

# Aplicação do processo de desengorduramento como potenciador do perfil sensorial e nível de aceitação de snacks em barra com incorporação de farinha de *Tenebrio molitor*

Carla Petronilho Nunes dos Santos

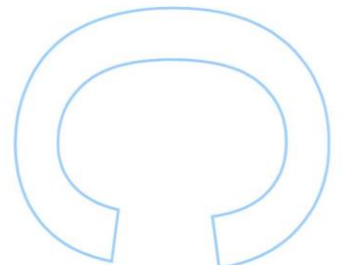
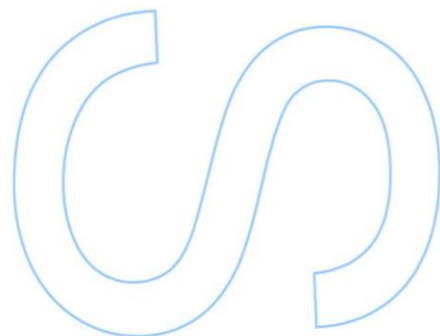
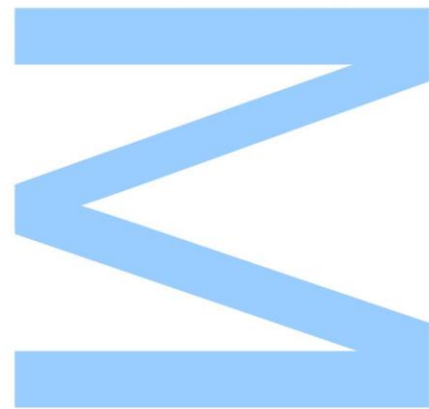
Mestrado em Ciências do Consumo e Nutrição

Departamento de Geociências, Ambiente e Ordenamento do Território

2020

**Orientador**

Doutor Luís Miguel Cunha, Professor Associado (GreenUP, DGAOT-FCUP)

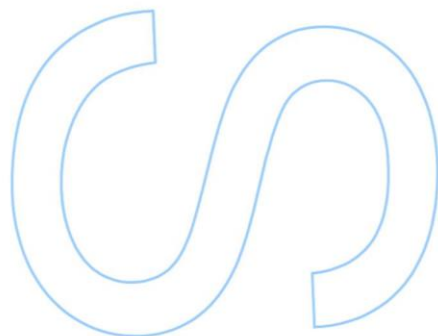
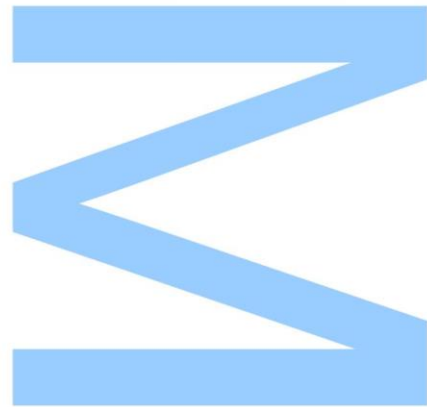




Todas as correções determinadas pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

Porto, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_



## Agradecimentos

Gostaria de agradecer, primeiramente, à Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, pela oportunidade de frequentar e concluir este Mestrado em Ciências do Consumo e Nutrição, e em particular ao GreenUPorto, liderado pelas Professoras Doutoras Ruth Pereira e Susana Carvalho, pelo acolhimento e suporte que recebi na realização de todo o trabalho prático envolvido nesta dissertação.

Expresso ainda a minha gratidão pela Bolsa de Investigação que me foi concedida, associada ao curso de Verão com Ciência “From the soil to the fork”, do GreenUPorto, e financiada pela Fundação para a Ciência e Tecnologia, e também pelo apoio do projeto europeu “SUSINCHAIN-SUStainable INsect CHAIN (H2020, grant agreement 861976)”.

Agradeço de igual modo ao meu orientador, Professor Doutor Luís Miguel Cunha, por ter acedido ao meu pedido de mudança de tema e por me orientar e ajudar durante este ano tão complicado, tanto a nível académico como pessoal.

Ao meu colega Mestre José Carlos Ribeiro, que me acompanhou diariamente durante toda a elaboração deste trabalho, por todo o apoio e paciência que teve no esclarecimento das minhas dúvidas e pelos ensinamentos que me transmitiu.

Ao Eng. Guilherme Pereira, que apoiou este trabalho desde o início, fornecendo não só a matéria-prima necessária e o seu conhecimento acerca da entomofagia, mas também a sua boa-disposição e simpatia.

A todas as minhas colegas de mestrado, por todos os momentos que partilhamos durante estes dois anos e que, sem dúvida, me marcaram e deixaram boas recordações.

Às minhas amigas de sempre, que foram especialmente fundamentais neste último ano e com quem sei que posso sempre contar.

À minha família, à minha mãe e ao meu irmão, por todo o apoio e amor que me dão e sem os quais não teria sido possível terminar este mestrado.

E por último, quero deixar uma dedicatória especial ao meu pai, que nos deixou este ano e não pôde assistir a este meu concluir de etapa académica, mas que sei que estaria muito orgulhoso de mim. Todo o meu empenho e dedicação na realização deste trabalho foram em sua memória.

## Resumo

O panorama atual que observamos a nível mundial, relativamente ao aumento contínuo da população, ao elevado número de pessoas sem acesso a alimentação, às crescentes alterações climáticas e à escassez de recursos, leva que se tentem encontrar alternativas alimentares mais sustentáveis e ecológicas. Os insetos comestíveis representam uma dessas alternativas, especialmente devido ao seu conteúdo proteico, às reduzidas necessidades de água e emissões de gases de efeito de estufa e à elevada taxa de eficiência na conversão alimentar. No entanto, no mundo ocidental, a sua aceitação é ainda baixa e, muitas vezes, influenciada pelo seu perfil sensorial.

Assim, o objetivo principal desta dissertação foi o de melhorar o perfil sensorial de um snack em barra com incorporação de farinha de *Tenebrio molitor*. Para isso, foram testadas diferentes condições de branqueamento e secagem e ainda a aplicação de ácido ascórbico, para avaliação dos seus efeitos na matéria seca, na atividade da água e na cor das larvas. Adicionalmente, foram comparados diferentes solventes orgânicos e avaliada a sua eficiência no desengorduramento através do método de Soxhlet. Numa última fase, foram elaborados snacks em barra com incorporação de farinha de inseto e realizadas provas sensoriais por forma a conhecer a sua aceitação global e traçar o seu perfil sensorial, com recurso à metodologia *Check-All-That-Apply* (CATA).

Para além disso, procurou-se conhecer e caracterizar o mercado das barras de cereais/proteicas em Portugal e o mercado de snacks em barra com insetos, no ocidente, sendo realizada uma pesquisa e compilação de informações (composição nutricional, lista de ingredientes, preços, ...) de todas as barras atualmente comercializadas nesses mercados.

Os principais resultados obtidos revelaram a extensa dimensão do mercado de barras de cereais/proteicas e ainda as características (nomeadamente a nível nutricional e de preço) que as diferenciam dos demais snacks em barra com incorporação de insetos. Estas últimas apresentaram menores quantidades de proteína comparativamente às barras proteicas desportivas comerciais e também um preço mais elevado.

Relativamente ao branqueamento dos insetos, todas as condições provocaram uma diminuição no teor de matéria seca e tiveram efeito significativo na cor das larvas tanto após branqueamento como ao longo do tempo. Por outro lado, a aplicação de

ácido ascórbico não provocou efeitos constantes na cor das amostras quer após branqueamento quer após secagem. Os métodos de secagem aplicados (forno, desidratador e micro-ondas) tiveram diferentes efeitos ao nível de matéria seca, atividade de água e cor, sendo que os métodos de secagem em forno a 80 °C durante 7 horas e micro-ondas durante 4 minutos foram escolhidos para posterior incorporação em barras. Por sua vez, o desengorduramento com recurso ao etanol como solvente orgânico demonstrou maior eficiência na extração da fração lipídica das larvas, quando comparado com a utilização de metanol, hexano, acetona e acetato de etilo.

Por fim, a incorporação de farinha de *T. molitor* em snacks em barras não teve qualquer efeito negativo na sua aceitação global, alterando apenas o seu perfil sensorial, nomeadamente em atributos relacionados com a aparência (acastanhada), textura (seca e granulosa) e o sabor (ração). Por sua vez, o desengorduramento das larvas não apresentou nenhuma melhoria do perfil sensorial das barras, acentuando a associação com atributos negativos relacionados com a textura.

**Palavras-chave:** entomofagia, branqueamento, secagem, ácido ascórbico, extração lipídica, atributos sensoriais

## Abstract

The current worldwide scenario that we observe, in relation to the continuous increase in population, the high number of people without access to food, the growing climate change and the scarcity of resources, leads to attempts to find more sustainable and ecological food alternatives. Edible insects represent one of these alternatives, especially due to their protein content, reduced water needs, reduced greenhouse gas emissions and their high efficiency in feed conversion. However, in the western world, their acceptance is still low and is, very often, influenced by their sensory profile.

Thus, the main objective of this dissertation was to improve the sensory profile of snack bars with incorporation of *Tenebrio molitor* powder. To achieve this, different blanching and drying conditions were tested, as well as the application of ascorbic acid, to evaluate their effects on dry matter, water activity and color of the larvae. In addition, different organic solvents were compared, and their defatting efficiency was evaluated through the Soxhlet method. The last part of this work involved the elaboration of snack bars incorporating insect powder and a sensory analysis was carried out to understand their global acceptance and create their sensory profile, by means of the Check All That Apply (CATA) methodology.

In addition, we sought to understand and characterize the market for cereal/protein bars in Portugal and the market for snack bars incorporating insects in western countries, through a research and compilation of information (nutritional composition, ingredient list, prices,...) of all bars currently sold in these markets.

The main results revealed the extensive size of the cereal/protein bars market and the characteristics (namely in terms of nutrition and price) that differentiate them from snack bars incorporating insects. In fact, the latter showed lower amounts of protein compared to commercial sports nutrition protein bars and were also more expensive.

Regarding insects' blanching, all the tested conditions caused a decrease in dry matter content and had a significant effect on the color of the larvae, both after blanching and over time. On the other hand, the application of ascorbic acid did not cause constant effects on the color of the samples, either after blanching or after drying. The drying methods applied (conventional oven, food dehydrator and microwave) showed different effects in terms of dry matter, water activity and color, with oven-drying at 80°C for 7 hours and microwave-drying for 4 minutes being chosen for later incorporation into bars. In turn, defatting using ethanol as an organic solvent demonstrated greater efficiency in

extracting the lipid fraction from the larvae, when compared to the use of methanol, hexane, acetone and ethyl acetate.

Lastly, the incorporation of *T. molitor* powder in snack bars did not have any negative effect on their global acceptance, only altering their sensory profile, namely in attributes related to appearance (brownish), texture (dry and granular) and flavor (ration). In turn, the defatting of the larvae showed no improvement in the sensory profile of the bars, accentuating the association with negative attributes related to texture.

**Keywords:** entomophagy, blanching, drying, ascorbic acid, lipid extraction, sensory attributes

# Índice

Agradecimentos .....	i
Resumo .....	ii
Abstract .....	iv
Lista de Figuras .....	5
Lista de Tabelas .....	6
Lista de Abreviaturas .....	9
Enquadramento Teórico .....	11
1. Fome, sobrepopulação, escassez de recursos e poluição .....	11
2. Entomofagia: uma alternativa em ascensão .....	13
2.1. Insetos comestíveis como tradição alimentar .....	13
2.2. Insetos comestíveis no Ocidente .....	14
2.3. Estratégias de promoção da entomofagia .....	17
2.4. Aposta europeia na entomofagia e legislação .....	18
3. Perfil nutricional dos insetos comestíveis .....	19
3.1. Proteínas .....	19
3.2. Lípidos .....	20
3.3. Micronutrientes .....	21
3.4. <i>Tenebrio molitor</i> .....	21
4. Sustentabilidade ambiental dos insetos comestíveis .....	25
4.1. Conversão alimentar eficiente .....	25
4.2. Resíduos orgânicos como ração .....	25
4.3. Reduzidas emissões de GEE .....	26
4.4. Reduzida utilização de água e solo .....	26
5. Riscos associados aos insetos comestíveis .....	27
5.1. Alergenicidade .....	27
5.2. Riscos biológicos .....	28
5.2.1. Bactérias .....	28
5.2.2. Vírus .....	29
5.2.3. Parasitas .....	29
5.2.4. Priões .....	30
5.3. Riscos químicos .....	30
5.3.1. Metais pesados .....	31
5.3.2. Toxinas .....	31



5.3.3.	Antinutrientes .....	32
6.	Processamento de insetos comestíveis.....	33
6.1.	Métodos de abate.....	33
6.2.	Métodos de secagem.....	33
6.3.	Métodos de fracionamento.....	34
6.3.1.	Fracionamento proteico.....	34
6.3.2.	Fracionamento lipídico.....	35
6.3.3.	Extração de quitina/quitosano .....	36
	Objetivos .....	37
<b><u>Desenvolvimento experimental</u></b>		
	Parte A – Caracterização do mercado de barras de cereais/proteicas em Portugal e do mercado de barras com incorporação de insetos na Europa/Ocidente.....	38
A1.	Objetivos .....	38
A2.	Materiais e Métodos.....	38
A2.1.	Pesquisa .....	38
A2.2.	Recolha de informação.....	39
A2.3.	Análise estatística.....	39
A3.	Resultados.....	39
A3.1.	Barras de cereais/proteicas .....	39
A3.2.	Barras com incorporação de insetos .....	41
A4.	Discussão .....	43
	Parte B – Estudo de métodos de branqueamento, secagem e desengorduramento de larvas de <i>Tenebrio molitor</i> .....	46
B1.	Objetivos .....	46
B2.	Materiais e métodos.....	46
B2.1.	Larvas de <i>Tenebrio molitor</i> .....	46
B2.2.	Caracterização das amostras.....	47
B2.2.1.	Matéria Seca .....	47
B2.2.2.	Atividade da água.....	47
B2.2.3.	Cor .....	47
B2.3.	Tratamento com Ácido Ascórbico .....	48
B2.4.	Branqueamento .....	48
B2.5.	Métodos de Secagem .....	49
B2.6.	Desengorduramento .....	50
B2.7.	Análise estatística.....	52
B3.	Resultados.....	52

