobermann, D., Swift, J. A., & Field, L. M. (2017). Opportunities and hurdles of edible insects for food and feed. *Nutrition Bulletin*, 42(4): 293-308.
- Dossey, A. T., Tatum, J. T., & McGill, W. L. (2016). Modern Insect-Based Food Industry: Current Status, Insect Processing Technology and Recommendations Moving Forward. Em A. T. Dossey, J. A. Morales-Ramos, & M. G. Rojas, *Insects as Sustainable Food Ingredients: Production, Processing and Food Applications* (pp. 113-152). Oxford, United Kingdom: Elsevier Inc.
- EFSA Scientific Committee. (2015). Scientific Opinion on a risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. *EFSA Journal*, 13(10): 4257.

- EFSA Scientific Committee. (2018). Novel foods: a risk profile for the house cricket (*Acheta domestica*). *EFSA Journal*, 16(S1): e16082.
- FAO. (2010). *Edible Forest Insects: humans bite back*. Bangkok, Thailand.
- FAO. (2013). *Edible Insects: future prospects for food and feed security*. Rome, Italy.
- FAO. (2018). *The state of food security and nutrition in the world*. Rome, Italy.
- FASFC Scientific Committee. (2014). *Common Advice SciCom 14-2014 and SHC Nr. 9160. Food safety aspects of insects intended for human consumption*. Brussels: Superior Health Council.
- Fellows, P. J. (2000). *Food processing technology: Principles and practice - Second Edition*. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited.
- Fernandes, R. T., Arruda, A. M., Costa, M. K., Lima, P. O., Santos, L. O., Melo, A. S., & Marinho, J. B. (2016). Physicochemical and microbiological parameters of frozen and chilled chicken meat. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 45(7): 417-421.
- Fombong, F. T., van der Borght, M., & Broeck, J. V. (2017). Influence of Freeze-Drying and Oven-Drying Post Blanching on the Nutrient Composition of the Edible Insect *Ruspolia differens*. *Insects*, 8(3): 102.
- Fraqueza, M. J., & Patarata, L. A. (2017). Constraints of HACCP Application on Edible Insect for Food and Feed. Em H. Mikkola, *Future Foods* (pp. 89-113). IntechOpen.
- Garofalo, C., Osimani, A., Milanovic, V., Taccari, M., Cardinali, F., Aquilanti, L., . . . Clementi, F. (2017). The microbiota of marketed processed edible insects as revealed by high-throughput sequencing. *Food Microbiology*, 62:15-22.
- Ghosh, S., Lee, S., Jung, C., & Meyer-Rochow, V. B. (2017). Nutritional composition of five commercial edible insects in South Korea. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 20(2): 696-694.
- Gmuer, A., Guth, J. N., Hartmann, C., & Siegrist, M. (2016). Effects of the degree of processing of insect ingredients in snack on expected emotional experiences and willingness to eat. *Food Quality and Preference*, 54:117-127.
- Godfray, H. C., Averyard, P., Gernett, T., Hall, J. W., Key, T. J., Lorimer, J., . . . Jebb, S. A. (2018). Meat consumption, health, and the environment. *Science*, 361(6399).
- Gould, G. W. (1996). Methods for preservation and extension of shelf life. *International Journal of Food Microbiology*, 33(1): 51-64.
- Grabowski, N. T., & Klein, G. (2017a). Bacteria encountered in raw insect, spider, scorpion, and centipede taxa including edible species, and their significance from the food hygiene point of view. *Trends in Food Science & Technology*, 63: 80-90.
- Grabowski, N. T., & Klein, G. (2017b). Microbiological analysis of raw edible insects. *Journal of Insects as Food and Feed*, 3(1): 7-14.
- Grabowski, N. T., & Klein, G. (2017c). Microbiology of cooked and dried edible Mediterranean field crickets (*Gryllus bimaculatus*) and superworms (*Zophobas atratus*) submitted to four different heating treatments. *Food Science and Technology International*, 23(1): 17-23.

- Hartmann, C., & Siegrist, M. (2016). Becoming an insectivore: Results of an experiment. *Food Quality and Preference*, 51: 118-122.
- Hartmann, C., Shi, J., Giusto, A., & Siegrist, M. (2015). The psychology of eating insects: A cross-cultural comparison between Germany and China. *Food Quality and Preference*, 44: 148-156.
- House, J. (2016). Consumer acceptance of insect-based foods in the Netherlands: Academic and commercial implications. *Appetite*, 107: 47-58.
- ISO 11290-2 . (1998). *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes - Enumeration method*. Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO 13720. (2010). *Meat and meat products - Enumeration of presumptive Pseudomonas spp.* Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO 15213. (2003). *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions*. Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO 15214. (1998). *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizon method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria - Colony-count technique at 30°C*. Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO 21528-2. (2004). *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae - Colony-count method*. Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO 4833. (1991). *Microbiology - General guidance for the enumeration of microorganisms - Colony-count technique at 30°C* . Switzerland: International Organization for Standardization.
- Jansson, A., & Berggren, A. (2015). *Insects as Food-Something for the Future?* Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences, Future Agriculture.
- Jay, J. M. (2000). *Modern Food Microbiology - Sixth Edition*. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers, Inc.
- Kinyuru, J. N., Kenji, G. M., Njoroge, S. M., & Ayieko, M. (2010). Effect of Processing Methods on the In Vitro Protein Digestibility and Vitamin Content of Edible Winged Termite (*Macrotermes subhylanus*) and Grasshopper (*Ruspolia differens*). *Food and Bioprocess Tecnology*, 3(5): 778-782.
- Kinyuru, J. N., Nyangena, D., Kamau, E., Ndiritu, A., Muniu, J., Kipkoech, C., . . . Mmari, M. (2018). The Role of Edible Insects in Diets and Nutrition in East Africa. Em A. Halloran, R. Flore, P. Vantomme, & N. Roos, *Edible Insects in Sustainable Food Systems* (pp. 93-108). Switzerland: Springer International Publishing.
- Klunder, H. C., Wolkers-Rooijackers, J., Korpela, J. M., & Nout, M. J. (2012). Microbiological aspects of processing and storage of edible insects. *Food Control*, 26(2): 628-631.
- Kourimská, L., & Adámková, A. (2016). Nutricional and sensory quality of edible insects. *NFS Journal*, 22-26.

- Kwon, Y. W., Bae, J. H., Kim, S. A., & Han, N. S. (2018). Development of Freeze-Thaw Tolerant *Lactobacillus rhamnosus* GG by Adaptive Laboratory Evolution. *Frontiers in Microbiology*, 9: 2781.
- Lado, B. H., & Yousef, A. E. (2002). Alternative food-preservation technologies: efficacy and mechanisms . *Microbes and Infection*, 4(4): 433-440.
- Lenaerts, S., van der Borght, M., Callens, A., & van Campenhout, L. (2018). Suitability of microwave drying for mealworms (*Tenebrio molitor*) as alternative to freeze drying: Impact on nutritional quality and colour. *Food Chemistry*, 254: 129-136.
- Loiácono, M., & Margaría, C. (2013). Insectos comestibles como alternativa del futuro. *Museo*, 26: 17-22.
- Martin, D. (2014). *An Adventure into the World of Eating Insects and the Last Great Hope to Save the Planet*. Boston, New York: Houghton Mifflin Harcourt.
- Medić, H., Kusec, I. D., Pleadin, J., Kozacinski, L., Njari, B., Hengl, B., & Kusec, G. (2018). The impact of frozen storage duration on physical, chemical and microbiological properties of pork. *Meat Science*, 140: 119-127.
- Mela, D. J. (1999). Food choice and intake: the human factor. *Proceedings of the Nutrition Society*, 58: 513-521.
- Melis, R., Braca, A., Mulas, G., Sanna, R., Spada, S., Serra, G., . . . Anedda, R. (2018). Effect of freezing and drying processes on the molecular traits of edible yellow mealworm. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 48: 138-149.
- Meyer-Rochow. (1975). Can Insects Help To Ease The Problem Of World Food Shortage? *Search*, 6(7): 261-262.
- Mézes, M. (2018). Food safety aspect of insects: a review. *Acta Alimentaria*, 47(4): 513-522.
- Miglietta, P. P., Leo, F. R., & Massari, S. (2015). Mealworms for Food: A Water Footprint Perspective. *Water*, 7(11): 6190-6203.
- Mitsuhashi, J. (2008). Entomophagy: Human Consumption of Insects. Em J. L. Capinera, *Encyclopedia of Entomology* (pp. 1341-1343). Springer International Publishing.
- Mwangi, M. N., Oonincx, D. G., Stouten, T., Veenenbos, M., Melse-Boonstra, A., Dicke, M., & van Loon, J. J. (2018). Insects as sources of iron and zinc in human nutrition. *Nutrition Research Reviews*.
- Nagwekar, N., Tidke, V., & Thorat, B. N. (2017). Microbial and biochemical analysis of dried fish and comparative study using different drying methods. *Drying Technology*, 35(12): 1481-1491.
- Nakagari, B. J., & DeFoliart, G. R. (1991). Comparison of Diets for Mass-Rearing *Acheta domesticus* (Orthoptera: Gryllidae) as a Novelty Food, and Comparison of Food Conversion Efficiency with Values Reported for Livestock. *Journal of Economic Entomology*, 84(3): 891-896.
- NVWA. (2014). *Advisory report on the risks associated with the consumption of mass reared insects*. Utrecht .