B3.1.	Efeito do Branqueamento e aplicação de Ácido Ascórbico na Matéria Seca	52
B3.2.	Efeito do Branqueamento e aplicação de Ácido Ascórbico na Cor .....	53
B3.3.	Variação da Cor ao longo do tempo .....	54
B3.4.	Métodos de Secagem .....	56
B3.4.1.	Forno .....	57
B3.4.2.	Desidratador .....	58
B3.4.3.	Micro-ondas .....	59
B3.5.	Comparação entre métodos de secagem .....	60
B3.5.1.	Matéria Seca .....	60
B3.5.2.	Atividade da água .....	60
B3.5.3.	Cor .....	60
B3.6.	Efeito da aplicação de Ácido Ascórbico na Cor após secagem .....	61
B3.6.1.	Forno .....	61
B3.6.2.	Desidratador .....	61
B3.6.3.	Micro-ondas .....	62
B3.7.	Desengorduramento .....	62
B4.	Discussão .....	63
Parte C – Formulação de barras com incorporação de farinha de <i>T. molitor</i> , avaliação sensorial e aceitação dos consumidores .....		68
C1.	Objetivos .....	68
C2.	Materiais e métodos .....	68
C2.1.	Formulação e elaboração das barras .....	68
C2.2.	Provas sensoriais .....	69
C2.3.	Análise estatística .....	71
C3.	Resultados .....	71
C3.1.	Aceitação global .....	71
C3.2.	Perfil sensorial .....	72
C4.	Discussão .....	75
Conclusão Geral .....		78
Disseminação dos Resultados .....		79
Referências bibliográficas .....		80
Anexos .....		87
Anexo 1. Desenho de estudo .....		88
Anexo 2. Tabelas de $\Delta E^*$ consoante o tipo de branqueamento e a aplicação de ácido ascórbico .....		89

Anexo 3. Tabelas com os resultados da comparação entre métodos de conservação e o seu efeito em $\Delta E^*$ .....	90
Anexo 4. Tabelas das amostras 100/40 relativas ao efeito da aplicação de ácido ascórbico na cor após secagem .....	91

## Lista de Figuras

Figura 1. Mapa de aceitação, repulsa e uso tradicional de insetos comestíveis. Retirado de Toti et al. (2020) .....	15
Figura 2. Boxplot para os teores de macronutrientes das barras de cereais/proteicas de marcas comerciais. Valores relativos a g/100 g. ....	40
Figura 3. Boxplot para os teores de macronutrientes das barras de cereais/proteicas de marcas de nutrição desportiva. Valores relativos a g/100 g. ....	41
Figura 4. Boxplot para os teores de macronutrientes das barras com incorporação de insetos. Valores relativos a g/100 g de produto.....	42
Figura 5. Larvas de <i>T. molitor</i> .....	46
Figura 6. Branqueamento de larvas <i>T. molitor</i> a 100°C.....	49
Figura 7. Variação total da cor ( $\Delta E^*$ ) ao longo do tempo para as amostras 100/5, 100/40 e 60/5, sem tratamento com ácido ascórbico, tratadas com 500ppm de ácido ascórbico e tratadas com 5000ppm de ácido ascórbico, conservadas em frigorífico... 55	55
Figura 8. Comparação do efeito dos métodos de conservação (temperatura ambiente vs frigorífico) nos valores de $\Delta E^*$ de amostras branqueadas. ....	55
Figura 9. Comparação do efeito dos métodos de conservação (temperatura ambiente vs frigorífico) nos valores de $\Delta E^*$ de amostras branqueadas, com e sem aplicação prévia de ácido ascórbico. ....	56
Figura 10. Exemplo das amostras apresentadas nas provas sensoriais. 805 - TM_F; 724 - Controlo; 820 - TM_M; 567 - AD_F; 755 - TM_D .....	69
Figura 11. Análise de Correspondência às frequências CATA, contendo apenas os atributos que diferenciaram significativamente as amostras (Teste de Cochran com nível de confiança de 90%). (+): Atributos identificados por análise de penalidades que têm impacto positivo na aceitação global das amostras. (-): Atributos identificados por análise de penalidades que têm impacto negativo na aceitação global das amostras. 73	73
Figura 12. Resultados da Análise Multidimensional com os cossenos dos ângulos entre os produtos e os atributos que diferenciaram estatisticamente as amostras. As linhas verticais tracejadas indicam os valores de corte de $\cos(45^\circ)$ e $\cos(135^\circ)$ , que representam correlações positivas e negativas, respetivamente. (+): Atributos identificados por análise de penalidades que têm impacto positivo na aceitação global das amostras. (-): Atributos identificados por análise de penalidades que têm impacto negativo na aceitação global das amostras. ....	74

## Lista de Tabelas

Tabela 1. Perfil nutricional de larvas de <i>T. molitor</i> (em relação à matéria seca).....	22
Tabela 2. Perfil de aminoácidos de larvas de <i>T. molitor</i> . Valores apresentados em g/100 g de proteína.....	23
Tabela 3. Perfil de ácidos gordos de larvas de <i>T. molitor</i> . Valores apresentados em g/100 g de matéria seca .....	23
Tabela 4. Perfil mineral e vitamínico de larvas de <i>T. molitor</i> (em relação à matéria seca).....	24
Tabela 5. Valores de temperatura de ebulição (à pressão atmosférica e a 600 mbar) e temperatura do banho para cada um dos solventes utilizados.....	51
Tabela 6. Médias ( $\pm$ d.p) dos teores de MS das amostras de acordo com os fatores condições de branqueamento e concentração de ácido ascórbico. Valores de F provenientes do teste Two-Way ANOVA. ....	53
Tabela 7. Médias ( $\pm$ d.p) dos valores de $L^*$ das amostras de acordo com os fatores condições de branqueamento e concentrações de ácido ascórbico. Valores de F provenientes do teste Two-Way ANOVA. ....	53
Tabela 8. Médias ( $\pm$ d.p) dos valores de $a^*$ das amostras de acordo com os fatores condições de branqueamento e concentrações de ácido ascórbico. Valores de F provenientes do teste Two-Way ANOVA. ....	53
Tabela 9. Médias ( $\pm$ d.p) dos valores de $b^*$ das amostras de acordo com os fatores condições de branqueamento e concentrações de ácido ascórbico. Valores de F provenientes do teste Two-Way ANOVA. ....	54
Tabela 10. Médias ( $\pm$ d.p) dos teores de MS das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes condições de secagem no forno.....	57
Tabela 11. Médias ( $\pm$ d.p) dos valores de $a_w$ das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes condições de secagem no forno.....	57
Tabela 12. Médias ( $\pm$ d.p) dos valores de $L^*$ , $a^*$ e $b^*$ das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes condições de secagem no forno.....	57
Tabela 13. Médias ( $\pm$ d.p) dos teores de MS das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes condições de secagem no desidratador. ....	58
Tabela 14. Médias ( $\pm$ d.p) dos valores de $a_w$ das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes condições de secagem no desidratador. ....	58
Tabela 15. Médias ( $\pm$ d.p) dos valores de $L^*$ , $a^*$ e $b^*$ das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes condições de secagem no desidratador. ....	58

Tabela 16. Médias ( $\pm$ d.p) dos teores de MS das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes condições de secagem no micro-ondas. ....	59
Tabela 17. Médias ( $\pm$ d.p) dos valores de $a_w$ das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes condições de secagem no micro-ondas. ....	59
Tabela 18. Médias ( $\pm$ d.p) dos valores de $L^*$ , $a^*$ e $b^*$ das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes condições de secagem no micro-ondas. ....	59
Tabela 19. Médias ( $\pm$ d.p) dos teores de MS das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes métodos de secagem. ....	60
Tabela 20. Médias ( $\pm$ d.p) dos valores de $a_w$ das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes métodos de secagem. ....	60
Tabela 21. Médias ( $\pm$ d.p) dos valores de $L^*$ , $a^*$ e $b^*$ das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes métodos de secagem. ....	61
Tabela 22. Médias ( $\pm$ d.p) dos valores de $L^*$ , $a^*$ e $b^*$ para diferentes condições de secagem no forno, consoante as concentrações de ácido ascórbico aplicadas em amostras 100/5. ....	61
Tabela 23. Médias ( $\pm$ d.p) dos valores de $L^*$ , $a^*$ e $b^*$ para diferentes condições de secagem no desidratador, consoante as concentrações de ácido ascórbico aplicadas em amostras 100/5. ....	62
Tabela 24. Médias ( $\pm$ d.p) dos valores de $L^*$ , $a^*$ e $b^*$ para diferentes condições de secagem no micro-ondas, consoante as concentrações de ácido ascórbico aplicadas em amostras 100/5. ....	62
Tabela 25. Eficiência dos diferentes solventes na extração lipídica (% de lípidos extraídos $\pm$ d.p). ....	62
Tabela 26. Percentagem de lípidos removidos ( $\pm$ d.p) das frações desengorduradas de cada solvente numa segunda extração de Soxhlet com éter de petróleo. ....	63
Tabela 27. Formulações das barras com as quantidades de cada ingrediente apresentadas em g/100 g. ....	68
Tabela 28. Caracterização do Painel de Provadores consoante a idade, o sexo e os scores de Neofobia Alimentar e Nojo a Insetos. ....	70
Tabela 29. Valores da aceitação global (média + d.p) para cada uma das amostras. .	71
Tabela 30. Lista de atributos utilizados no boletim CATA, divididos por dimensão sensorial. A negrito estão os atributos que diferenciam significativamente as amostras, de acordo com o teste de Cochran ( $p < 0,100$ ) ....	72
Tabela 31. Médias ( $\pm$ d.p) dos valores de $\Delta E^*$ consoante a condição de branqueamento aplicada. Valores de F provenientes do teste One-Way ANOVA. ....	89

Tabela 32. Médias ( $\pm$ d.p) dos valores de $\Delta E^*$ consoante a concentração de ácido ascórbico aplicada. Valores de F provenientes do teste One-Way ANOVA. ....	89
Tabela 33. Médias ( $\pm$ d.p) dos valores de $\Delta E^*$ consoante o método de conservação. Valores de F provenientes do teste One-Way ANOVA. ....	90
Tabela 34. Valores de F para as interações Conservação x Branqueamento e Conservação x Ácido Ascórbico .....	90
Tabela 35. Médias ( $\pm$ d.p) dos valores de $L^*$ , $a^*$ e $b^*$ para diferentes condições de secagem no forno, consoante as concentrações de ácido ascórbico aplicadas em amostras 100/40. ....	91
Tabela 36. Médias ( $\pm$ d.p) dos valores de $L^*$ , $a^*$ e $b^*$ para diferentes condições de secagem no desidratador, consoante as concentrações de ácido ascórbico aplicadas em amostras 100/40. ....	91
Tabela 37. Médias ( $\pm$ d.p) dos valores de $L^*$ , $a^*$ e $b^*$ para diferentes condições de secagem no micro-ondas, consoante as concentrações de ácido ascórbico aplicadas em amostras 100/40. ....	91

## Lista de Abreviaturas

AGS – Ácidos Gordos Saturados

AGI – Ácidos Gordos Insaturados

AGMI – Ácidos Gordos Monoinsaturados

AGPI – Ácidos Gordos Polinsaturados

$a_w$  – Atividade da água

100/5 – Branqueamento a 100°C durante 5 minutos

100/40 – Branqueamento a 100°C durante 40 segundos

60/5 – Branqueamento a 60°C durante 5 minutos

CH<sub>4</sub> – Metano

CO<sub>2</sub> – Dióxido de carbono

D\_52/24 – Secagem no desidratador a 52°C durante 24 horas

D\_68/7 – Secagem no desidratador a 68°C durante 7 horas

EFSA – *European Food Safety Authority*

F\_60/24 – Secagem no forno a 60°C durante 24 horas

F\_80/7 – Secagem no forno a 80°C durante 7 horas

FAO – *Food and Agriculture Organization of the United Nations*

FDS – *Food Disgust Scale*

GEE – Gases com Efeito de Estufa

M\_3 – Secagem em micro-ondas durante 3 minutos

M\_4 – Secagem em micro-ondas durante 4 minutos

M\_5 – Secagem em micro-ondas durante 5 minutos

MS – Matéria Seca

N<sub>2</sub>O – Óxido nitroso

OMS – Organização Mundial de Saúde



s/t – Sem tratamento

UE – União Europeia

## Enquadramento Teórico

### 1. Fome, sobrepopulação, escassez de recursos e poluição

Ao longo das últimas décadas, vários esforços têm sido feitos para compreender e solucionar alguns dos maiores problemas que a humanidade enfrenta, tais como a poluição, a sobrepopulação, a escassez de recursos e a fome.

De facto, segundo os mais recentes dados da *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO), mais de 820 milhões de pessoas em todo o mundo passam fome e cerca de 2 mil milhões experienciam níveis moderados ou severos de insegurança alimentar, estando mais sujeitos à malnutrição e a doenças relacionadas com o escasso acesso a alimentos nutritivos e seguros em quantidades suficientes. Esta problemática é especialmente preocupante em África, na América Latina e no Sudoeste Asiático, onde a insegurança alimentar e a malnutrição continuam a aumentar todos os anos, uma tendência que se verifica desde 2015 (FAO, IFAD, UNICEF, WFP, e WHO, 2019). Para além disso, a população mundial atingiu em 2019 a marca dos 7,7 mil milhões de pessoas, sendo expectável que este número continue a aumentar apesar do ritmo de crescimento ter vindo a abrandar desde 1970. As Nações Unidas preveem que até ao final do século a população cresça e atinja os 10,9 mil milhões de pessoas, sendo que os países menos desenvolvidos, localizados principalmente na África Subsariana e no Sudoeste Asiático, contribuirão em larga escala para estas projeções (United Nations, 2019).

As necessidades alimentares serão, portanto, cada vez maiores, o que obrigará a um aumento da produção alimentar em cerca de 70%. Segundo a FAO (2009), a produção anual de cereais terá de rondar as 3 mil milhões de toneladas e a produção anual de carne terá de atingir as 470 mil milhões de toneladas para alimentar a população mundial em 2050. Com as reservas naturais a entrarem já em declínio, torna-se imperativo encontrar solução para evitar a insustentabilidade, isto porque a produção alimentar está intrinsecamente dependente de recursos como a água e a energia. Atualmente, cerca de 70% da captação total de água doce no mundo é destinada à agropecuária, sendo os produtos de origem animal aqueles cuja produção exige maiores quantidades de água por quilograma de produto – queijo (5,695 l/kg); peixe (3,691 l/kg); carne de vaca (1,451 l/kg). Para além disso, este setor ocupa também 50% do total de terra habitável, sendo que 70% de toda a terra cultivável é utilizada para pastoreio ou para cultivo de ração animal. Esta enorme ocupação de terra por parte da agropecuária

tem ainda impacto bastante significativo na biodiversidade, tendo sido classificada como uma ameaça para 24 mil espécies em vias de extinção (Ritchie e Roser, 2020).

No que diz respeito à poluição inerente a este setor de atividade e ao seu contributo para as alterações climáticas que hoje observamos, é de realçar que grande parte da energia utilizada intensivamente na agropecuária, para a mecanização, transporte ou produção de fertilizantes, é proveniente de combustíveis fósseis como o petróleo ou o gás natural, emitindo extensas quantidades de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) para a atmosfera (Ben Jebli e Ben Youssef, 2017; Yohannes, 2016). No mesmo sentido, a criação de gado é também responsável pela emissão de um outro gás com efeito de estufa (GEE) para além de CO<sub>2</sub> e de N<sub>2</sub>O – o metano (CH<sub>4</sub>). Quando ocorre a digestão de alimentos no rúmen dos ruminantes, o excesso de hidrogénio produzido é removido através da conversão em CH<sub>4</sub> por microrganismos metanogénicos, sendo este gás posteriormente libertado para atmosfera. A gestão e armazenamento do estrume contribui também de forma significativa, mas menos importante, para a produção de CH<sub>4</sub> (Hill, McSweeney, Wright, Bishop-Hurley, e Kalantar-zadeh, 2016; Wilkinson, 2012). Assim, a produção alimentar é responsável por 26% do total global de emissões de GEE, sendo a pecuária a atividade que mais contribui para estas emissões (Ritchie e Roser, 2020). Um outro motivo de preocupação é a poluição das águas interiores e marítimas através da eutrofização. A eutrofização consiste no aumento e conseqüente sobreprodução de material orgânico devido ao excesso de nutrientes nas águas, como fósforo ou nitrogénio, muitas vezes provenientes da agropecuária (Le Moal et al., 2019). De facto, este setor de atividade é responsável por 78% do total global de eutrofização, com uma grande contribuição da produção de alimentos de origem animal (Ritchie e Roser, 2020). Este tipo de poluição acarreta conseqüências a nível ambiental, económico e social, estando associada ao comprometimento da qualidade das águas, a gigantescas perturbações dos ecossistemas aquáticos (com proliferação de espécies de plantas oportunistas que substituem as espécies originais), e à emissão de gases tóxicos com potencial risco para a saúde humana (Le Moal et al., 2019).

Para além disso, o excessivo consumo de carnes vermelhas e/ou processadas provenientes da produção agropecuária tem sido recentemente associado a diversas patologias graves como cancro colorretal, cancro do estômago, doenças cardiovasculares e diabetes, à transmissão de doenças zoonóticas e ao aumento da resistência aos antibióticos em humanos (Godfray et al., 2018; González, Marquès, Nadal, e Domingo, 2020). Este último problema deve-se ao facto de os antibióticos

serem utilizados como medicamentos veterinários ou promotores de crescimento em animais, existindo a possibilidade de transferência de bactérias resistentes aos antibióticos aquando do consumo de carne pelos humanos, que por sua vez origina o desenvolvimento de infeções e a redução da eficácia destes medicamentos no seu tratamento (Giubilini et al., 2017).

Posto isto, várias alternativas alimentares mais sustentáveis e eficientes têm vindo a ser estudadas por forma a garantir a produção de quantidades de alimentos suficientes e o aporte de nutrientes essenciais a toda a população mundial, sem comprometimento das reservas naturais e do meio-ambiente.

## 2. Entomofagia: uma alternativa em ascensão

Os insetos comestíveis representam, atualmente, uma das mais estudadas alternativas alimentares, pelo valor nutricional, ambiental e económico que possuem, enquadrando-se em estratégias multifacetadas de combate à insegurança alimentar (Kim, Yong, Kim, Kim, e Choi, 2019).

O conceito de entomofagia foi evoluindo ao longo do tempo, sendo agora um termo antropológico e definido como a prática do consumo de insetos pelo ser humano (Evans et al., 2015). Esta prática teve início há milhares de anos atrás, com o homem primitivo a apresentar uma dieta maioritariamente insetívora que subseqüentemente passou a incorporar frutas, vegetais e carne ao longo do processo evolutivo. Para além disso, várias culturas associavam o consumo de insetos a uma maior força e vigor, e num plano espiritual, a uma maior proximidade com Deus (Ramos-Elorduy, 2009).

### 2.1. Insetos comestíveis como tradição alimentar

Nos dias de hoje, o consumo de insetos é reportado em mais de 100 países, maioritariamente em África, Ásia e América Latina, tendo sido identificadas mais de 2 mil espécies de insetos comestíveis (Jantzen da Silva Lucas, Menegon de Oliveira, da Rocha, e Prentice, 2020).

De facto, os insetos são importantes fontes alimentares no continente africano, especialmente nas épocas do ano em que há maior escassez de alimentos, como peixe e animais de caça, mais dificilmente obtidos aquando da estação chuvosa. Na República Democrática do Congo, os mercados de Kinshasa (capital do país) disponibilizam durante todo o ano enormes quantidades de lagartas, um dos insetos mais populares e que apresenta um consumo anual estimado de 96 toneladas na cidade (Arnold van Huis et al., 2013). O comércio de insetos comestíveis é também uma importante fonte de

rendimentos, principalmente para as mulheres na África Austral que comercializam a espécie de lagarta *Imbresia belina*, um negócio de 85 milhões de dólares americanos (A. van Huis, 2016).

Já na zona Ásia-Pacífico, a entomofagia é uma prática bastante enraizada e que se tem expandido principalmente devido a padrões migratórios, como na Tailândia onde os insetos sempre tiveram um importante papel na alimentação da população do norte do país e que agora se estabeleceram também na região sul, com a migração de trabalhadores para áreas mais turísticas como Bangkok (Arnold van Huis et al., 2013). Assim, os países asiáticos continuam a manter as suas tradições alimentares, ao contrário dos países do Pacífico, como a Austrália e a Nova Zelândia, que com a forte influência europeia/ocidental alteraram a forma como utilizam os insetos na sua alimentação. Calcula-se que no Sudoeste Asiático são consumidas entre 150 a 200 espécies de insetos comestíveis, sendo obtidas ao longo do ano consoante a estação principalmente na República Democrática Popular do Laos, na Tailândia, no Myanmar e no Vietname (Arnold van Huis et al., 2013).

No que diz respeito aos países latino-americanos, mais de 700 espécies de insetos comestíveis estão registadas, sendo que 57% delas encontram-se no México. Aqui, assim como em diversos outros países da América Latina, o consumo de insetos mantém-se tal como registado no século XVI por exploradores e naturalistas, mesmo após terem sofrido colonização (Costa-Neto, 2015). Os povos indígenas possuem amplo conhecimento acerca dos ciclos de vida dos insetos que consomem, como as larvas do género *Liometopum* que estão prontas a ser colhidas assim que a planta *Senecio salignus* começa a florir. Na Amazônia, os insetos também são obtidos sazonalmente, principalmente durante a época de chuvas, quando a caça e a pesca são comprometidas. O Equador é outro país onde se podem encontrar insetos, nomeadamente besouros da espécie *Platycoclia lutescens*, nos mercados da capital entre outubro e novembro depois de serem colhidos durante as chuvas de inverno (Arnold van Huis et al., 2013).

## 2.2. Insetos comestíveis no Ocidente

A temática muda de figura quando nos referimos ao mundo ocidental, onde os insetos não fazem parte da cultura alimentar e, portanto, existe uma maior aversão ao seu consumo (Bessa, Pieterse, Sigge, e Hoffman, 2017), como é possível observar através da Figura 1. Os países assinalados a preto são aqueles cuja entomofagia está tradicionalmente enraizada na cultura local e são, como referido anteriormente, maioritariamente localizados em África, Ásia e América Latina. A verde estão

assinalados os países onde, apesar de não fazerem parte integrante da cultura local, os insetos são aceites pelas populações como alternativa alimentar. Os países assinalados a vermelho, maioritariamente ocidentais, são então todos aqueles onde existe uma aversão ou repulsa face ao consumo de insetos.

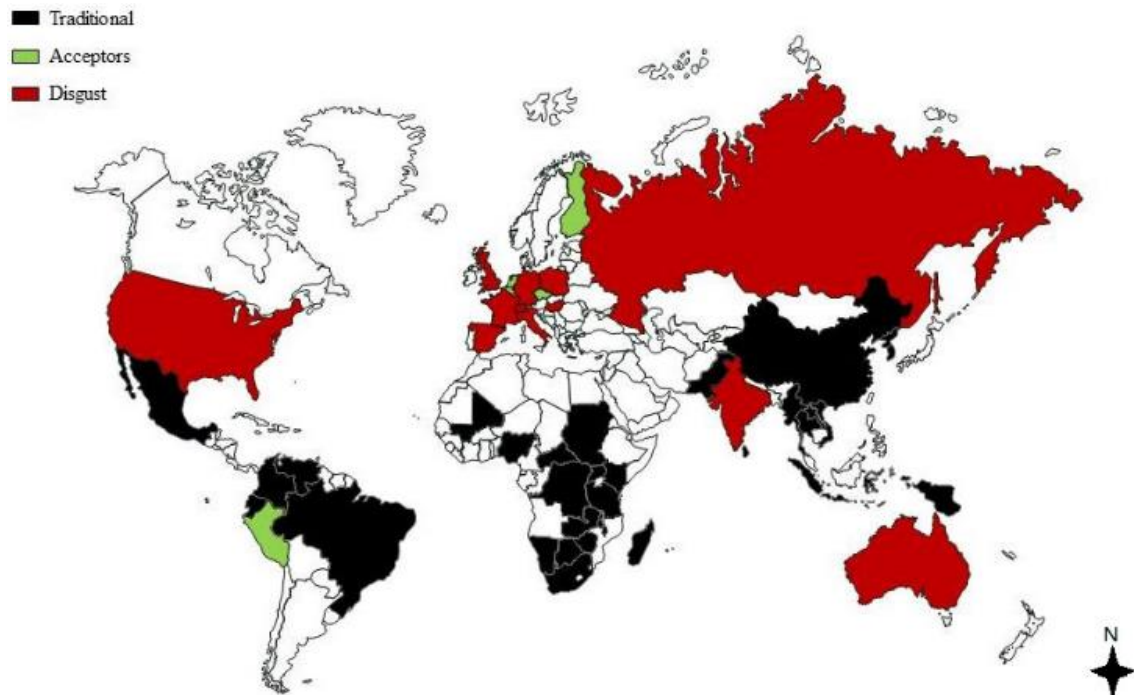


Figura 1. Mapa de aceitação, repulsa e uso tradicional de insetos comestíveis. Retirado de Toti et al. (2020)

Para melhor entender a situação ocidental relativamente à entomofagia, é importante esclarecer dois termos frequentemente usados neste contexto: neofobia alimentar e nojo (*disgust*) alimentar. A neofobia alimentar é descrita como a tendência para evitar alimentos não familiares. Vários estudos têm sido feitos ao longos dos anos, especialmente com recurso à *Food Neophobia Scale* (FNS) criada por Pliner e Hobden (1992), para avaliar o efeito da neofobia alimentar na intenção dos consumidores em provar comidas contendo insetos, tendo os resultados demonstrado que esta afeta significativamente e de forma negativa a disposição das pessoas para provarem este tipo de alimentos (Cunha et al., 2015; La Barbera, Verneau, Amato, e Grunert, 2018). Por sua vez, o nojo alimentar é percebido como uma emoção humana que atua como uma barreira ao consumo de substâncias potencialmente nocivas, sendo ativado por diversos sinais como certos odores, texturas, sugestões visuais e auditivas. Estes sinais podem ser específicos de cada cultura ou os mesmos entre diferentes culturas, sendo importante ter em conta não só a vertente da saúde, mas também a vertente moral que influencia a aceitação de novos alimentos. Tal como no caso da neofobia alimentar, também para o nojo alimentar foi criada recentemente a *Food Disgust Scale* (FDS), uma

ferramenta que pretende avaliar a disposição emocional dos indivíduos a reagir com nojo a certos estímulos alimentares, algo que até então não tinha sido suficientemente abordado em estudos anteriores (Hartmann e Siegrist, 2018). No que toca à relação entre neofobia alimentar e nojo alimentar, no contexto da entomofagia, um estudo recente demonstrou que ambos os conceitos contribuem independentemente para a intenção de consumir insetos no futuro, sendo o nojo alimentar consideravelmente mais preponderante que a neofobia alimentar (La Barbera et al., 2018).

Assim, na cultura ocidental, o nojo alimentar encontra-se fortemente enraizado e mantém-se como a principal barreira à implementação da entomofagia nestes países (Bessa et al., 2017). De facto, os insetos tendem a ser vistos como pragas, associados a contaminações alimentares, a riscos para a saúde e a dietas primitivas (Capponi, 2015; Cunha, Pinto de Moura, e Lima, 2014; Hartmann e Siegrist, 2017). Estas conceções acerca dos insetos devem-se também a uma considerável falta de informação e exposição dos ocidentais, que leva até a uma errada categorização dos insetos num grupo que chega a incluir aranhas, lagartos, escorpiões, cobras e morcegos (Capponi, 2015). Para além disso, o facto de os consumidores ocidentais terem crescido em sociedades onde os insetos não estão inseridos no padrão alimentar faz com que estes não estejam familiarizados e habituados a ver insetos inteiros nas suas refeições. Nem mesmo os animais tipicamente consumidos nestas sociedades são servidos inteiros, pois essa sugestão visual serve como um lembrete de que aqueles animais já estiveram vivos, o que ativa uma resposta negativa ao seu consumo (Bessa et al., 2017). Aliás, a FDS, mencionada anteriormente, apresenta uma subescala baseada neste fator da origem animal dos produtos, sendo uma das que melhor prevê a aversão aos insetos por parte dos consumidores (Hartmann e Siegrist, 2018).