- Oonincx, D. G., & de Boer, I. J. (2012). Environmental Impact of the Production of Mealworms as a Protein Source for Humans-A Life Cycle Assessment. *PLoS ONE*, 7(12): e51145.
- Oonincx, D. G., van Broekhoven, S., van Huis, A., & van Loon, J. J. (2015). Feed Conversion, Survival and Development, and Composition of Four Insect Species on Diets Composed of Food By-Products. *PLoS ONE*, 10(12): e0144601.
- Osimani, A., Milanovic, V., Cardinali, F., Garofalo, C., Clementi, F., Pasquini, M., . . . Aquilanti, L. (2018). The bacterial biota of laboratory-reared edible mealworms (*Tenebrio molitor* L.): From feed to frass. *International Journal of Food Microbiology*, 272: 49-60.
- Pal, P., & Roy, S. (2014). Edible insects: Future of Human food - A Review. *International Letters of Nature Sciences*, 21: 1-11.
- Paul, A., Frederich, M., Megido, R. C., Alabi, T., Malik, P., Uyttenbroeck, R., . . . Danthine, S. (2017). Insects fatty acids: A comparison of lipids from three Orthopterans and *Tenebrio molitor* L. larvae. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 20: 337-340.
- Payne, C. L., Scarborough, P., Rayner, M., & Nonaka, K. (2016). Are edible insects more or less 'healthy' than commonly consumed meats? A comparison using two nutrient profiling models developed to combat over- and undernutrition. *European Journal of Clinical Nutrition*, 70: 285-291.
- Peruzy, M. F., Murru, N., Yu, Z., Cnockaert, M., Joossens, M., Proroga, Y. T., & Houf, K. (2019). Determination of the microbiological contamination in minced pork by culture dependent and 16S amplicon sequencing analysis. *International Journal of Food Microbiology*, 290: 27-35.
- Pimentel, D., Berger, B., Filiberto, D., Newton, M., Wolfe, B., Karabinakis, E., . . . Nandagopal, S. (2004). Water Resources: Agricultural and Environmental Issues. *BioScience*, 54(10): 910-918.
- Raheem, D., Carrascosa, C., Oluwole, O. B., Nieuwland, M., Saraiva, A., Millán, R., & Raposo, A. (2018). Traditional consumption of and rearing edible insects in Africa, Asia and Europe. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
- Rahman, M. S., Salman, Z., Kadim, I. T., Mothershaw, A., Al-Riziqi, M. H., Guizani, N., . . . Ali, A. (2005). Microbial and Physico-Chemical Characteristics of Dried Meat Processed by Different Methods. *International Journal of Food Engineering*, 1(2): 3.
- Ramos-Elorduy, J., Moreno, J. M., Prado, E. E., Perez, M. A., Otero, J. L., & Guevara, O. L. (1997). Nutricional Value of Edible Insects from the State of Oaxaca Mexico. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10: 142-157.
- Regulamento (CE) 1441/2007 da Comissão de 5 de Dezembro de 2007 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. (7.12.2007). *Jornal Oficial da União Europeia*, L322/12.
- Regulamento (UE) 2015/2283 do Parlamento Europeu e do Conselho de 25 de novembro de 2015 relativo a novos alimentos. (11.12.2015). *Jornal Oficial da União Europeia*, L327/1.
- Rozin, P., & Fallon, A. (1980). The Psychological Categorization of Foods and Non-foods: A Preliminary Taxonomy of Food Rejections. *Appetite*, 1: 193-201.

- Rumpold, B. A., & Schlüter, O. K. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(7): 802-823.
- Sachs, J. (2010). Rethinking macroeconomics: knitting together global society. *The Broker*, 10: 1-3.
- Seni, A. (2017). Edible Insects: Future Prospects for Dietary Regimen. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(8): 1302-1314.
- Shelomi, M. (2015). Why we still don't eat insects: Assessing entomophagy promotion through a diffusion of innovations framework. *Trends in Food Science & Technology*, 34(2): 311-318.
- Shen, L., Li, D., Feng, F., & Ren, Y. (2006). Nutritional composition of *Polyrhachis vicina* Roger (Edible Chinese black ant). *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 28(1): 107-114.
- Sirimungkararat, S., Saksirirat, W., & Nopparat, T. N. (2010). Edible products from eri silkworm (*Samia ricini* D.) and mulberry silkworm (*Bombyx mori* L.) in Thailand. In FAO, *Edible Forest Insects: humans bite back* (pp. 189-200). Bangkok, Thailand.
- Smil, V. (2002). Worldwide transformation of diets, burdens of meat production and opportunities for novel food proteins. *Enzyme and Microbial Technology*, 30: 305-311.
- Ssepuyya, G., Mukisa, I. M., & Nakimbugwe, D. (2016). Nutritional composition, quality and shelf stability of processed *Ruspolia nitidula* (edible grasshoppers). *Food Science & Nutrition*, 5(1): 103-112.
- Statham, J., Green, M., Husband, J., & Huxley, J. (2017). Climate change and cattle farming. *In Practice*, 39: 10-19.
- Stoops, J., Crauwels, S., Waud, M., Claes, J., Lievens, B., & Van Campenhout, L. (2016). Microbial community assessment of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) and grasshoppers (*Locusta migratoria migratorioides*) sold for human consumption. *Food Microbiology*, 53: 122-127.
- Talon, R., Lebert, I., Lebert, A., Leroy, S., Garriga, M., Aymerich, T., . . . Lauková, A. (2007). Traditional dry fermented sausages produced in small-scale processing units in Mediterranean countries and Slovakia. Microbial ecosystems of processing environments. *Meat Science*, 77: 570-579.
- Tan, H. S., Fischer, A. R., Tinchán, P., Stieger, M., Steenbekkers, L. P., & van Trijp, H. C. (2015). Insects as food: Exploring cultural exposure and individual experience as determinants of acceptance. *Food Quality and Preference*, 42: 78-89.
- Tan, H. S., van den Berg, E., & Stieger, M. (2016). The influence of product preparation, familiarity and individual traits on the consumer acceptance of insects as food. *Food Quality and Preference*, 52: 222-231.
- Tao, J., & Li, Y. O. (2018). Edible Insects as a means to address global malnutrition and food insecurity issues. *Food Quality and Safety*, 2(1): 17-26.
- Thi, A. N., Samapundo, S., Devlieghere, F., & Heyndrickx, M. (2016). Microbiota of frozen Vietnamese catfish (*Pangasius hypophthalmus*) marketed in Belgium. *International Journal of Food Contamination*, 3: 17.