Por estes motivos, diversos estudos de consumidor na Europa demonstraram que a disposição para consumir insetos como alternativa à carne é realmente baixa (Hartmann e Siegrist, 2017). No entanto, a forma como o inseto é apresentado parece também influenciar a atitude dos consumidores. Estudos conduzidos na Alemanha e na Bélgica reportaram uma maior disposição dos indivíduos em consumir insetos quando incorporados em alimentos ou refeições com as quais estão familiarizados, como bolachas e hambúrgueres. Outros estudos salientam a importância da visibilidade dos insetos incorporados nos alimentos, sendo que refeições onde o inseto está visível são mais rejeitadas do que aquelas onde o inseto se encontra processado (Mancini, Moruzzo, Riccioli, e Paci, 2019). Recentemente, um estudo norte-americano avaliou a adequação do uso de farinha de insetos em determinados alimentos, tendo os

resultados sugerido que, em média, os produtos de panificação ou à base de cereais são os mais apropriados para incorporação de farinha de insetos, seguidos dos *snacks* e doces. As barras energéticas ou proteicas foram consideradas por 65,4% dos participantes como o produto mais adequado para inclusão de farinha de insetos (Ardoin e Prinyawiwatkul, 2020). Para além disto, é necessário ter em conta as características dos consumidores que os tornam mais recetivos à entomofagia. Estudos apontam para o facto de o sexo masculino aceitar melhor o consumo de insetos, uma vez que são menos sensíveis à sensação de nojo do que as mulheres. Indivíduos preocupados com a sua saúde e o perfil nutricional e ambiental das suas escolhas alimentares apresentam também maior aceitação quanto à entomofagia, assim como consumidores curiosos e imaginativos que procuram novas experiências alimentares (Cunha e Ribeiro, 2019).

### 2.3. Estratégias de promoção da entomofagia

Nos últimos anos, várias estratégias de promoção da entomofagia têm vindo a ser estudadas, tendo em conta os fatores que mais afetam a sua introdução nas culturas ocidentais. Batat e Peter (2020) sugerem que, no sentido de promover a perceção de produtos à base de insetos, é necessário que existam medidas de política pública, marketing e investimento por parte dos fornecedores alimentares para tornar estes produtos disponíveis e acessíveis aos consumidores. Para além disso, é igualmente fundamental que a indústria, os promotores e o governo se dediquem à literacia alimentar e implementem programas destinados a mudanças do comportamento alimentar em grande escala. Por outro lado, para aumentar a aceitação de insetos como alimento, certos tabus alimentares devem ser abordados e compreendidos, sendo também essencial que seja dado destaque aos benefícios nutricionais e ambientais desta alternativa alimentar, que deve ser associada a alimentos e marcas familiares e relevantes para os consumidores. No que toca a incentivar a adoção desta prática, o conceito de neofobia alimentar aplicado aos insetos deve ser estudado e desafiado, sendo que o objetivo das políticas educacionais e ações de marketing deve focar-se na mudança de um estado de neofobia para neofilia alimentar dos consumidores.

O perfil sensorial dos insetos e dos produtos à base de inseto é também de extrema importância quando se pretende incentivar o seu consumo, uma vez que características sensoriais como a textura, o aroma e o sabor são determinantes para as escolhas alimentares e atitudes dos consumidores, afetando a sua perceção e disposição para provar insetos (Mishyna, Chen, e Benjamin, 2020). Uma experiência gastronómica positiva e agradável é algo inabdicável para os consumidores, que não se preocupam apenas com os aspetos nutricionais e ambientais da sua alimentação, pelo



que o “sabor fraco” identificado em produtos contendo insetos é um dos principais motivos para a sua rejeição. Estudos realizados com diferentes espécies de insetos incorporadas em diferentes tipos de alimentos apresentam resultados semelhantes, com a adição de insetos a provocar uma diminuição na aceitação global e levando ao aparecimento de alguns atributos sensoriais negativos (textura seca e granulosa, sabor e odor desagradáveis, com presença de *off-flavours* e um sabor de fim de boca prolongado) (Cunha e Ribeiro, 2019). Assim, as etapas de produção (tipo de ração fornecida) e processamento (método de abate, método de secagem e fracionamento) dos insetos podem ser determinantes para a definição e melhoria do perfil sensorial dos produtos à base de insetos, assim como a formulação dos mesmos com determinada percentagem de inclusão de farinha de inseto e com sabores familiares aos consumidores (Mishyna et al., 2020).

## 2.4. Aposta europeia na entomofagia e legislação

Apesar de tudo, a última década testemunhou um elevado crescimento da entomofagia no ocidente, com o número de produtores e de consumidores a aumentar significativamente. No espaço europeu, os países do norte da Europa dominam o cenário de negócios, com especial destaque para o Reino Unido, Alemanha e Bélgica, seguidos dos Países Baixos, França, Finlândia e Dinamarca. No total, existem 59 empresas relacionadas com a produção e comercialização de insetos ou produtos à base de inseto, sendo que 48 operam através do comércio online e apenas 11 possuem pontos de venda físicos. Algumas destas empresas são especializadas em nutrição desportiva/saudável, pelo que se focam na produção de refeições à base de proteína de insetos, barras energéticas e proteicas com diferentes percentagens de incorporação de insetos e massas proteicas à base de insetos (Pippinato, Gasco, Di Vita, e Mancuso, 2020). Neste momento, as espécies de inseto mais comercializadas nestes países são *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus* e *Locusta migratoria*, que originalmente eram utilizadas como ração para animais exóticos e de jardim zoológico, tendo sido agora redirecionadas para a alimentação humana (House, 2019).

No seguimento deste renovado interesse pelos insetos comestíveis, a União Europeia (UE) criou o Regulamento (UE) 2015/2283 (Parlamento Europeu, 2015), em vigor desde 1 janeiro de 2018, onde os insetos são categorizados como “novos alimentos” (*novel foods*). Para além disso, foi também estabelecido que, para todos os produtos com incorporação de insetos, devem ser submetidos pedidos de autorização para produção e comercialização à Comissão Europeia. A avaliação do risco feita pela *European Food Safety Authority* (EFSA) irá então definir quais os produtos passíveis de

serem adicionados à lista de alimentos da UE e comercializados no mercado europeu (Baiano, 2020; Raheem et al., 2019). No entanto, alguns estados membros da UE e países terceiros já comercializavam insetos comestíveis ou produtos à base de inseto antes da entrada em vigor deste novo regulamento, pelo que o processo de autorização é mais simplificado. Nestes casos, o produtor deve demonstrar que o produto que comercializa é seguro e consumido há mais de 25 anos por um número significativo de pessoas em pelo menos um país terceiro, não havendo quaisquer preocupações de segurança por parte de estados membros ou da EFSA (Baiano, 2020).

### 3. Perfil nutricional dos insetos comestíveis

Um dos principais fatores que contribuem para o crescente interesse pelos insetos comestíveis diz respeito ao seu perfil nutricional, com particular destaque para o seu conteúdo proteico. De facto, os insetos apresentam um valor nutricional semelhante ou até superior ao da carne de vaca ou frango (Bessa et al., 2017; Kouřimská e Adámková, 2016), sendo por isso considerados uma excelente alternativa alimentar. No entanto, o perfil nutricional dos insetos depende de fatores como a espécie, a sua origem, as diferentes fases do seu ciclo de vida, a sua alimentação (Bessa et al., 2017; Kouřimská e Adámková, 2016), a forma como são processados e até mesmo o seu sexo (Kulma et al., 2019).

#### 3.1. Proteínas

Relativamente ao seu teor em proteína, o macronutriente em maior quantidade nos insetos, este varia normalmente entre 40-75% em relação à matéria seca (Tang et al., 2019) e apresenta uma boa digestibilidade, apesar de esta poder ser afetada pela quantidade de quitina, que é uma fibra insolúvel componente do exo-esqueleto dos insetos (Belluco et al., 2015; Bessa et al., 2017; EFSA Scientific Committee, 2015). Estudos revelaram que a remoção da quitina melhora a qualidade proteica dos insetos em termos de digestibilidade e disponibilidade de aminoácidos, pelo que este processo deverá ser considerado na formulação de produtos à base de insetos para alimentação humana (Churchward-Venne, Pinckaers, van Loon, e van Loon, 2017). Para além disso, sendo a quitina composta por átomos de azoto, a determinação do teor proteico dos insetos através dos métodos de Kjeldhal ou Dumas poderá ser influenciada. Isto deve-se ao facto de estas técnicas medirem nitrogénio, convertendo-o em proteína através de um fator de conversão, com o valor de 6,25 estabelecido para a carne, assumindo que todo o nitrogénio presente provém da proteína. Ora, no caso dos insetos, para além da proteína, também a quitina contribui para a quantidade de nitrogénio medida, pelo que foi já proposto por Jonas-Levi e Martinez (2017) que o fator de conversão utilizado

para a carne e também aplicado aos insetos seja alterado por forma a não sobrestimar o seu real teor proteico. Nesse sentido, um outro estudo de Janssen, Vincken, van den Broek, Fogliano, e Lakemond (2017) propõe a adoção dos fatores de conversão 4,76 para a quantificação do conteúdo proteico de larvas e de 5,60 para extratos proteicos derivados de insetos. No entanto, importa ressaltar que a *International Platform of Insects for Food and Feed* (IPIFF) sugeriu recentemente que o fator de conversão de 6,25 deve ser mantido como referência para cálculo do conteúdo proteico de insetos, uma vez que existem poucos estudos que permitam estabelecer novos fatores de conversão para cada espécie de inseto (IPIFF, 2020).

Por sua vez, a presença de aminoácidos essenciais iguala e por vezes excede os atuais valores mínimos recomendados para adultos em insetos das ordens Coleoptera, Hymenoptera, Lepidoptera e Orthoptera, apesar de maior parte das espécies de insetos comestíveis apresentarem o triptofano e a lisina como aminoácidos limitantes (Churchward-Venne et al., 2017). De uma maneira geral, o conteúdo em aminoácidos essenciais dos insetos varia entre 46-96% do conteúdo total em aminoácidos, sendo por isso equiparáveis aos valores de carne de vaca, ovos, leite e soja (Bessa et al., 2017; Churchward-Venne et al., 2017; EFSA Scientific Committee, 2015).

### 3.2. Lípidos

A fração lipídica é a segunda maior componente nutricional dos insetos, variando entre os 10-60% em relação à matéria seca (Kouřimská e Adámková, 2016). Para além disso, este teor em gordura é significativamente superior em insetos que se encontram na sua fase larval do que em insetos adultos (Imathiu, 2020). Os lípidos dos insetos são maioritariamente compostos por triglicerídeos (80%) e por fosfolípidos (<20%), estando também presente o colesterol em menores quantidades (Jantzen da Silva Lucas et al., 2020; Kouřimská e Adámková, 2016). O perfil de ácidos gordos é, do ponto de vista nutricional, bastante interessante pois é, em espécies edíveis comercializadas, maioritariamente constituído por ácidos gordos polinsaturados (Imathiu, 2020) ómega-6 (n-6) e ómega-3 (n-3), nomeadamente o ácido linoleico (LA) e o ácido  $\alpha$ -linolénico (ALA), respetivamente, considerados essenciais uma vez que não são produzidos pelo organismo humano (Jantzen da Silva Lucas et al., 2020; Kouřimská e Adámková, 2016). No entanto, em muitas espécies produzidas para comercialização, o rácio de n-6/n-3 é bastante elevado, ou seja, apresentam maior quantidade de ácidos gordos n-6 do que ácidos gordos n-3 (Oonincx, Laurent, Veenenbos, e van Loon, 2020), o que poderá potenciar processos inflamatórios que por sua vez originam doenças inflamatórias e

crónicas, como a doença inflamatória intestinal, as doenças cardiovasculares, a obesidade, a diabetes e a artrite reumatoide (Patterson, Wall, Fitzgerald, Ross, e Stanton, 2012). Uma vez que o perfil lipídico da alimentação dos insetos influencia a sua composição em ácidos gordos, este desequilíbrio no rácio n-6/n-3 poderá ser revertido através de uma maior concentração de ácidos gordos n-3 na sua ração (Oonincx et al., 2020). Por outro lado, do ponto de vista sensorial, a presença de uma elevada quantidade de ácidos gordos insaturados leva a uma rápida oxidação de produtos alimentares à base de insetos aquando do seu processamento, criando ranço (EFSA Scientific Committee, 2015).

### 3.3. Micronutrientes

No que diz respeito a micronutrientes, os insetos comestíveis são considerados boas fontes de minerais como o ferro, zinco, cálcio (Belluco et al., 2015; Bessa et al., 2017; Imathiu, 2020), potássio e fósforo (Imathiu, 2020; Jantzen da Silva Lucas et al., 2020; Tang et al., 2019). O seu teor em zinco, cálcio e ferro pode até mesmo ser superior ao encontrado em fontes alimentares comuns como carne de vaca, porco ou frango (Imathiu, 2020). Esta composição mineral dos insetos poderá então revelar-se bastante importante em diversos países em desenvolvimento, onde as elevadas prevalências de deficiências em zinco (17%) e em ferro (25%) se revelam preocupantes (Imathiu, 2020). Embora os dados relativos ao conteúdo em vitaminas dos insetos sejam escassos, alguns estudos sugerem que estes apresentam elevados teores em vitaminas do complexo B, principalmente biotina, piridoxina, riboflavina, ácido pantoténico, folato, niacina e cobalamina (Belluco et al., 2015; Imathiu, 2020; Stull e Patz, 2020; Tang et al., 2019), apesar de que, tal como acontece com os macronutrientes, estes teores em vitaminas podem ser modificados pela ração fornecida aos insetos (Stull e Patz, 2020).

### 3.4. *Tenebrio molitor*

Tendo em conta o âmbito deste trabalho, importa destacar especificamente o perfil nutricional das larvas de *T. molitor*. Esta espécie de inseto, que na sua fase adulta dá origem a besouros, é uma das principais responsáveis pelas infestações que ocorrem em produtos armazenados, sendo estes insetos normalmente encontrados em lugares escuros e pouco movimentados. As larvas de *T. molitor* são comumente utilizadas como isco de pesca ou alimento para peixes, anfíbios, tartarugas, pássaros e outros animais (Heidari-Parsa, 2018). Atualmente, são um dos insetos edíveis mais estudados e criados para alimentação humana a nível mundial (Wu et al., 2020).

Na Tabela 1 está representada a composição nutricional de larvas de *T. molitor*. Todos os valores serão apresentados em relação à matéria seca uma vez que os insetos são maioritariamente comercializados secos.

Tabela 1. Perfil nutricional de larvas de *T. molitor* (em relação à matéria seca)

	Proteína (%)	Lípidos (%)	Fibra (%)	Cinza (%)	Energia (kcal/100 g)
<b><i>Tenebrio molitor</i></b>	50,32 - 60,21	19,12 - 34,54	1,97 - 22,35	3,47 - 4,30	444 - 518,57

Valores retirados de Yoo, Hwang, Goo, e Yun (2013), Zielińska, Baraniak, Karaś, Rybczyńska, e Jakubczyk (2015), Lee et al. (2016), Ghosh, Lee, Jung, e Meyer-Rochow (2017), Heidari-Parsa (2018), Wu et al. (2020)

Como é possível observar, e tal como foi descrito para a generalidade dos insetos, a fração proteica das larvas de *T. molitor* é consideravelmente alta, oscilando entre os 50% e os 60% de proteína em relação à matéria seca. O perfil de aminoácidos (Tabela 2) é também deveras interessante, principalmente no que diz respeito ao teor em aminoácidos essenciais, uma vez que estes podem estar, por vezes, presentes em quantidades superiores às quantidades de ingestão diária recomendadas para adultos pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Assim, de uma maneira geral, as larvas de *T. molitor* apresentam um perfil de aminoácidos bastante completo e rico.

O conteúdo lipídico parece variar mais, com valores entre os 19% e os 35% em relação à matéria seca. Num estudo realizado por Adámková et al. (2017), observou-se que a quantidade de gordura das larvas irá depender de fatores como a temperatura a que se desenvolvem, sendo que a uma menor temperatura correspondeu uma menor quantidade de gordura; o nível de stress nutricional a que são sujeitas quando deixam de ser alimentadas, traduzido em número de dias que passam sem alimento, sendo que uma inanição mais prolongada resultou em menor conteúdo lipídico; e ainda o modo como são eutanaziadas, tendo a morte por congelação resultado em menores perdas lipídicas quando comparada com a morte por cozimento. No que diz respeito ao perfil de ácidos gordos, através da Tabela 3 observa-se que as larvas de *T. molitor* podem ser uma excelente fonte de ácidos gordos insaturados, destacando-se o ácido oleico (monoinsaturado) e o ácido linoleico (polinsaturado  $\omega 6$ ). No entanto, tal como referido na secção 3.2, a presença deste último ácido gordo em quantidades bastante superiores ao ácido  $\alpha$ -Linolénico (polinsaturado  $\omega 3$ ) poderá causar um desequilíbrio acentuado no rácio  $\omega 6/\omega 3$  destas larvas, o que, do ponto de vista da saúde humana, é indesejável. Contudo, foi já demonstrado por Nielsen (2016) que a ração fornecida a estes insetos tem o potencial de alterar o seu perfil de ácidos gordos, sendo que larvas de *T. molitor*

alimentadas com algas *Chlorella* apresentavam um conteúdo em ácidos gordos  $\omega 3$  superior em 2,5 vezes.

Tabela 2. Perfil de aminoácidos de larvas de *T. molitor*. Valores apresentados em g/100 g de proteína

Aminoácido	<i>T. molitor</i>	Recomendações OMS
<b>Valina*</b>	2,57 - 6,90	3,9
<b>Isoleucina*</b>	1,83 - 5,03	3
<b>Leucina*</b>	3,13 - 10,64	5,9
<b>Lisina*</b>	2,50 - 6,49	4,5
<b>Treonina*</b>	1,70 - 4,18	2,3
<b>Metionina*</b>	0,52 - 1,95	1,6
<b>Histidina*</b>	1,38 - 3,79	1,5
<b>Cisteína*</b>	0,55 - 1,09	6
<b>Fenilalanina*</b>	1,55 - 4,37	
<b>Tirosina</b>	2,88 - 7,99	3,8
<b>Arginina</b>	2,23 - 6,03	
<b>Ácido Aspártico</b>	5,05 - 8	
<b>Ácido Glutâmico</b>	7,97 - 10,9	
<b>Serina</b>	2,23 - 5,46	
<b>Glicina</b>	3,18 - 5,98	
<b>Alanina</b>	4,43 - 8,24	
<b>Prolina</b>	4,34 - 7,41	

\* Aminoácido essencial

Valores retirados de (Zielińska et al., 2015), (Rumpold e Schlüter, 2013), (Heidari-Parsa, 2018), (Yi et al., 2013), (World Health Organization e United Nations University, 2007)

Tabela 3. Perfil de ácidos gordos de larvas de *T. molitor*. Valores apresentados em g/100 g de matéria seca

Ácido gordo	<i>T. molitor</i>
<b>Ácido Láurico C12</b>	0,10 - 0,48
<b>Ácido Mirístico C14</b>	0,97 - 3,26
<b>Ácido Palmítico C16</b>	4,47 - 25,72
<b>Ácido Palmitoleico C16:1</b>	0,29 - 2,90
<b>Ácido Estearico C18</b>	0,08 - 3,06
<b>Ácido Oleico C18:1</b>	10,62 - 65,58
<b>Ácido Linoleico C18:2 *</b>	7,57 - 43,86
<b>Ácido <math>\alpha</math>-Linolénico C18:3 **</b>	0,11 - 3,38
<b>Ácido Eicosanóico C20</b>	0,039 - 0,18
<b>AGS</b>	6,43 - 31,32

<b>Ácido gordo</b>	<b><i>T. molitor</i></b>
<b>AGI</b>	75,17 - 118,17
<b>AGMI</b>	11,31 - 70,94
<b>AGPI</b>	7,78 - 47,24

\* Ácido Gordo  $\omega$ 6; \*\* Ácido Gordo  $\omega$ 3

AGS – Ácidos Gordos Saturados; AGI – Ácidos Gordos Insaturados; AGMI – Ácidos Gordos Monoinsaturados; AGPI – Ácidos Gordos Polinsaturados

Valores retirados de (Lee et al., 2016), (Heidari-Parsa, 2018), (Ghosh et al., 2017), (Wu et al., 2020), (Tzompa-Sosa, Yi, van Valenberg, van Boekel, e Lakemond, 2014), (Bednářová, Borkovcová, Miček, Rop, e Zeman, 2013)

A presença de fibra é também um dado muito interessante, apesar da grande variação de conteúdo que as larvas de *T. molitor* possam apresentar, uma vez que este componente não é encontrado em fontes alimentares de origem animal como a carne (Heidari-Parsa, 2018). O conteúdo em fibra dos insetos deve-se à elevada presença de quitina no seu exoesqueleto (Belluco et al., 2013) e que, recentemente, foi associada a uma melhoria da microbiota intestinal, promovendo a proliferação de microrganismos benéficos como as bactérias *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* e reduzindo o crescimento de microrganismos patogénicos como as bactérias *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* e *Vibrio cholera* (Imathiu, 2020).

Relativamente a minerais e vitaminas, através dos dados da Tabela 4 é possível constatar que as larvas de *T. molitor* representam uma boa fonte de zinco e magnésio, apesar de serem pobres em cálcio, sendo também uma interessante fonte de niacina, riboflavina e ácido fólico, como descrito por Grau, Vilcinskas, e Joop (2017).

Tabela 4. Perfil mineral e vitamínico de larvas de *T. molitor* (em relação à matéria seca)

<b>Minerais/Vitaminas</b>	<b><i>T. molitor</i></b>
<b>Cálcio</b> (mg/100 g)	31,96 - 78,42
<b>Fósforo</b> (mg/100 g)	97,60 - 1039,20
<b>Potássio</b> (mg/100 g)	95,30 - 947,04
<b>Ferro</b> (mg/100 g)	3,29 - 18,40
<b>Magnésio</b> (mg/100 g)	163 - 315,23
<b>Zinco</b> (mg/100 g)	9,86 - 13,65
<b>Cobre</b> (mg/100 g)	1,59 - 2,02
<b>Sódio</b> (mg/100 g)	43,71 - 140,94
<b>Tiamina</b> (mg/100 g)	0,31 - 0,63
<b>Riboflavina</b> (mg/100 g)	0,41 - 2,13
<b>Niacina</b> (mg/100 g)	3,85 - 10,68
<b>Ácido pantoténico</b> (mg/100 g)	3,72 - 6,88
<b>Biotina</b> ( $\mu$ g/100 g)	78,74 - 94,87

Minerais/Vitaminas	<i>T. molitor</i>
Ácido Fólico ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ )	237,09 - 410
Vitamina C ( $\text{mg}/100\text{ g}$ )	3,15 - 6,15

Valores retirados de (Heidari-Parsa, 2018), (Zielińska et al., 2015), (Ghosh et al., 2017), (Lee et al., 2016), (Rumpold e Schlüter, 2013), (Wu et al., 2020)

## 4. Sustentabilidade ambiental dos insetos comestíveis

Para além do aspeto nutricional dos insetos, também a vertente ambiental ganha destaque pelas inúmeras vantagens que apresentam quando comparados com fontes alimentares comuns de origem animal. Tendo em conta o panorama mundial apresentado na secção 1, os insetos comestíveis poderão fazer assim parte de um lote de potenciais soluções para os problemas ambientais que estão associados à produção de alimentos de origem animal e que constituem um dos maiores desafios para a humanidade.

### 4.1. Conversão alimentar eficiente

O primeiro aspeto vantajoso diz respeito à eficiência de conversão alimentar que apresentam. As taxas de conversão alimentar relacionam-se com a quantidade de alimento/ração necessária para obter um ganho de 1 kg de peso no animal (Arnold van Huis et al., 2013), sendo que a eficiência desta conversão determina a sustentabilidade da produção (Raheem et al., 2019). Os insetos, devido à sua natureza poiquilotérmica, revelam-se bastante eficientes na conversão alimentar quando comparados com animais endotérmicos, uma vez que não necessitam de gastar a energia consumida através da ração na regulação da sua temperatura corporal. Outros aspetos importantes que contribuem para a sua eficiência são o facto de terem ciclos de vida bastante curtos, um crescimento rápido e fácil proliferação (Raheem et al., 2019). Para além disso, a porção edível do animal torna os insetos comestíveis ainda mais eficientes, uma vez que os animais de gado (40%) e as galinhas e os porcos (55%) apresentam frações edíveis bastante inferiores à fração edível dos insetos (80%) (Arnold van Huis et al., 2013). Um exemplo pertinente é o rácio de conversão alimentar das larvas de *T. molitor*, de 2,2 kg de ração/kg de peso ganho, consideravelmente inferior ao rácio de galinhas e vacas, 2,5 kg/kg e 10 kg/kg respetivamente (Raheem et al., 2019).

### 4.2. Resíduos orgânicos como ração

Alimentar insetos pode ser também bastante mais rentável e sustentável devido ao facto de estes conseguirem converter resíduos orgânicos (agrícolas, alimentares ou humanos) em proteína de alta qualidade (Raheem et al., 2019), contribuindo ainda para a redução da poluição orgânica (Arnold van Huis et al., 2013). Assim, os insetos não



requerem um tipo de ração específica para o seu desenvolvimento nem competem com a cadeia alimentar humana, ao contrário do que acontece com animais como as vacas e galinhas, que são normalmente alimentadas com recurso a cereais (Gahukar, 2016). No entanto, a utilização destes resíduos orgânicos como alimento para insetos comestíveis carece de mais estudos relativos ao risco de contaminações e patogénicos (Arnold van Huis et al., 2013).

### 4.3. Reduzidas emissões de GEE

Como descrito na secção 1, o setor agropecuário contribui largamente para o elevado número global de emissões de GEE que atualmente é registado. No sentido inverso, os insetos comestíveis, em particular as larvas, os grilos e os gafanhotos, produzem 100 vezes menos GEE e 10 vezes menos  $\text{NH}_3$  que o gado de corte (bovino, ovino e caprino) e os porcos. De facto, as únicas espécies de inseto que produzem  $\text{CH}_4$  são os escaravelhos, as baratas e as térmitas (Raheem et al., 2019). No caso particular da espécie *T. molitor*, foi demonstrado que estes insetos apenas produzem 1,5 mg/kg de peso corporal por dia de  $\text{N}_2\text{O}$  e 0,45 g/kg de peso corporal por dia de  $\text{CO}_2$ , sem ocorrer qualquer produção de  $\text{CH}_4$  e  $\text{NH}_3$  (Gahukar, 2016). Desta forma, a produção de insetos para alimentação humana, quando comparada com a agropecuária, poderá representar um impacto ambiental mínimo no que toca a emissões de GEE e às consequências que delas advêm.

### 4.4. Reduzida utilização de água e solo

O uso da água e do solo na criação de insetos comestíveis é significativamente reduzido quando comparado com a criação de gado ou a agricultura. Estimativas sugerem que para produzir a mesma quantidade de proteína, a ocupação de terreno com a criação de larvas de inseto corresponderá a apenas 1 hectare, ao passo que no caso de animais como porcos e galinhas são necessários 2 a 3,5 hectares e cerca de 10 hectares para o gado de corte (Raheem et al., 2019). Em termos de água utilizada, para se obter 1 g de proteína, as larvas de inseto necessitam de menos 50% de água quando comparadas com galinhas, e 5 vezes menos água quando comparadas com vacas (Arnold van Huis e Oonincx, 2017).