- Tommila, S., & Ziehensack, J. (2017). *Bug Appétit! (Master's Thesis)*. Jönköping University.
- van der Fels-Klerx, H. J., Camenzuli, L., Belluco, S., Meijer, N., & Ricci, A. (2018). Food Safety Issues Related to Uses of Insects for Feeds and Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(5): 1172-1183.
- van Huis, A. (2003). Insects as Food in Sub-Saharan Africa. *International Journal of Tropical Insect Science*, 23(3): 163-185.
- van Huis, A. (2013). Potential of Insects as Food and Feed in Assuring Food Security. *Annual Review of Entomology*, 58: 563-583.
- van Huis, A. (2017). Edible Insects: marketing the impossible? *Journal of Insects as Food and Feed*, 3(2): 67-68.
- van Huis, A., & Oonincx, D. G. (2017). The environmental sustainability of insects as food and feed. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37: 43.
- Vandeweyer, D., Crauwels, S., Lievens, B., & Van Campenhout, L. (2017a). Metagenetic analysis of the bacterial communities of edible insects from diverse production cycles at industrial rearing companies. *International Journal of Food Microbiology*, 261: 11-18.
- Vandeweyer, D., Crauwels, S., Lievens, B., & Van Campenhout, L. (2017b). Microbial counts of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) and crickets (*Acheta domesticus* and *Gryllobes sigillatus*) from different rearing companies and different production batches. *International Journal of Food Microbiology*, 242: 13-18.
- Vandeweyer, D., Wynants, E., Crauwels, S., Verreth, C., Viaene, N., Claes, J., . . . Van Campenhout, L. (2018). Microbial Dynamics during Industrial Rearing, Processing, and Storage of Tropical House Crickets (*Gryllobes sigillatus*) for Human Consumption. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(12): e00255-18.
- Verbeke, W. (2015). Profiling consumers who are ready to adopt insects as meat substitute in a Western society. *Food Quality and Preference*, 39: 147-155.
- WHO. (2015). *WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015*. Geneva, Switzerland.
- Wilkinson, J. M. (2011). Re-defining efficiency of feed use by livestock. *Animal*, 5(7): 1014-1022.
- Womeni, H. M., Linder, M., Tiencheu, B., Mbiapo, F. T., Villeneuve, P., Fanni, J., & Parmentier, M. (2009). Oils of insects and larvae consumed in Africa: potential sources of polyunsaturated fatty acids. *Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, 16(4): 230-235.
- Yin, W., Liu, J., Liu, H., & Lv, B. (2017). Nutritional Value, Food Ingredients, Chemical and Species Composition of Edible Insects in China. Em H. Mikkola, *Future Foods* (pp. 27-53). IntechOpen.
- Zhao, X., Vázquez-Gutiérrez, J. L., Johansson, D. P., Landberg, R., & Langton, M. (2016). Yellow Mealworm Protein for Food Purposes-Extraction and Functional Properties. *PLoS ONE*, 11(2): e0147791.

## **FONTES ELETRÓNICAS**

Aki à Bixo (2019). Obtido de <http://www.akiabixo.com/> [Consultado a 22 de abril de 2019]

Comissão Europeia (2019). Obtido de [https://ec.europa.eu/food/safety/novel\\_food/authorisations/summary-applications-and-notifications\\_en](https://ec.europa.eu/food/safety/novel_food/authorisations/summary-applications-and-notifications_en) [Consultado a 11 de janeiro de 2019]

Jongema, Y. (2017). *List of edible insects of the world* (April 1, 2017) - WUR. Obtido de <https://www.wur.nl/en/Research-Results/Chair-groups/Plant-Sciences/Laboratory-of-Entomology/Edible-insects/Worldwide-species-list.htm> [Consultado a 12 de outubro de 2018]

## ANEXOS

### ANEXO A. Inquérito

#### Entomofagia

Segundo a FAO, a população mundial atingirá, até 2050, nove bilhões de pessoas, prevendo-se assim que as necessidades de produção de alimentos dupliquem e a escassez de água, a exploração agrícola e a sobrepesca aumentem.

A ENTOMOFAGIA, uso de insetos na alimentação humana, é amplamente praticada em algumas regiões do mundo, fazendo parte da dieta de pelo menos dois bilhões de pessoas.

Solicitamos a sua colaboração através do preenchimento do presente inquérito, de caráter anônimo e de natureza confidencial, garantindo que as informações recolhidas serão unicamente objeto de análise para a concretização dos objetivos do estudo.

Agradecemos a sua participação!

**\*Obrigatório**

##### 1. Género \*

*Marcar apenas uma oval.*

- Feminino  
 Masculino

##### 2. Idade \*

\_\_\_\_\_

##### 3. Nível de escolaridade \*

*Marcar apenas uma oval.*

- Ensino básico  
 Ensino secundário  
 Ensino superior

##### 4. Ocupação profissional \*

\_\_\_\_\_

##### 5. Já ouviu falar de entomofagia (comer insetos ou alimentos que incluem insetos como ingrediente)? \*

*Marcar apenas uma oval.*

- Sim  
 Não

##### 6. Sabia que há alimentos que podem ser fabricados com insetos como ingrediente (bolachas, snacks, barras proteicas ou energéticas)? \*

*Marcar apenas uma oval.*

- Sim  
 Não

7. Já consumiu insetos ou alimentos que incluem insetos como ingrediente? \*

Marcar apenas uma oval.

- Sim  
 Não

8. Estaria disposto a consumir insetos como alternativa à carne/peixe? \*

Marcar apenas uma oval.

	1	2	3	4	5	
Não, nunca consumiria	<input type="radio"/>	Sim, certamente consumiria				

9. Estaria disposto a consumir alimentos que incluem insetos como ingrediente (bolachas, snacks, barras proteicas ou energéticas)? \*

Marcar apenas uma oval.

	1	2	3	4	5	
Não, nunca consumiria	<input type="radio"/>	Sim, certamente consumiria				

10. Se NÃO estaria disposto a consumir insetos e/ou alimentos que incluem insetos, indique o(s) motivo(s)

Marcar tudo o que for aplicável.

- Tenho nojo/repugnância  
 Associo a falta de higiene  
 Tenho medo de transmissão de doenças  
 Acho que têm mau sabor  
 Acho que isso é um comportamento primitivo  
 Outra: \_\_\_\_\_

11. Se já consumiu ou estaria disposto a consumir insetos e/ou alimentos que incluem insetos, indique o(s) motivo(s)

Marcar tudo o que for aplicável.

- Tenho curiosidade  
 Acho são muito nutritivos  
 Acho que são saborosos  
 Acho que são mais amigos do ambiente que a carne e o peixe  
 Acho que é uma tendência gourmet  
 Outra: \_\_\_\_\_

## Secção sem título

12. A entomofagia é uma alternativa à pecuária tradicional (se não sabe, responda 3) \*

Marcar apenas uma oval.

	1	2	3	4	5	
Discordo totalmente	<input type="radio"/>	Concordo totalmente				

13. Os insetos são um alimento altamente nutritivo e saudável, que fornece quantidades satisfatórias de energia e proteínas, atendendo aos requisitos de aminoácidos e ácidos gordos essenciais (se não sabe, responda 3) \*

Marcar apenas uma oval.

	1	2	3	4	5	
Discordo totalmente	<input type="radio"/>	Concordo totalmente				

- ✘ 14. O impacto ambiental da produção de insetos é semelhante ao da produção de outros animais, como gado bovino ou suíno (se não sabe, responda 3) \*

Marcar apenas uma oval.

	1	2	3	4	5	
Discordo totalmente	<input type="radio"/>	Concordo totalmente				

15. Os insetos comestíveis podem abrigar uma grande variedade de microrganismos (se não sabe, responda 3) \*

Marcar apenas uma oval.

	1	2	3	4	5	
Discordo totalmente	<input type="radio"/>	Concordo totalmente				

- ✘ 16. Os riscos associados ao consumo de insetos são superiores aos associados ao consumo de outros animais (se não sabe, responda 3) \*

Marcar apenas uma oval.

	1	2	3	4	5	
Discordo totalmente	<input type="radio"/>	Concordo totalmente				

17. A legislação europeia é amplamente inexistente no que respeita ao uso e à segurança de insetos comestíveis para alimentação humana (se não sabe, responda 3) \*

Marcar apenas uma oval.

	1	2	3	4	5	
Discordo totalmente	<input type="radio"/>	Concordo totalmente				

## Secção sem título

18. Sabendo que os insetos comestíveis são tanto ou mais nutritivos que a carne ou o peixe, estaria disposto a experimentar insetos ou alimentos que incluem insetos como ingrediente? \*

Marcar apenas uma oval.

	1	2	3	4	5	
Não, nunca experimentalaria	<input type="radio"/>	Sim, certamente experimentalaria				

19. Sabendo que a pegada ecológica dos insetos comestíveis é 13 vezes menor que a produção de carne de vaca e 4 vezes menor que a de carne de porco, estaria disposto a experimentar insetos ou alimentos que incluem insetos como ingrediente? \*

Marcar apenas uma oval.

	1	2	3	4	5	
Não, nunca experimentalia	<input type="radio"/>	Sim, certamente experimentalia				

20. Sabendo que os insetos devidamente cozinhados ou processados são tão seguros para a saúde como a carne ou peixe, estaria disposto a experimentar insetos ou alimentos que incluem insetos como ingrediente? \*

Marcar apenas uma oval.