Assim, os insetos comestíveis revelam-se como uma fonte alimentar com um impacto ambiental bastante reduzido. A única desvantagem da sua criação prende-se com o facto de estes necessitarem de temperaturas altas para se desenvolverem, algo que irá aumentar a quantidade de energia utilizada (Arnold van Huis e Oonincx, 2017), especialmente em regiões onde o clima é moderado ou frio (Raheem et al., 2019). É

também necessário ter em conta que a maioria dos estudos realizados acerca desta temática foram feitos em pequena escala, pelo que numa produção em grande escala de insetos comestíveis, alguns destes pontos positivos poderão não corresponder totalmente que é reportado na literatura. No entanto, tendo em conta todas as vantagens acima descritas, o custo global da produção de insetos consegue ser inferior ao da produção de gado (Gahukar, 2016). Para além disso, a criação de instalações energeticamente eficientes para a produção de insetos comestíveis, bem como a correta utilização de rações, poderão atenuar a demanda energética e reduzir ainda mais o seu impacto ambiental (Arnold van Huis e Oonincx, 2017).

## 5. Riscos associados aos insetos comestíveis

A avaliação dos riscos do consumo de insetos comestíveis é um passo fundamental para possibilitar a introdução dos mesmos no mercado, na categoria de “*novel foods*”. Por este motivo, a nível europeu, a EFSA publicou em 2015 uma opinião científica acerca do perfil de risco relativo à produção e ao consumo de insetos como alimento humano ou ração, onde faz referência a potenciais riscos biológicos, químicos, ambientais e à sua alergenicidade (EFSA Scientific Committee, 2015).

### 5.1. Alergenicidade

Os insetos são já reconhecidos causadores de reações alérgicas através das suas picadas, como é o caso dos insetos da ordem *Hymenoptera* da qual fazem parte as vespas e as abelhas (Ribeiro, Cunha, Sousa-Pinto, e Fonseca, 2018). Para além disso, alguns insetos são fontes de aeroalergénios que, quando são inalados, podem desencadear respostas imunitárias adaptativas e inatas. Este tipo de alergenicidade foi já observada por exposição ambiental a baratas, que são uma das principais causas de asma em humanos (Pomés et al., 2017) e por exposição ocupacional em entomólogos e outros trabalhadores constantemente expostos a insetos (Stanhope, Carver, e Weinstein, 2015). No caso particular das larvas de *T. molitor*, foi já demonstrada a capacidade desta espécie em causar sensibilização primária em trabalhadores expostos e levarem ao desenvolvimento de reações alérgicas alimentares (H. C. Broekman et al., 2017; Nebbia et al., 2019).

A existência de alergénios comuns (panalergénios) entre artrópodes, como crustáceos, ácaros do pó e insetos, poderá explicar o risco de alergenicidade a insetos detetado em estudos recentes, devido à sua proximidade filogenética (EFSA Scientific Committee, 2015).

Em insetos comestíveis, os principais panalergénios identificados como responsáveis por esta alergenicidade cruzada são a tropomiosina e a arginina cinase (Ribeiro, Cunha, Sousa-Pinto, e Fonseca, 2019). A reatividade cruzada/co-sensibilização destes dois panalergénios foi já demonstrada em pacientes alérgicos a crustáceos ou a crustáceos e ácaros do pó. Relativamente à co-sensibilização entre insetos comestíveis e crustáceos, esta parece não ser alterada pelo processamento térmico, sendo que, no caso das larvas de *T. molitor*, a sua tropomiosina mantém o potencial alergénico depois de sofrerem tratamento térmico ou digestão *in vitro*. Para além disso, a tropomiosina de *T. molitor* é bastante abundante e possui uma sequência de aminoácidos bastante homóloga a outras tropomiosinas causadoras de alergia (Ribeiro, Cunha, et al., 2019). Quanto à significância clínica desta reatividade cruzada, um estudo *in vivo* envolvendo larvas de *T. molitor* demonstrou que ocorre, realmente, uma reação alérgica em pacientes alérgicos a camarões após consumirem estas larvas (H. Broekman et al., 2016; Ribeiro et al., 2018). No entanto, mais estudos são necessários para consolidar conhecimentos acerca da significância clínica da alergenicidade a insetos comestíveis (Ribeiro, Cunha, et al., 2019).

Por tudo isto, a EFSA recomenda que os produtos alimentares à base de proteína de inseto contenham no seu rótulo uma indicação da presença deste ingrediente e do seu potencial alergénico/reactividade cruzada, principalmente dirigida a quem é alérgico a crustáceos (EFSA Scientific Committee, 2015).

## 5.2. Riscos biológicos

A deteção de riscos biológicos em insetos está fortemente dependente da natureza e das condições higiénicas das rações utilizadas e do ambiente onde estes insetos são produzidos, do maneiio, do processamento e das formas de conservação utilizadas (EFSA Scientific Committee, 2015).

### 5.2.1. Bactérias

As bactérias patogénicas dos insetos são consideradas inofensivas para animais e humanos, devido às diferenças filogenéticas entre estes. Os estudos realizados acerca desta temática centram-se principalmente na possibilidade de os insetos servirem de vetores de transmissão de agentes patogénicos zoonóticos, como a *Salmonella*, a *Campylobacter* e a *Escherichia coli* verotoxigénica (Baiano, 2020; EFSA Scientific Committee, 2015). No entanto, esta possibilidade é apenas considerada para insetos não processados e depende das rações e condições de produção. Para além disso, no trato intestinal dos insetos não ocorre uma replicação ativa de agentes

patogénicos, ao contrário do que acontece com outros animais como porcos e aves de capoeira (EFSA Scientific Committee, 2015).

Assim, o risco de transmissão de bactérias patogénicas pode ser limitado através de métodos de processamento como o branqueamento (EFSA Scientific Committee, 2015) e através de um jejum de pelo menos 24 horas, para limpeza do trato intestinal e diminuição da sua carga microbiana (Caparros Megido et al., 2017).

### 5.2.2. Vírus

A maioria dos vírus presentes em insetos são específicos para invertebrados, não sendo por isso patogénicos para humanos e outros animais vertebrados. No entanto, os insetos podem servir como vetores replicativos de vírus tipicamente associados a vertebrados e que causam doenças em humanos, como a dengue, a febre do Nilo Ocidental, a febre hemorrágica, entre outras. Apesar disso, a transmissão destes vírus não parece estar associada a insetos utilizados para alimentação humana e animal. Estes podem, de facto, captar os vírus a partir da ração que lhes for fornecida, mas o risco de transmissão a humanos e animais pode ser controlado pela escolha adequada da ração a utilizar, pelo tipo de processamento aplicado e pelo recurso a técnicas de deteção direcionadas a estes vírus (EFSA Scientific Committee, 2015).

Como nota de interesse, no contexto atual em que nos encontramos, foi publicado um artigo de opinião acerca da improbabilidade de os insetos comestíveis contribuírem para a transmissão do novo Coronavírus, SARS-CoV-2. Este vírus é específico de vertebrados e, para ocorrer infeção, é necessária a existência de recetores tipo ACE2 que consigam ligar-se às “proteínas spike” que o vírus apresenta na sua superfície. Apesar de os insetos possuírem recetores deste tipo, a sua estrutura difere bastante da dos recetores presentes no ser humano e outros vertebrados. As únicas duas formas possíveis de contaminação pelo SARS-CoV-2 em insetos produzidos comercialmente seriam através da ração utilizada ou através dos trabalhadores presentes nas unidades de produção de insetos comestíveis. No entanto, mesmo que as regras de higiene e controlo estabelecidas não sejam cumpridas, o vírus não será capaz de se replicar nos insetos, devido à ausência de recetores ACE2 específicos, e o processamento que estes sofrem pode ser suficiente para destruir as partículas do vírus (Dicke et al., 2020).

### 5.2.3. Parasitas

Em regiões onde o consumo de insetos é tradicional, autópsias humanas sugerem a transmissão de trematódes das famílias *Lecithodendridae* and *Plagiorchidae*

por via oral (Baiano, 2020). Na América Latina, estima-se que milhões de pessoas estejam infetadas com a Doença de Chagas, provocada pelo agente parasitário *Trypanosoma cruzi*, e cuja transmissão é feita por insetos que servem como vetores biológicos (EFSA Scientific Committee, 2015). Espécies de insetos como *Blatella germanica* e *Periplaneta americana* têm sido reportadas como espécies que albergam protozoários patogénicos como *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Toxoplasma spp.* e *Sarcocystis spp.* (Baiano, 2020).

Apesar disto, ainda não existem dados relativos à presença de parasitas em insetos produzidos para consumo. Numa unidade de produção devidamente controlada, não será expectável encontrar as condições necessárias para o desenvolvimento de parasitas, e o tratamento feito antes do consumo, como o congelamento ou a cozedura, poderá eliminar eventuais riscos de contaminação parasitária (EFSA Scientific Committee, 2015). No entanto, mais estudos são necessários para avaliar o potencial desenvolvimento de parasitas em insetos produzidos para consumo humano e as doenças que estes poderão causar (Imathiu, 2020).

#### 5.2.4. Priões

Relativamente a priões, os insetos não parecem possuir genes capazes de os codificar e, por isso, este tipo de proteínas não é naturalmente expresso em insetos, o que implica que doenças relacionadas com priões não se consigam desenvolver. Por este mesmo motivo, os insetos também não podem ser considerados vetores biológicos de priões (EFSA Scientific Committee, 2015).

No entanto, alguns estudos sugerem a possibilidade de os insetos atuarem como vetores mecânicos de priões humanos ou animais, especialmente se forem alimentados com uma ração contaminada (EFSA Scientific Committee, 2015; van der Fels-Klerx, Camenzuli, Belluco, Meijer, e Ricci, 2018). Os priões são altamente estáveis e permanecem infecciosos durante longos períodos no solo e na água, o que pode antever que, da mesma forma, se mantenham infecciosos para humanos se forem previamente ingeridos por insetos (Fernandez-Cassi, Supenu, Jansson, Boqvist, e Vagsholm, 2018). Assim, prevê-se que rações que não tenham origem humana ou ruminante apresentem baixo ou nenhum risco, enquanto que outros tipos de rações devem ser especificamente estudados para deteção e controlo do risco (EFSA Scientific Committee, 2015).

#### 5.3. Riscos químicos

Para além dos riscos biológicos descritos acima, os produtos à base de inseto podem conter contaminantes químicos, muitos deles presentes na ração fornecida aos

insetos e acumulados pelos mesmos, tais como metais pesados, dioxinas, micotoxinas e oligoelementos. Para além disso, é necessário ter em conta os químicos provenientes de biocidas e de medicamentos veterinários usados para tratar doenças, bem como o facto de algumas espécies de insetos produzirem as suas próprias toxinas.

### 5.3.1. Metais pesados

Elementos metálicos como o chumbo, mercúrio, arsénio e cádmio são considerados tóxicos sistémicos pois são capazes de induzir toxicidade a baixos níveis de concentração, e a contaminação de produtos alimentares com estes metais está associada a efeitos nefastos para a saúde humana e animal (Imathiu, 2020). A concentração destes metais nos insetos irá depender da sua concentração nas rações fornecidas, da espécie de inseto e do seu estado de desenvolvimento (EFSA Scientific Committee, 2015).

Em alguns insetos comestíveis, foram já detetados vestígios de cádmio, chumbo e mercúrio. No caso concreto das larvas de *T. molitor*, estas têm o potencial de acumular cádmio e arsénio, o que suscita alguma preocupação visto esta ser uma das principais espécies em comercialização nos países ocidentais (Imathiu, 2020).

Os poucos estudos que existem sugerem que os insetos, particularmente os que não são produzidos em condições controladas, podem ameaçar a segurança alimentar dos produtos que constituem (Imathiu, 2020). Assim, em insetos produzidos para alimentação humana e animal, estes riscos podem ser mitigados através do controlo nas fases de produção (principalmente ao nível da ração), processamento e armazenamento dos insetos (EFSA Scientific Committee, 2015; Imathiu, 2020). Para além disso, em insetos cujo ciclo de vida é reduzido, a bioacumulação é relativamente baixa quando comparada com aquela que é observada em insetos com ciclos de vida mais longos e que necessitam de ser alimentados repetidamente (EFSA Scientific Committee, 2015).

### 5.3.2. Toxinas

As toxinas são compostos nocivos que podem estar presentes nos insetos, quer por sintetização autónoma quer por acumulação através da ração. Ambas as situações servem como mecanismo de defesa contra predadores. Algumas espécies de inseto são capazes de retirar toxinas de plantas (como os glicosinolatos) e utilizá-las para se tornarem menos apetecíveis aos seus predadores. Algumas das toxinas produzidas pelos insetos incluem benzoquinonas, alcenos, e glicosídeos cianogénicos (EFSA Scientific Committee, 2015).

As micotoxinas encontradas em insetos podem ter origem em fungos patogénicos presentes na ração, como *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* e *Fusarium spp.*, ou podem ser produzidas no trato digestivo dos insetos (EFSA Scientific Committee, 2015). Este tipo de toxinas é visto como o mais importante num contexto alimentar devido aos seus efeitos negativos na saúde pública e na disponibilidade alimentar. No entanto, poucos estudos existem relativos à ocorrência e extensão da contaminação por micotoxinas em insetos comestíveis e produtos derivados, sendo que as aflatoxinas parecem ser as que mais preocupações geram. Estas micotoxinas são carcinogénicas e também podem afetar o crescimento em humanos, sendo os seus efeitos já observados em países tropicais em desenvolvimento, onde o consumo de insetos é elevado (Imathiu, 2020).

Assim, os insetos comestíveis podem ser responsáveis por contaminações de micotoxinas se as condições de manuseio e armazenamento forem inadequadas (Baiano, 2020).

### 5.3.3. Antinutrientes

Os antinutrientes são, como o próprio nome indica, substâncias que impedem ou afetam negativamente a ingestão, digestão, absorção e utilização de macro e micronutrientes pelo organismo. Estas substâncias estão naturalmente presentes em diversos alimentos, principalmente em alimentos de origem vegetal, e podem ser responsáveis por gerar efeitos bastante adversos para a saúde (Imathiu, 2020).