	1	2	3	4	5	
Não, nunca experimentalia	<input type="radio"/>	Sim, certamente experimentalia				

21. Estaria disposto a experimentar ou consumir este produto após preparação culinária (frito, salteado, ...)? \*



Marcar apenas uma oval.

	1	2	3	4	5	
Não, nunca experimentalia	<input type="radio"/>	Sim, certamente experimentalia				

22. Estaria disposto a experimentar ou consumir este produto que inclui 5% de farinha de grilo? \*



Marcar apenas uma oval.

	1	2	3	4	5	
Não, nunca experimentalia	<input type="radio"/>	Sim, certamente experimentalia				

Com tecnologia  
 Google Forms

## **ANEXO B. Lista de comunicações em congresso resultantes do trabalho**

### **ANEXO B1.**

Melo, F., Patarata, L., Borges, P. (2019, Junho). Perfil da microbiota de três espécies de insetos edíveis frescos congelados e ultracongelado. Poster submetido no Congresso INSECTA – II Congresso Internacional sobre Produção e Utilização de Insetos, Ponte de Lima

# PERFIL DA MICROBIOTA DE TRÊS ESPÉCIES DE INSETOS EDÍVEIS FRESCOS, CONGELADOS E ULTRACONGELADOS

Melo, F.<sup>1</sup>, Patarata, L.<sup>1,2\*</sup>, Borges, P.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD),

<sup>2</sup>Centro de Ciência animal e Veterinária (CECAV)

<sup>3</sup>Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar - IPLeiria

\*UTAD, Blocos Laboratoriais, 5001-801 Vila Real, Portugal; [lpatarat@utad.pt](mailto:lpatarat@utad.pt)

## INTRODUÇÃO

De acordo com as estimativas, o mundo atingirá nove bilhões de habitantes nos próximos 30 anos, prevendo-se assim que as necessidades de produção de alimentos dupliquem e a escassez de água, a exploração agrícola e a sobrepesca aumentem, tornando-se urgente reavaliar hábitos alimentares e encontrar soluções para combater este paradigma (FAO, 2013). A entomofagia faz parte da dieta de pelo menos dois bilhões de pessoas em todo o mundo, com mais de 2000 espécies de insetos atualmente usadas como alimento (van Huis, 2013), oferece uma oportunidade significativa, como um recurso promissor disponível para assegurar um futuro sustentável e ecologicamente responsável (Costa-Neto, 2013). Os insetos são uma fonte alimentar altamente nutritiva e saudável que fornece quantidades satisfatórias de energia e proteínas, atendendo aos requisitos de aminoácidos, vitaminas, fibras e minerais para seres humanos (FAO, 2013). No entanto, existem alguns potenciais riscos associados à sua produção, processamento e consumo. A presença de riscos microbiológicos para a saúde humana pode, além do substrato utilizado, ser afetada pelo ambiente de criação e pelas etapas de processamento decorrentes entre a agricultura e o consumo (EFSA, 2015) e por esse motivo, antes que os insetos possam ser consumidos e comercializados é necessária uma garantia de segurança alimentar (van der Fels-Klerx *et al.*, 2018). A congelação é a forma mais comum de conservação de alimentos, sendo frequentemente usada para prolongar a vida útil de produtos. A água ao solidificar reduz drasticamente a taxa de reações, como é caso do crescimento microbiano. Contudo, alguns dos microrganismos não são destruídos pelo processo, entrando em estado de latência (Augusto *et al.*, 2018).

Desta forma, este trabalho teve como objetivo determinar a microbiota natural, não patogénica, presente em três espécies de insetos edíveis produzidos em Portugal no estado fresco, congelado e ultracongelado.

## MATERIAL E MÉTODOS

As espécies de insetos estudadas, *Acheta domesticus* em fase adulta, *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio* em fase larvar, foram mantidas em jejum por um período de 16 horas para redução do conteúdo intestinal. Foram analisados insetos de três lotes.

No tratamento por congelação convencional as amostras foram seladas hermeticamente em sacos de polietileno e colocadas a -20 °C durante 24 horas, utilizando uma arca congeladora horizontal. No tratamento por ultracongelação as amostras foram igualmente seladas e colocadas a -80 °C durante 24 horas, utilizando um ultracongelador.

A contagem de microrganismos foi realizada a partir da diluição de 5 g de amostra em 45 ml de APT (água peptonada tamponada) e a partir da solução obtida foram efetuadas diluições sucessivas em 9 ml da mesma solução. A contagem de microrganismos totais mesófilos (MTM), foi efetuada sementeira por incorporação de 1 ml das diluições pertinentes em meio de cultura PCA (plate count agar) seguida de incubação a 30 °C durante 72 horas (ISO 4833 de 1991). A contagem de *Enterobacteriaceae*, foi efetuada sementeira por incorporação de 1 ml das diluições pertinentes em meio de cultura VRBG (violet red bile glucose agar) por dupla camada. Incubação a 37 °C, 24 horas (ISO 21528-2 de 2004). A contagem de *Pseudomonas* spp. foi feita de acordo com a ISO 13720 (2010) por sementeira em superfície de meio de cultura CFC; incubação a 30 °C durante 48 horas. A contagem de bactérias do ácido láctico (BAL), foi efetuada sementeira por incorporação de 1 ml das diluições pertinentes em meio de cultura MRS (Man Rogosa Sharpe agar) por dupla camada. As placas foram incubadas a 30 °C durante 72 horas (ISO 15214, 1998). Para a contagem de esporos de clostrídios sulfito-

redutores, procedeu-se à inativação das diluições por choque térmico num banho de água a 80 °C durante 10 minutos. Posteriormente, foi efetuada sementeira por incorporação de 1 ml das diluições pertinentes no meio de cultura ISA (Iron Sulfite Agar) seguindo-se incubação a 37 °C em anaerobiose durante 5 dias. Todos os resultados das contagens foram expressos em log ufc/g. O efeito da congelação na contagem de microrganismos foi feita por análise de variância unidirecional realizada com o programa SPSS 25.0 (SPSS Inc., Chicago), considerando  $p < 0,05$  como estatisticamente significativo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os insetos analisados apresentavam um microbiota abundante, destacando-se as amostras de *Tenebrio molitor* como as que apresentaram a menor contaminação, com contagens menores de MTM, *Enterobacteriaceae*, e *Pseudomonas* spp. Já na contagem de BAL as amostras de *Tenebrio molitor* apresentaram uma contagem semelhante à observada em *Zophobas morio*. As contagens de clostrídios sulfito-redutores estiveram em todos os insetos abaixo do limite de deteção do método (1 log ufc/g).

Esta microbiota encontrada em insetos é superior à encontrada em carne e pescado frescos, podendo atingir-se contagem daquela ordem de grandeza já no fim da validade (Adams e Moss, 2000). O teor em *Enterobacteriaceae*, que na carne e outros alimentos é muito utilizado como indicador de higiene, apresenta nos insetos, particularmente em *Acheta domesticus* e em *Zophobas morio* teores que seriam considerados elevados. Comparando os valores observados no presente trabalho com os impostos pelo Regulamento CE 1441 de 2007 para critérios de higiene dos processos para carne e produtos derivados – tomando por exemplo as exigências para preparados de carne – só é permitido, de uma amostragem de cinco amostras, ter duas amostras com a contagem de *Enterobacteriaceae* entre 2,7 e 3,7 log ufc/g, e nenhuma pode ultrapassar aquele limite máximo, o que sugere que a realidade observada em insetos está muito longe de poder cumprir estes critérios de higiene. Isso deve-se, de entre outros motivos ao facto de os insetos não serem eviscerados, e apesar do jejum a que foram submetidos antes da análise, a amostra revelou sempre a inclusão de conteúdos intestinais que são sempre partes do animal mais contaminadas.

As contagens observadas no presente trabalho em *Tenebrio molitor* são consideravelmente mais reduzidas do que as publicadas por Stoops et al., (2016), que apresentava valores compreendidos entre 7 e 8 log ufc de MTM, *Enterobacteriaceae* e BAL em larvas comercializadas para o consumo humano numa “eco-loja” belga. Também em espécies de *Acheta* e de *Zophobas*, Grabowski e Klein (2017) encontraram contagens de MTM e *Enterobacteriaceae* da ordem das observadas no presente trabalho.

Devido à sua elevada carga microbiana, que pode incluir vários perigos biológicos para o Homem conforme revisto por Fraqueza e Patarata (2017), os insetos devem ser sempre consumidos após preparação tecnológica ou culinária que envolva uma etapa de tratamento térmico ou similar para reduzir consideravelmente a quantidade de microrganismos e eliminar a níveis seguros os eventuais patogénicos presentes (Sun-Waterhouse et al., 2016).

A congelação é um método de conservação que não tem um efeito letal expectável sobre os microrganismos. Porém, pode haver alguma letalidade marginal, que se manifestou somente em *Pseudomonas* spp. em *Acheta domesticus* e em *Zophobas morio* e na contagem de BAL em *Tenebrio molitor*. A contagem de MTM foi ligeiramente menor nas amostras congeladas de *Zophobas morio*, ainda que com o teste de localização de diferenças entre médias utilizado, não foi possível detetá-las. A letalidade observada em *Pseudomonas* spp. poder-se-á dever às alterações do lipopolissacarídeo que compõe a camada externa da parede celular, levando a que algumas das funções membranares fiquem comprometidas, nomeadamente a perda de cationes, e reduzindo assim a viabilidade do microrganismo após descongelação (Boziaris e Adams, 2001). A exposição dos microrganismos em geral, e das BAL em particular, a baixa temperatura e subsequente cristalização de gelo durante processo de congelamento provoca danos celulares. A formação de cristais de gelo ocorre primeiro nos espaços extracelulares criando um ambiente hiperosmótico, que por sua vez retira água das células. À medida que o processo progride pode haver danos em organitos celulares, o que compromete definitivamente a viabilidade do microrganismo (Kwon et al., 2018).

**Agradecimentos:** Este trabalho foi apoiado pelo projeto UID/CVT/00772/2019, suportado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT).

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, M.R., Moss, M.O. (2000). Food Microbiology. 2nd Edition. The Royal Society of Chemistry. Cambridge.
- Augusto, P. E., Soares, B. M., & Castanha, N. (2018). Conventional Technologies of Food Preservation. Em F. Barba, A. S. Sant'Ana, V. Orlien, & M. Koubaa, Innovative Technologies for Food Preservation: Inactivation of Spoilage and Pathogenic Microorganisms (pp. 3-23). Oxford, United Kingdom: Elsevier Inc.
- Boziaris, I.S., M.R. Adams (2001), Temperature shock, injury and transiente sensitivity to nisin in Gram negatives. Journal of Applied Microbiology. 91: 714-724.
- Costa-Neto, E. M. (2013). Insects as human food: An overview. Amazôn. Ver. Antropol., 5(3): 562-582.
- EFSA Scientific Committee (2015). Scientific Opinion on a risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. EFSA Journal, 13(10): 4457.
- FAO (2013). Edible Insects: future prospects for food and feed security. Rome, Italy.
- Fraqueza, M. J., & Patarata, L. A. (2017). Contraints of HACCP Application on Edible Insect for Food and Feed. Em H. Mikkola, Future Foods (pp. 89-113). IntechOpen.
- Grabowski, N. T., & Klein, G. (2017). Bacteria encountered in raw insect, spider, scorpion, and centipede taxa including edible species, and their significance from the food hygiene point of view. Trends in Food Science & Technology, 63(80), 90.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.01.007>
- Kwon, Y. W., Bae, J. H., Kim, S. A., & Han, N. S. (2018). Development of freeze-thaw tolerant lactobacillus rhamnosus gg by adaptive laboratory evolution. Frontiers in Microbiology, 9(NOV), 1–10.
- Stoops, J., Crauwels, S., Waud, M., Claes, J., Lievens, B., & Van Campenhout, L. (2016). Microbial community assessment of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) and grasshoppers (*Locusta migratoria migratorioides*) sold for human consumption. Food Microbiology. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.09.010>
- Sun-Waterhouse, D., Waterhouse, G. I. N., You, L., Zhang, J., Liu, Y., & Ma, L. (2016). Transforming insect biomass into consumer wellness foods: A review. FRIN, 89, 129–151. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.001>
- van der Fels-Klerx, H. J., Camenzuli, L., Belluco, S., Meijer, N., & Ricci, A. (2018). Food Safety Issues Related to Uses of Insects for Feeds and Foods. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 17(5): 1172-1183
- van Huis A, Van Itterbeeck J, Klunder H, Mertens E, Halloran A, Muir G, et al. (2013) Edible Insects: Future Prospects for Food and Feed Security. Rome: FAO.

**QUADRO 1.** Contagem de microrganismos totais mesófilos (MTM), *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. e bactérias do ácido láctico (BAL) nos três lotes de *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor* *Zophobas morio* fresco e conservado por congelação e ultracongelação. Resultados expressos em média ± desvio padrão log ufc/g.

Inseto Tratamento	MTM	<i>Enterobact.</i>	<i>Pseudomonas</i>	BAL
<b><i>Acheta domesticus</i></b>				
Fresco	7,25 ± 0,20	6,52 ± 0,67	4,49 ± 0,43 a	7,16 ± 0,34
Congelado	7,33 ± 0,37	6,59 ± 0,51	2,56 ± 0,23 b	6,82 ± 0,54
Ultracongelado	7,56 ± 0,20	6,67 ± 0,25	2,38 ± 0,30 b	6,44 ± 0,84
p	0,406	0,934	<0,001	0,398
<b><i>Tenebrio molitor</i></b>				
Fresco	4,59 ± 0,41	4,43 ± 0,20	3,12 ± 0,29	6,04 ± 0,25 a
Congelado	4,26 ± 0,04	4,37 ± 0,18	3,00 ± 0,10	4,53 ± 0,20 b
Ultracongelado	4,33 ± 0,24	4,48 ± 0,36	2,92 ± 0,46	4,20 ± 0,24 b
p	0,364	0,866	0,741	<0,001
<b><i>Zophobas morio</i></b>				
Fresco	7,70 ± 0,18	6,37 ± 0,19	5,40 ± 0,20 b	6,60 ± 0,18
Congelado	7,31 ± 0,16	6,48 ± 0,46	3,71 ± 0,24 a	6,77 ± 0,24
Ultracongelado	7,15 ± 0,19	6,35 ± 0,08	4,20 ± 0,05 c	6,62 ± 0,38
p	0,024	0,835	<0,001	0,727

ab - Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, e para o mesmo inseto, apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

## MICROBIAL PROFILE OF THREE EDIBLE INSECTS, FRESH, FROZEN AND QUICK-FROZEN

### ABSTRACT

It is estimated that the world will have nine billion people over the next 30 years and food production needs are expected to double and water shortages, and overfishing will increase, making it urgent to re-evaluate and finding solutions to fight this paradigm. Entomophagy, widely practiced as part of the diet of at least two billion people worldwide, with over 2000 species of insects currently used as food, offers a significant opportunity as a promising resource available to ensure a sustainable and ecologically responsible future

This work aimed to determine the dominant microbiota of three species of fresh, frozen and quick-frozen edible insects commercially produced in Portugal.

The counts of total mesophilic microorganisms, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. and lactic acid bacteria in three batches of *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio* were high, but expected due to the nature of these Food, that were analyzed whole, gut included. The freezing process reduced slightly few of the counted microorganisms.