Estudos realizados em insetos comestíveis identificaram a presença de diversos antinutrientes como oxalatos, fitatos, taninos, hidrocianetos, saponinas e alcalóides (Imathiu, 2020; Rumpold e Schlüter, 2015). Os fitatos são responsáveis pela redução da biodisponibilidade de elementos minerais como o ferro, o cálcio, o magnésio, o manganésio e o cobre. Os taninos e as saponinas interferem na digestibilidade proteica por inibição da atividade das enzimas tripsina e quimotripsina (Oibiokpa e Sciences, 2017). Porém, as concentrações destes fatores antinutricionais em diversas espécies de insetos não ultrapassam os limites aceitáveis, pelo que todos estes efeitos descritos poderão não se manifestar após o seu consumo (Oibiokpa e Sciences, 2017; Rumpold e Schlüter, 2015). No entanto, a presença de uma tiaminase resistente ao calor na pupa do bicho da seda africano tem sido responsável por inúmeros casos de défice de tiamina na Nigéria, onde este inseto é consumido como alternativa proteica, levando à ocorrência do síndrome da ataxia sazonal (Imathiu, 2020; Rumpold e Schlüter, 2015).

Assim sendo, é fundamental obter mais conhecimento acerca dos antinutrientes presentes em cada espécie de inseto e as suas concentrações por forma a delinear estratégias que visam a sua eliminação antes do consumo ou, em caso de impossibilidade, procurar espécies alternativas que não representem um risco por excesso de antinutrientes (Imathiu, 2020).

## 6. Processamento de insetos comestíveis

Previamente à comercialização de insetos comestíveis ou produtos que os incorporem, é necessário proceder a um conjunto de etapas de processamento que visam não só garantir a segurança alimentar dos mesmos como também a manutenção e/ou melhoria das suas características organoléticas e sensoriais.

### 6.1. Métodos de abate

Os insetos comestíveis podem ser mortos com recurso ao calor ou ao frio.

A principal técnica de abate com recurso ao calor denomina-se branqueamento e consiste em mergulhar os insetos em água fervente, o que permite uma morte instantânea dos mesmos (IPIFF, 2019). Esta técnica é também utilizada como pré-tratamento, reduzindo a contagem microbiana e inativando enzimas de degradação (Melgar-Lalanne, Hernández-Álvarez, e Salinas-Castro, 2019). Os tempos de branqueamento irão depender do produto final que se pretende obter e dos requerimentos legislativos (IPIFF, 2019).

O congelamento é o método de abate com recurso ao frio mais comum e permite manter o valor nutricional dos insetos até ao passo de processamento seguinte, sendo que as temperaturas aplicadas devem ser sempre inferiores a 5°C. A nível industrial, são utilizadas técnicas de congelação criogénica (com recurso a CO<sub>2</sub>/nitrogénio líquido) ou em leite fluidizado. No final desta etapa, os insetos devem ser mantidos em caixas ou sacos de congelação a cerca de -20°C (IPIFF, 2019).

### 6.2. Métodos de secagem

Os métodos de secagem são aplicados com a finalidade de reduzir/remover o conteúdo de água dos insetos. Esta redução da quantidade de água total e da sua atividade ( $a_w$ ) impede que haja condições para ocorrerem reações enzimáticas de degradação e para o crescimento de microrganismos deterioradores (Melgar-Lalanne et al., 2019). Os valores de  $a_w$  ideais devem ser inferiores a 0,6, uma vez que abaixo deste valor não se verifica crescimento microbiano, e entre 0,2 e 0,4 as reações enzimáticas



e de acastanhamento são retardadas (Lenaerts, Van Der Borgh, Callens, e Van Campenhout, 2018).

A técnica de secagem mais utilizada a nível industrial na produção de insetos é a liofilização, onde são utilizadas temperaturas muito baixas para congelar um produto que de seguida é colocado sob vácuo para que ocorra sublimação do gelo (Lenaerts et al., 2018). Esta técnica apresenta, assim, as vantagens de preservação do valor nutricional e das características organoléticas do produto. No entanto, o investimento capital e o gasto de energia inerentes a esta técnica são bastante elevados, principalmente à escala industrial (Lenaerts et al., 2018; Melgar-Lalanne et al., 2019).

A secagem em forno convencional é outra técnica bastante utilizada, sendo que o custo energético associado é bastante inferior ao da liofilização e os produtos parecem sofrer menor oxidação lipídica (Melgar-Lalanne et al., 2019). As temperaturas aplicadas podem variar entre espécies, mas devem ser sempre mantidas durante todo o processo de secagem para garantir a segurança do mesmo (IPIFF, 2019).

Uma outra alternativa é a secagem em micro-ondas, onde a diferença de pressão do vapor de água entre o exterior e o interior do alimento permite remover o seu conteúdo de água, com resultados comparáveis aos da liofilização no que diz respeito à manutenção da qualidade nutricional e organolética (Lenaerts et al., 2018).

### 6.3. Métodos de fracionamento

O fracionamento consiste na aplicação de processos físicos, químicos e bioquímicos para extrair determinados componentes presentes na composição de um produto (IPIFF, 2019). No caso dos insetos comestíveis, as técnicas de fracionamento têm sido utilizadas na indústria para obter e isolar proteína, gordura e quitina (Melgar-Lalanne et al., 2019).

#### 6.3.1. Fracionamento proteico

A extração do conteúdo proteico de insetos comestíveis pode ser feita com recurso a água, solventes orgânicos ou enzimas (Melgar-Lalanne et al., 2019). A quantidade de proteína extraída depende não só da espécie de inseto mas também do solvente utilizado, do rácio sólido/líquido, do pH do meio e da temperatura (Melgar-Lalanne et al., 2019; Tzompa-Sosa e Fogliano, 2017). Para além disso, o tratamento térmico aplicado aos insetos antes do fracionamento proteico afeta a solubilidade em água das proteínas, devido ao desnaturamento das mesmas pelo calor, o que influenciará a quantidade de proteína extraída. Por outro lado, a aplicação de temperaturas altas nos insetos antes da extração pode prevenir o acastanhamento

enzimático, que normalmente ocorre durante o fracionamento, por inativação das polifenol oxidases. Assim, o fracionamento proteico aplicado poderá resultar num balanço entre quantidade e qualidade da proteína extraída, pelo que o produto final pretendido irá determinar o tipo de extração que mais se adequa (Tzompa-Sosa e Fogliano, 2017).

No entanto, Choi, Wong, e Auh (2017) avaliaram o efeito do desengorduramento (usando hexano como solvente orgânico) e da sonicação (aplicação de tecnologia de ultrassom) no processo de extração proteica em 3 espécies de insetos e concluíram que ambas as técnicas contribuem para uma maior quantidade de proteína extraída, tendo estes resultados sido posteriormente confirmados num estudo de Mishyna, Martinez, Chen, e Benjamin (2019).

As proteínas de inseto assim obtidas podem ser incorporadas em alimentos consumidos no dia-a-dia, como produtos de confeitaria, sobremesas, saladas, queijos, bebidas desportivas, entre outros, dependendo das propriedades que se pretende obter nesses produtos (Tzompa-Sosa e Fogliano, 2017).

### 6.3.2. Fracionamento lipídico

Para a extração da fração lipídica em insetos comestíveis são normalmente utilizados os métodos de Soxhlet e Folch (com solventes orgânicos), extração aquosa e extração com CO<sub>2</sub> supercrítico (Melgar-Lalanne et al., 2019; Tzompa-Sosa e Fogliano, 2017).

Cada método irá apresentar resultados diferentes, especialmente no que diz respeito à quantidade de gordura e ao tipo de lípidos extraídos. A extração aquosa resulta num extrato lipídico de alta qualidade composto apenas por triglicerídeos enquanto que numa extração com solventes orgânicos é obtido um extrato composto por triglicerídeos, glicerídeos parciais e fosfolípidos. Para além disso, a quantidade de gordura extraída com recurso aos solventes orgânicos ou ao CO<sub>2</sub> supercrítico é superior à obtida numa extração aquosa (Tzompa-Sosa e Fogliano, 2017).

Também o tipo de solventes orgânicos utilizados influenciará a qualidade e quantidade do extrato lipídico obtido. Num estudo de Laroche et al. (2019) foi aplicado o método de Soxhlet com recurso a 4 solventes diferentes (hexano, éter de petróleo, acetato de etilo e etanol) e verificou-se que o etanol possibilita uma taxa de extração mais elevada e é mais eficaz na obtenção de ácidos gordos polinsaturados, quando comparado com os restantes solventes. Resultados semelhantes foram também obtidos num estudo de Ribeiro, Lima, et al. (2019), com duas espécies de grilos.

Os óleos de insetos obtidos pelo processo de desengorduramento podem ser aplicados em produtos alimentares como maioneses, vinagretes e óleos de fritura, enquanto que a gordura de insetos é ideal para incorporação em manteigas/margarinas e produtos de padaria e confeitaria (Tzompa-Sosa e Fogliano, 2017).

### 6.3.3. Extração de quitina/quitosano

Para obtenção da quitina/quitosano presente nos exoesqueletos dos insetos é necessária a aplicação de processos químicos ou enzimáticos (IPIFF, 2019).

Os métodos químicos são bastante utilizados pois são simples e de custo reduzido. Normalmente envolvem algumas etapas prévias como o desengorduramento, a remoção da fração proteica, a desmineralização, a descoloração e a deacetilação até ser obtido o extrato final de quitina/quitosano. No entanto, estes métodos tradicionais podem levar a alterações indesejadas de propriedades físico-químicas, para além de que requerem o uso de químicos caros nos processos de purificação e podem ainda resultar na libertação efluentes tóxicos para o ambiente. Assim, mais recentemente têm surgido métodos “verdes” alternativos como a extração biológica com recurso a microrganismos (*Lactobacillus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus subtilis*), a extração enzimática, a extração com recurso a micro-ondas, a extração com recurso a ultrassons e a fitoextração (Mohan et al., 2020).

A quitina e o quitosano presentes nos insetos apresentam melhores propriedades biológicas do que as que são encontradas na quitina e quitosano dos crustáceos, pelo que poderão vir a contribuir na resposta à elevada procura por este tipo de polímeros em setores como a medicina, a agricultura, a cosmética e a indústria alimentar (Kumar, Vivekanand, e Pareek, 2020).

## Objetivos

O principal objetivo deste trabalho consistiu em melhorar o perfil sensorial e a aceitação de barras com incorporação de farinha de *Tenebrio molitor* através do seu desengorduramento.

Com esse fim em vista, foram estudados e comparados diferentes métodos de secagem, avaliando o seu efeito no teor de matéria seca, na atividade da água e na cor das larvas de *T. molitor*, bem como a eficiência de diferentes solventes no processo de desengorduramento através do método de Soxhlet. A partir dos resultados obtidos nestes estudos, definiram-se as condições ideais de processamento e desenvolveu-se uma barra com incorporação de farinha de *T. molitor* desengordurada para avaliação do nível de aceitação da mesma pelos consumidores.

Para além disso, procurou-se também conhecer e caracterizar o mercado de barras de cereais/proteicas em Portugal e o mercado de barras de cereais com incorporação de farinha de inseto em países ocidentais.

Assim, espera-se que as conclusões retiradas desta dissertação sejam uma mais-valia para a comunidade científica e contribuam para um melhor conhecimento na área dos insetos comestíveis, do seu processamento e do seu posicionamento e potencial no mercado ocidental.

# Parte A – Caracterização do mercado de barras de cereais/proteicas em Portugal e do mercado de barras com incorporação de insetos na Europa/Ocidente

## A1. Objetivos

Esta primeira parte do trabalho teve como objetivo conhecer o vasto mercado de barras de cereais/proteicas existente em Portugal, através de uma compilação e análise das marcas e barras atualmente comercializadas, por forma a perceber de que modo a introdução de barras com incorporação de insetos se poderá enquadrar e competir nesse mesmo mercado.

Para além disso, procurou-se também perceber a quantidade e o tipo de barras com incorporação de insetos que já são comercializadas noutros países (nomeadamente no contexto ocidental) e comparar os seus atributos nutricionais com os das barras de cereais/proteicas.

## A2. Materiais e Métodos

### A2.1. Pesquisa

Para a análise e caracterização do mercado de barras de cereais/proteicas em Portugal, realizou-se uma pesquisa *online*, de dezembro de 2019 até agosto de 2020, especialmente focada nos *websites* das maiores cadeias de distribuição alimentar no país e também em *websites* de marcas que se dedicam à produção deste tipo de alimentos. Em alguns casos, devido à escassez de informação disponibilizada na internet, esta pesquisa foi também realizada através de visitas a lojas físicas. No que diz respeito à análise e caracterização do mercado de barras com incorporação de insetos na Europa/Ocidente, a pesquisa foi apenas efetuada de forma *online*, com recurso ao *website* BugBurger ([www.bugburger.se](http://www.bugburger.se)) que fornece uma lista de endereços de internet atualizada de todas as empresas que se dedicam à produção e comercialização destes produtos em diversos países do mundo.

## A2.2. Recolha de informação

A informação recolhida incluiu o nome das marcas e a denominação dos produtos, as suas quantidades líquidas e por unidade, a informação nutricional presente nos rótulos respeitante a macronutrientes e sal (por 100 gramas de produto), a lista de ingredientes, o modo de conservação aconselhado e os preços dos produtos. Relativamente aos micronutrientes, esta informação também foi recolhida sempre que estivesse disponível, o que não aconteceu na maioria dos casos.

No caso das barras com incorporação de insetos, a informação recolhida foi em tudo igual à anteriormente descrita, com a exceção de alguma informação nutricional relativa a produtos provenientes de países cuja legislação não exige a apresentação dos valores nutricionais por 100 g de produto, tendo estes sido registados por porção e posteriormente convertidos. Para além disso, foram também registadas as espécies de insetos incluídas em cada barra.