**KEYWORDS:** edible insects; microbiota; freezing

## **ANEXO B2.**

Melo, F., Patarata, L., Borges, P. (2019, Junho). Efeito de diferentes métodos de desidratação na microbiota de *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio*. Poster submetido no Congresso INSECTA – II Congresso Internacional sobre Produção e Utilização de Insetos, Ponte de Lima

# EFEITO DE DIFERENTES MÉTODOS DE DESIDRATAÇÃO NA MICROBIOTA DE *ACHETA DOMESTICUS*, *TENEBRIO MOLITOR* E *ZOPHOBAS MORIO*

Melo, F.<sup>1</sup>, Patarata, L.<sup>1,2\*</sup>, Borges, P.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD),

<sup>2</sup>Centro de Ciência animal e Veterinária (CECAV)

<sup>3</sup>Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – IPLeiria

\*UTAD, Blocos Laboratoriais, 5001-801 Vila Real, Portugal; [lpatarat@utad.pt](mailto:lpatarat@utad.pt)

## INTRODUÇÃO

Os insetos desempenham um papel fundamental na natureza e na história da nutrição humana, tendo, dessa forma, o potencial de contribuir positivamente para a subsistência e para reduzir a desnutrição numa população global em expansão (Dobermann *et al.*, 2017). Segundo a FAO (2013), são uma fonte de alimento rica em aminoácidos, vitaminas, fibras e minerais, que fornece as quantidades necessárias de energia e proteína. Contudo, de acordo com os valores reportados de pH, humidade e atividade de água (aw), os insetos apresentam um ambiente favorável à sobrevivência e crescimento de microrganismos e, por essa razão, a segurança microbiana deve ser levada em consideração (Fraqueza & Patarata, 2017). As várias formas de deterioração microbiológica são, na grande maioria, evitáveis por meio de uma ampla gama de técnicas de conservação, tradicionalmente aplicadas para inibir ou inativar o crescimento microbiano e prolongar assim, a vida útil de produtos alimentares (Gould, 1996). Entre os métodos de conservação, a secagem ao sol é conhecida por ser um método muito popular na preservação de insetos (Fombong *et al.*, 2017). Durante a operação de secagem, a água dos insetos é removida por evaporação e ocorre uma significativa redução na microbiota por meio de uma diminuição da atividade de água (aw) (Fellows, 2000). Quanto mais elevada a temperatura do processo, maior a redução (Grabowski & Klein, 2017). Para que os insetos possam contribuir, num futuro próximo, para uma evolução mais sustentável é necessário testar processos de preparação e transformação, provando para diferentes espécies de insetos que esses métodos, assim como os produtos finais são seguros para o consumo humano. Deste modo, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes métodos de desidratação sobre a microbiota natural, não patogénica, nas espécies de inseto *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio*.

## MATERIAL E MÉTODOS

As espécies de insetos estudadas, *Acheta domesticus* em fase adulta, *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio* em fase larvar, foram mantidas em jejum por um período de 16 horas para redução do conteúdo intestinal. Foram analisados insetos de três lotes.

Foram realizados tratamentos por desidratação em estufa e em forno e liofilização. Na desidratação em estufa as amostras foram dispostas uniformemente em bandejas e colocadas a 25 °C durante 24 horas, utilizando uma estufa de laboratório. Após este período, as amostras foram seladas hermeticamente em sacos de polietileno e armazenadas em temperatura ambiente. Na desidratação em forno as amostras foram dispostas uniformemente em bandejas e colocadas a 60 °C durante 4 horas, utilizando um forno convetor. Após este período, as amostras foram igualmente seladas e armazenadas em temperatura ambiente. Na liofilização as amostras foram colocadas em tubos falcon e congeladas num ultracongelador a -80 °C durante 24 horas e posteriormente liofilizadas em vácuo, a uma temperatura de -46 °C e pressão 0 bar durante 72 horas.

A contagem de microrganismos foi realizada a partir da diluição de 5 g de amostra em 45 ml de APT (água peptonada tamponada) e a partir da solução obtida foram efetuadas diluições sucessivas em 9 ml da mesma solução. A contagem de microrganismos totais mesófilos (MTM), foi efetuada sementeira por incorporação de 1 ml das diluições pertinentes em meio de cultura PCA (plate count agar) seguida de incubação a 30 °C durante 72 horas (ISO 4833 de 1991). A contagem de *Enterobacteriaceae*, foi efetuada sementeira por incorporação de 1 ml das diluições pertinentes em meio de cultura VRBG (violet red bile glucose agar) por dupla camada. Incubação a 37 °C, 24h (ISO 21528-2 de 2004). A contagem de *Pseudomonas spp.* foi feita de acordo com a ISO 13720 (2010) por sementeira em superfície de meio e cultura CFC; incubação a 30 °C durante 48 horas. A contagem de bactérias do ácido láctico (BAL), foi efetuada sementeira por incorporação de 1 ml das diluições pertinentes em meio de cultura

MRS (Man Rogosa Sharpe agar) por dupla camada. As placas foram incubadas a 30 °C durante 72 horas (ISO 15214, 1998). Para a contagem de esporos de clostrídios sulfitorreduzidores, procedeu-se à inativação das diluições por choque térmico num banho de água a 80 °C durante 10 minutos. Posteriormente, foi efetuada sementeira por incorporação de 1 ml das diluições pertinentes no meio de cultura ISA (Iron Sulfite Agar) seguindo-se incubação a 37 °C em anaerobiose durante 5 dias. Todos os resultados das contagens foram expressos em log ufc/g. O efeito da desidratação na contagem de microrganismos foi feita por análise de variância unidirecional realizada com o programa SPSS 25.0 (SPSS Inc., Chicago), considerando  $p < 0,05$  como estatisticamente significativo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A desidratação é um processo de conservação que se baseia na redução da atividade da água do alimento. Essa redução tem um efeito essencialmente bacteriostático, podendo ter um efeito bactericida residual. No entanto, se a temperatura usada durante a desidratação for suficientemente elevada, poderá haver uma redução significativa da microbiota por ação do calor. Os resultados do presente trabalho (Quadro 1) apontam nesse sentido, já que a desidratação em forno, como foi realizada a 60°C, contribuiu para a redução da contagem de microrganismos pela ação do calor, dado que essa temperatura já tem um efeito letal assinalável, e para redução da atividade da água. Na desidratação em estufa, realizada a 25°C, não há nenhum efeito direto da temperatura, mas sim da reduzida atividade da água. Os resultados apontam para um efeito mais letal mais acentuado sobre as bactérias Gram negativas, que são mais sensíveis à reduzida atividade da água (Adams & Moss, 2000). A liofilização foi o processo que melhor preservou os microrganismos. A associação entre a congelação rápida e a sublimação do gelo é uma combinação que protege as células de muitos dos danos que, quer a congelação, quer a desidratação isoladamente inferem às células microbianas (Costa & Ferreira, 1991).

A contaminação inicial da ordem de 7 log ufc/g observada no presente trabalho com *Acheta domesticus* é semelhante à observada por Vandeweyer et al. (2018) com MTM, *Enterobacteriaceae* e BAL. Estes autores também observaram uma redução considerável da contagem durante a desidratação. Osimani et al. (2018) observaram em larvas de *Tenebrio molitor* criadas em laboratório contagens similares às observadas no presente trabalho no produto fresco.

Os insetos têm genericamente um microbiota elevada, pelo que o seu consumo deve ser sempre precedido de um tratamento térmico que assegure a sua redução. A cozedura por tempo suficiente antes da desidratação deve ser tida em consideração para reduzir as hipóteses do inseto se deteriorar por modificações promovidas pela microbiota, ou de representar risco para a saúde do consumidor, caso essa microbiota inclua agentes patogénicos.

**Agradecimentos:** Este trabalho foi apoiado pelo projeto UID/CVT/00772/2019, suportado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, M.R., Moss, M.O. (2000). Food Microbiology. 2nd Edition. The Royal Society of Chemistry. Cambridge.
- Costa, C. P., Ferreira, M. C. (1991). Preservation of microorganisms – A review. *Revista de Microbiologia*, 22: 263-268
- Dobermann, D., Swift, J. A., Field, L. M. (2017). Opportunities and hurdles of edible insects for food and feed. *Nutrition Bulletin*, 42(4): 293-308
- FAO (2013). Edible Insects: future prospects for food and feed security. Rome, Italy
- Fellows, P. J. (2000). Food processing technology: Principles and practice - Second Edition. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited.
- Fombong, F. T., van der Borght, M., & Broeck, J. V. (2017). Influence of Freeze-Drying and Oven-Drying Post Blanching on the Nutrient Composition of the Edible Insect *Ruspolia differens*. *Insects*, 8(3): 102.

- Fraqueza, M. J., & Patarata, L. A. (2017). Constraints of HACCP Application on Edible Insect for Food and Feed. Em H. Mikkola, Future Foods (pp. 89-113). IntechOpen.
- Gould, G. W. (1996). Methods for preservation and extension of shelf life. *Int. J. Food Microbiology*, 33(1): 51-64
- Grabowski, N. T., & Klein, G. (2017a). Bacteria encountered in raw insect, spider, scorpion, and centipede taxa including edible species, and their significance from the food hygiene point of view. *Trends in Food Science & Technology*, 63: 80-90.
- Osimani, A., Milanovic, V., Cardinali, F., Garofalo, C., Clementi, F., Pasquini, M., . . . Aquilanti, L. (2018). The bacterial biota of laboratory-reared edible mealworms (*Tenebrio molitor* L.): From feed to frass. *International Journal of Food Microbiology*, 272: 49-60.
- Vandeweyer, D., Wynants, E., Crauwels, S., Verreth, C., Viaene, N., Claes, J., . . . Van Campenhout, L. (2018). Microbial Dynamics during Industrial Rearing, Processing, and Storage of Tropical House Crickets (*Gryllobates sigillatus*) for Human Consumption. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(12): e00255-18

**QUADRO 1.** Contagem de microrganismos totais mesófilos (MTM), Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* spp. e bactérias do ácido láctico (BAL) nos três lotes de *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor* *Zophobas morio* fresco e desidratados em estufa (25°C), em forno (60°C) e liofilizados. Resultados expressos em média ± desvio padrão log ufc/g.

Inseto Tratamento	MTM	Enterobact.	Pseudomonas	BAL
<b><i>Acheta domesticus</i></b>				
Fresco	7,25 ± 0,20b	6,52 ± 0,67c	4,49 ± 0,43b	7,16 ± 0,34b
D. Estufa	6,97 ± 0,67b	4,26 ± 0,21ab	1,64 ± 1,44ab	2,87 ± 0,22a
D. Forno	3,46 ± 0,08a	3,17 ± 0,41a	< LDa	2,24 ± 0,89a
Liofilizado	7,23 ± 0,30b	5,11 ± 0,50b	1,98 ± 1,72ab	6,64 ± 0,32b
p	<0,001	<0,001	0,009	<0,001
<b><i>Tenebrio molitor</i></b>				
Fresco	4,59 ± 0,41ab	4,43 ± 0,20b	3,12 ± 0,29b	6,04 ± 0,25c
D. Estufa	6,28 ± 0,75b	< LDa	< LDa	3,13 ± 0,71b
D. Forno	3,37 ± 0,20a	< LDa	< LDa	< LDa
Liofilizado	5,06 ± 1,13ab	4,74 ± 0,45b	1,13 ± 1,97b	5,82 ± 0,36c
p	0,007	<0,001	0,015	<0,001
<b><i>Zophobas morio</i></b>				
Fresco	7,70 ± 0,18d	6,37 ± 0,19c	5,40 ± 0,20c	6,60 ± 0,18c
D. Estufa	5,24 ± 0,06a	< LDa	< LDa	4,20 ± 0,05a
D. Forno	3,01 ± 0,15b	< LDa	< LDa	0,64 ± 1,11a
Liofilizado	7,04 ± 0,43c	5,86 ± 0,27b	3,14 ± 0,60b	6,21 ± 0,33b
p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

ab - Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, para o mesmo inseto, apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

LD – Limite de Detecção; para efeitos de cálculo considerou-se 0.

## EFFECT OF DIFFERENT METHODS OF DEHYDRATION IN THE MICROBIOTA OF ACHETA DOMESTICUS, TENEBRIO MOLITOR AND ZOPHOBAS MORIO

### ABSTRACT

Insects are a source of foods rich in amino acids, vitamins, fibers and minerals, which provide the necessary amounts of energy and protein, yet present an environment conducive to the growth of microorganisms. Various forms of microbiological deterioration are avoided through a wide range of storage techniques. Among conservation methods, sun drying is known to be a very popular method of insect preservation. The objective of this work was to evaluate the effect of dehydration in laboratory oven and the conventional oven and of lyophilization on the nonpathogenic natural microbiota of insect species *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor* and *Zophobas morio*.

Both laboratory oven and conventional oven dehydration presented a lethal effect on the three insects species microbiota. In *Tenebrio molitor* and *Zophobas morio* the count of *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas* spp. found to be below the detection limit. The lyophilization process preserved the microorganisms

**KEYWORDS:** edible insects; microbiota; dehydration

**ANEXO B3.**

Melo, F., Borges, P., Patarata, L. (2019, Junho). Conhecimentos e percepções do consumidor português em relação à entomofagia. Comunicação oral submetida no Congresso INSECTA – II Congresso Internacional sobre Produção e Utilização de Insetos, Ponte de Lima

# CONHECIMENTOS E PERCEÇÕES DO CONSUMIDOR PORTUGUÊS EM RELAÇÃO À ENTOMOFAGIA

Melo, F.<sup>1</sup>, Borges, P.<sup>3</sup>, Patarata, L.<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD),

<sup>2</sup>Centro de Ciência animal e Veterinária (CECAV)

<sup>3</sup>Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar - IPLeia

\*UTAD, Blocos Laboratoriais, 5001-801 Vila Real, Portugal; [lpatarat@utad.pt](mailto:lpatarat@utad.pt)

## INTRODUÇÃO

A população mundial atingirá, até 2050, nove bilhões de pessoas. Nas próximas décadas a produção de alimentos precisará de duplicar, colocando inevitavelmente uma forte pressão em recursos já limitados. A terra arável é cada vez mais escassa e a agricultura uma opção raramente viável, uma vez que o setor pecuário usa cerca de 70% da área agrícola disponível. Os oceanos estão sobreexplorados e o setor da aquicultura explodiu, correspondendo a aproximadamente 50% da produção mundial de peixe. Da mesma forma, a escassez de água relacionada com as alterações climáticas pode ter implicações profundas na produção de alimentos (FAO, 2013). Deste modo, a FAO tem avaliado o potencial de insetos como alimento humano e para animais, salientando “os benefícios nutricionais excepcionais de muitos insetos florestais e (...) o potencial de produzir insetos para alimentação com muito menos impactos ambientais negativos do que muitos alimentos tradicionais consumidos atualmente” (FAO, 2010). A entomofagia define-se como a prática de consumir insetos por qualquer organismo, sendo comumente usada para se referir especificamente ao consumo humano (Raheem et al., 2018). O consumo de insetos está enraizado na história evolutiva humana e ocupa uma importante e promissora posição na dieta humana desde os tempos antigos oferecendo uma oportunidade significativa, como um recurso promissor disponível para assegurar um futuro sustentável e ecologicamente responsável (Costa-Neto, 2013). No entanto, desde que os insetos edíveis foram introduzidos nas sociedades europeias não são tradicionalmente consumidos, nem aceites como alimento (Tomila & Zieheinsack, 2017). A maioria dos países ocidentais reluta considerar a ingestão de insetos, associando-os a um alimento a ser consumido apenas em tempos de extrema escassez (Dobermann et al., 2017) e considerando a prática um comportamento primitivo. O conceito de neofobia alimentar, receio de experimentar novos produtos, motivado pelo desagrado devido às características organolépticas, pelo medo de risco de doença ou pela repulsa decorrente de impressão prévia da origem do produto, é sugerido como a razão para essa rejeição (Tao & Li, 2018). O maior obstáculo ao consumo de insetos é a questão cultural, hábito naturalmente adquirido ao longo das gerações. A cultura, sob a influência do ambiente, da história, da estrutura familiar e crenças religiosas, dos sistemas políticos e económicos, conjuntamente com o esforço humano, define as regras em relação ao que é ou não comestível (Mela, 1999). O objetivo do presente trabalho foi avaliar o conhecimento do consumidor sobre a entomofagia e os seus potenciais benefícios para a saúde e para o ambiente e aferir a sua predisposição para vir a consumir insetos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para avaliar os conhecimentos e percepções do consumidor português face à entomofagia, foi realizado um questionário online usado uma plataforma online (Google Docs). O questionário foi realizado entre 10 e 14 de Maio de 2019. Foram recolhidas 419 respostas de consumidores do território nacional. O questionário apresentava 18 questões que incluíam hábitos de consumo de insetos ou alimentos que incluem insetos como ingrediente, conhecimento genérico sobre aspetos nutricionais e ambientais relacionados com insetos e a atitude dos consumidores face aos benefícios do seu consumo. As questões relativas à intenção e experiência de consumo tinham resposta dicotómica (sim/não) e as relativas ao conhecimento e atitude face ao consumo tinham resposta numa escala de Likert de 5 pontos, variando entre o “discordo completamente” e o “concordo completamente” ou entre o “nunca consumiria” e o “certamente consumiria”.

A amostra de consumidores, foi composta por 67,5% de mulheres, com uma idade média de 33,7±12,4 anos, variando entre os 18 e os 85 anos. A proporção de estudantes na amostra foi de 23,2%. A consistência interna do questionário foi avaliada através do alfa de Chronbach e a sua estrutura interna foi avaliada por análise fatorial. Foram detetadas duas perguntas

com padrão de resposta que foge à estrutura da escala “Os insetos comestíveis podem abrigar uma grande variedade de microrganismos” e “A legislação europeia é amplamente inexistente no que respeita ao uso e à segurança de insetos comestíveis para alimentação humana”, revelados pelo seu contributo individual para o indicador de confiabilidade da escala e pela sua ausência de relação com as duas componentes da escala definidas, revelada por pesos fatoriais da ordem dos 0,1 ou menores. Assim, após a retirada daqueles dois itens a escala apresenta um alfa de Cronbach de 0,91, que é considerado excelente. A estrutura da escala ficou definida com as duas dimensões utilizadas no planeamento uma relacionada com o conhecimento consumidor, e outra com a atitude face ao consumidor, sabendo qual o benefício nutritivo ou ambiental. A análise de dados foi realizada com o programa SPSS 25.0 (SPSS Inc., Chicago), considerando  $p < 0,05$  como estatisticamente significativo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

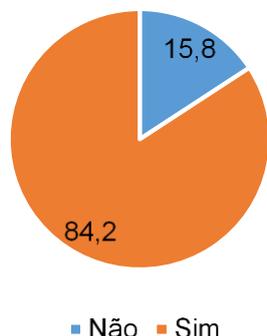
A maioria dos consumidores (84,2%) inquiridos já tinham ouvido falar de entomofagia, mas somente 18,1% já tinham consumido insetos ou produtos com insetos (Figura 1).

Os motivos apontados para a fraca predisposição para consumir foram essencialmente “Tenho nojo/repugnância” (75,9%) e “Tenho medo de transmissão de doenças” (27%). Os conhecimentos do consumidor são medianos, como se observa pelos valores médios de resposta ligeiramente superiores ao centro da escala. Há, porém, um grande desvio, indicando que há no consumidor uma grande variabilidade de conhecimentos. Quando se perguntou ao consumidor se estaria disposto a consumir insetos tendo em consideração algumas vantagens do seu consumo, quer nutritivas quer ambientais, o padrão de respostas foi semelhante ao observado com o conhecimento, mas houve desvios maiores, que refletem a atitude dos consumidores que, independentemente das vantagens não estão dispostos a consumir insetos ou produtos em que sejam usados como ingrediente.

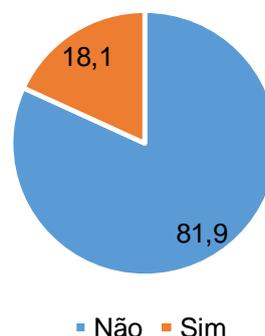
Quando se correlacionaram os valores de resposta dos consumidores às questões relativas ao conhecimento com a questão inicial “Estaria disposto a consumir insetos como alternativa à carne/peixe”, observou-se que os coeficientes de correlação de Spearman foram baixos (ainda que com  $p < 0,001$ ) com: alternativa à pecuária tradicional ( $r=0,35$ ), os aspetos nutritivos ( $r=0,34$ ), impacto ambiental (0,17), segurança sanitária semelhante aos outros animais (0,22). Quando essas correlações foram estabelecidas com as atitudes Atitude face ao consumo após informação, observaram-se correlações muito mais elevadas: aspetos nutritivos (0,73), impacto ambiental (0,70), segurança sanitária (0,71), para com a disponibilidade de vir a comer insetos em alternativa à carne ou ao peixe. Esta tendência revela que a informação é determinante para que o consumidor esteja predisposto a praticar entomofagia.

Quando se observa a resposta dos consumidores relativa à intenção e consumo de um produto apresentado em fotografia, revela-se a importância da repugnância do consumidor face ao inseto em si, pois a disposição para consumir *Acheta domesticus* (na fotografia) foi somente  $2,6 \pm 2,4$ , enquanto para bolachas com farinha daquele inseto (na fotografia) subiu para  $3,5 \pm 1,4$ . Esta tendência do consumidor mostrar maior disponibilidade para consumir produtos processados em que não reconheça o inseto tem sido detetada em vários estudos com consumidores, pois o reflexo de repugnância que a imagem provoca no consumidor fica mitigada (Gmuer et al., 2016).

Conhece "entomofagia"



Já comeu insetos ou produtos com insetos"



**FIGURA 1.** Proporção de consumidores com conhecimento prévio de entomofagia e que já experimentaram

**QUADRO 1.** Conhecimentos e atitudes dos consumidores face à entomofagia. Resultados expressos em Média±Desvio Padrão das respostas na escala de 5 pontos

Item do questionário	M±DP
<b>Conhecimento</b>	
A entomofagia é uma alternativa à pecuária tradicional	3,1±1,0
Os insetos são um alimento altamente nutritivo e saudável, que fornece quantidades satisfatórias de energia e proteínas, atendendo aos requisitos de aminoácidos e ácidos gordos essenciais	3,6±0,9
O impacto ambiental da produção de insetos é semelhante ao da produção de outros animais, como gado bovino ou suíno	3,6±1,0
Os riscos associados ao consumo de insetos são superiores aos associados ao consumo de outros animais	3,3±0,8
<b>Atitude face ao consumo após informação</b>	
<i>estaria disposto a experimentar insetos ou alimentos que incluem insetos como ingrediente</i>	
Sabendo que os insetos comestíveis são tanto ou mais nutritivos que a carne ou o peixe	3,2±1,4
Sabendo que a pegada ecológica dos insetos comestíveis é 13 vezes menor que a produção de carne de vaca e 4 vezes menor que a de carne de porco	3,3±1,4
Sabendo que os insetos devidamente cozinhados ou processados são tão seguros para a saúde como a carne ou peixe	3,4±1,4
<b>Atitude face ao consumo com fotografias</b>	
<i>Estaria disposto a experimentar ou consumir este produto</i>	
(GRILO) após preparação culinária (frito, salteado)	2,6±1,4
(BOLACHAS COM FARINHA DE GRILO) que inclui 5% de farinha de grilo	3,5±1,4

**Agradecimentos:** Este trabalho foi apoiado pelo projeto UID/CVT/00772/2019, suportado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Costa-Neto, E. M. (2013). Insects as human food: An overview. *Amazôn. Rev. Antropol.*, 5(3): 562-582
- Dobermann, D., Swift, J. A., Field, L. M. (2017). Opportunities and hurdles of edible insects for food and feed. *Nutrition Bulletin*, 42(4): 293-308
- FAO (2010). *Edible Forest Insects: humans bite back*. Bangkok, Thailand
- FAO (2013). *Edible Insects: future prospects for food and feed security*. Rome, Italy
- Gmuer, A., Guth, J. N., Hartmann, C., & Siegrist, M. (2016). Effects of the degree of processing of insect ingredients in snacks on expected emotional experiences and willingness to eat. *Food Quality and Preference*, 54, 117–127.
- Mela, D. J. (1999). Food choice and intake: the human factor. *Proc. Nutr. Soc.*, 58: 53-521
- Raheem, D., Carrascosa, C., Oluwole, O. B., Nieuwland, M., Saraiva, A., Millán, R., Raposo, A. (2018). Traditional consumption of and rearing edible insects in Africa, Asia and Europe. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*
- Tao, J., Li, Y. O. (2018). Edible Insects as a means to address global malnutrition and food insecurity issues. *Food Quality and Safety*, 2(1): 17-26
- Tommila, S., Ziehensack, J. (2017). *Bug Appétit! (Master's Thesis)*. Jönköping University

## CONCERNS AND PERCEPTIONS OF THE PORTUGUESE CONSUMER IN RELATION TO ENTOMOPHAGIA

### ABSTRACT

Most western countries are reluctant to consider eating insects by associating them with a food to be consumed only in times of extreme food shortages and by considering the practice a primitive behavior. The concept of food neophobia, fear of trying new products, is suggested as the reason for this rejection. In order to evaluate the consumer's knowledge about entomophagy and its potential health and environmental benefits and to evaluate its predisposition to consume insects, a questionnaire was carried out for consumers in the national territory. A total of 419 responses were collected which indicated that although most of the interviewed consumers had already heard of entomophagy, the knowledge on this topic was medium and there was a great variability of knowledge. Most consumers are not willing to consume insects or foods that include insects as an ingredient, however the attitude towards consumption tends to change after information on nutritional aspects or environmental impact. The consumer also showed a greater availability to consume processed products where the insect does not recognize the insect itself.

**KEYWORDS:** entomophagy; neophobia; consumers