## A2.3. Análise estatística

Toda a informação obtida foi então compilada e organizada com recurso ao software Microsoft® Excel®, para análise e tratamento de dados. As análises aos dados foram feitas por tipologia de barras: barras de marcas comerciais/cadeias de distribuição, barras de marcas especializadas em nutrição desportiva e barras com incorporação de inseto. Para os dados relativos às composições nutricionais, foram feitos Boxplots com valores mínimos, máximos, extremos, divisão por quartis e média. Para efeitos de comparação, o preço de todas as barras foi convertido para €/100 g, sendo que os valores em dólares (Estados Unidos da América, Canadá, Austrália e Nova Zelândia) e em libras (Reino Unido) foram convertidos para euros.

# A3. Resultados

## A3.1. Barras de cereais/proteicas

Foram recolhidas informações relativas a um total de 525 barras de cereais/proteicas de 56 marcas diferentes comercializadas em Portugal. Destas 56 marcas, 11 são especializadas em Nutrição Desportiva (Enervit Sport, EU Nutrition, GoldNutrition, Grenade, Max Sport, Multipower, MyProtein, Nutramino, PowerBar, Prozis, Weider) e 7 são detidas pela cadeia de distribuição/retalho que as comercializa (Auchan, Continente, Continente Bio, Continente Equilíbrio, Vida Celeiro, Lidl, Pingo Doce).

Relativamente às informações nutricionais, os valores totais de macronutrientes das barras (g/100 g) encontram-se representados num Diagrama de Extremos e Quartis, observável através das Figura 2 e Figura 3. Verifica-se que no que toca ao teor proteico, a média dos valores das barras de marcas comerciais se fixou nos 12,9 g/100 g, com um valor máximo de 50 g/100 g referente às barras de dois sabores diferentes da gama “Barrinhas de Proteínas” da marca Lidl. No caso das barras de marcas de nutrição desportiva, o teor proteico médio fixou-se nos 29,2 g/100 g, sendo o valor máximo de 60 g/100 g referente às barras de dois sabores diferentes da gama “60% Protein” da marca Weider. O teor em açúcar médio das barras de marcas comerciais é de 29,0 g/100 g, sendo o valor máximo de 53 g/100 g referente à barra “Raw Ananás e Amêndoa” da marca Lubs. Quanto às barras de marcas de nutrição desportiva, o valor médio de açúcar fixou-se nos 14,8 g/100 g, sendo o valor máximo de 53 g/100 g referente à barra “Paleo Concept Avelã e Cacau” da marca GoldNutrition.

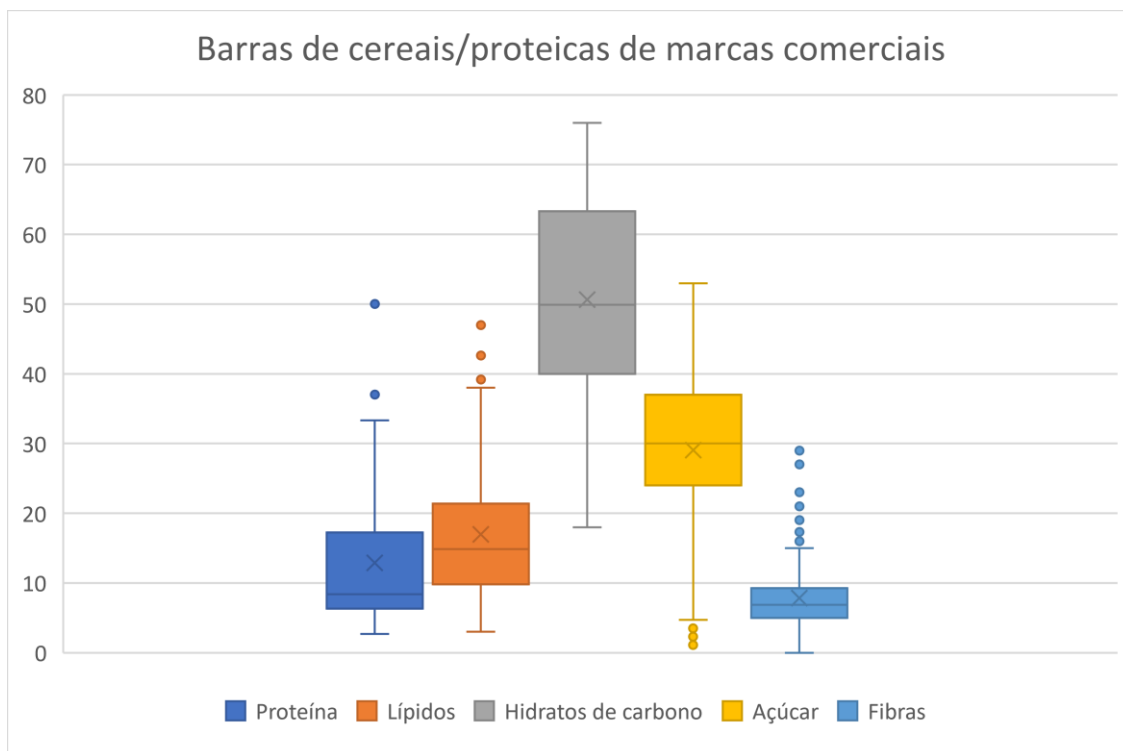


Figura 2. Boxplot para os teores de macronutrientes das barras de cereais/proteicas de marcas comerciais. Valores relativos a g/100 g.

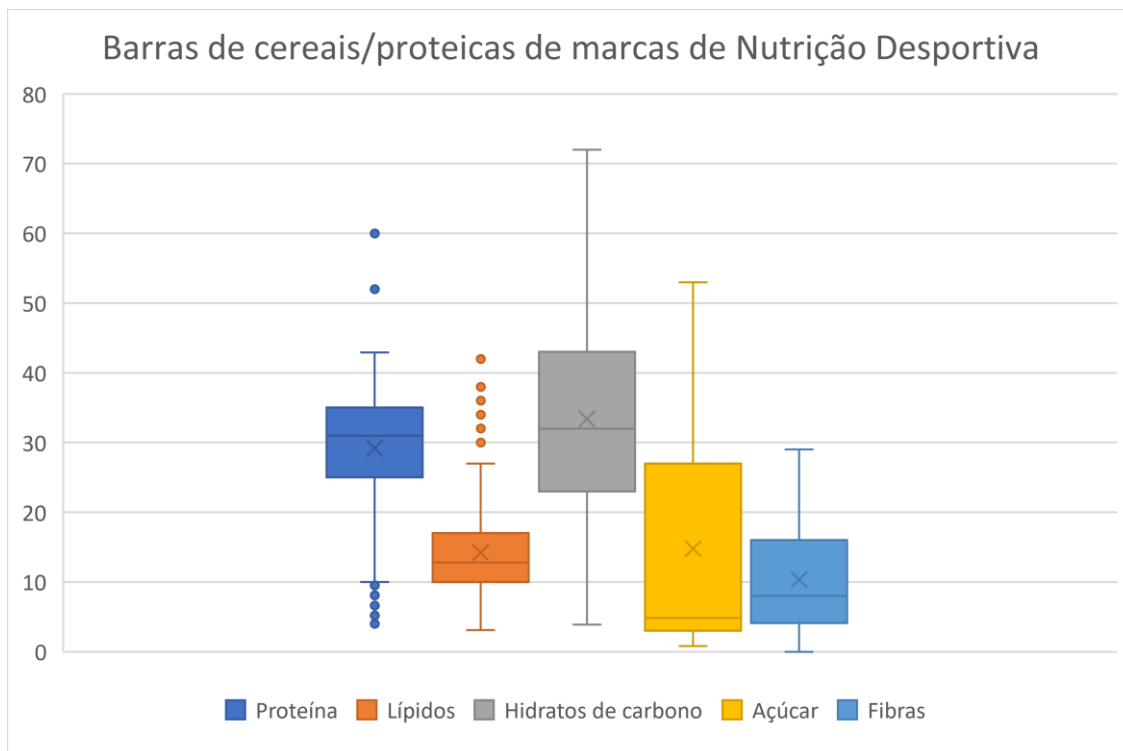


Figura 3. Boxplot para os teores de macronutrientes das barras de cereais/proteicas de marcas de nutrição desportiva. Valores relativos a g/100 g.

Após análise a todas as listas de ingredientes, verificou-se que a grande maioria das barras é constituída por leite, proteína do soro de leite, proteína da soja e mistura de proteínas do leite e da soja.

A média de preços (€/100 g) das barras pertencentes a marcas de nutrição desportiva fixou-se nos 3,98 € ( $\pm 1,00$ ), enquanto que para as barras de marca comercial o preço médio foi de 2,97 € ( $\pm 1,45$ ).

### A3.2. Barras com incorporação de insetos

Foram recolhidas informações relativas a um total de 98 barras com incorporação de insetos/farinha de insetos de 38 marcas diferentes, comercializadas em países europeus/ocidentais, nomeadamente Austrália, Áustria, Bélgica, Canadá, República Checa, Dinamarca, França, Alemanha, Itália, Nova Zelândia, Portugal, Espanha, Suécia, Suíça, Reino Unido e Estados Unidos da América.

Relativamente às informações nutricionais, os valores totais de macronutrientes das barras (g/100 g) encontram-se representados num Diagrama de Extremos e Quartis, observável através da Figura 4. A média de teor proteico das barras fixou-se nos 18,6 g/100 g, com um valor máximo de 34 g/100 g referente às barras de dois sabores diferentes da gama “Serious Cricket Protein Bar” da marca Sens (República Checa) e à barra “Hop Bar Chocolate Nutmix” da marca Hop Bar (Reino Unido). No que diz respeito



ao teor em açúcar, a média de valores é de 26 g/100 g, sendo o valor máximo de 44 g/100 g referente à barra “Chocolate Sea Salt Energy Bar” da marca Naak (Canadá).

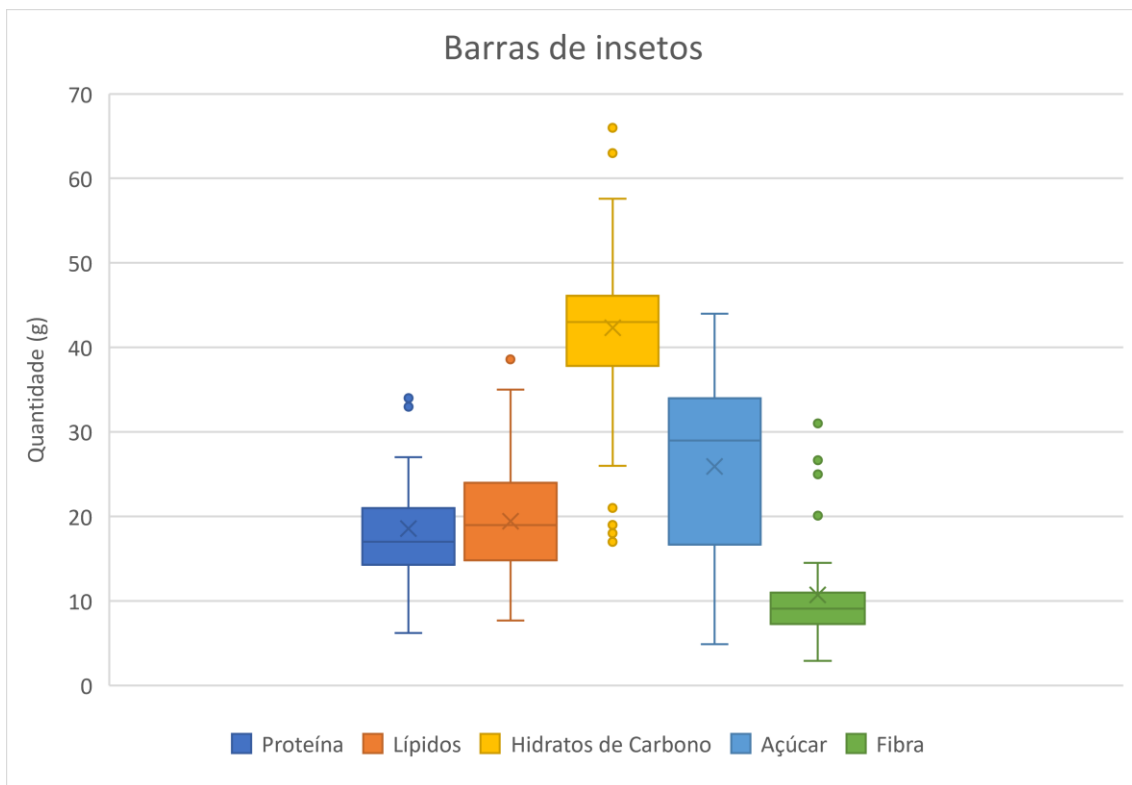


Figura 4. Boxplot para os teores de macronutrientes das barras com incorporação de insetos. Valores relativos a g/100 g de produto

No que diz respeito às espécies de insetos incorporadas, 86% das barras são constituídas por grilos (*Acheta domesticus*, *Gryllodes sigillatus* ou não especificado) sendo as restantes 14 % incorporadas com *Alphitobius diaperinus* ou *Tenebrio molitor* (apenas duas marcas - Portugal Bugs e Micronutris - incorporam esta espécie na constituição das suas barras). As percentagens de incorporação de insetos foram registadas em 46 das barras pesquisadas, tendo uma média de 9,2% ( $\pm 4,1$ ) e variando entre 4 e 20%. Apenas 5 barras apresentavam uma percentagem de inclusão superior a 15%.

Contrariamente ao observado para as barras de cereais/proteicas, a maioria das barras com incorporação de insetos não contém proteínas do leite ou soja, recorrendo apenas aos insetos como principal fonte proteica e também a ingredientes de origem vegetal como as sementes de abóbora, a proteína de girassol, a proteína de ervilha ou a proteína de arroz.

A média de preços (€/100 g) das barras analisadas fixou-se nos 5,28 € ( $\pm 1,33$ ).

## A4. Discussão

De todos os dados recolhidos e analisados, o que atrai maior atenção à primeira vista é a enorme quantidade de barras de cereais/proteicas comercializadas atualmente no mercado português.

De facto, esta categoria de produtos tem já um grande destaque na vida do consumidor moderno, que procura alimentos e refeições rápidas, convenientes e nutritivas para fazer face a estilos de vida cada vez mais ocupados e desgastantes (Sharma, Kaur, Aggarwal, e Singh, 2014). Hoje em dia, o mercado das barras de cereais está avaliado em cerca de 4 mil milhões de dólares americanos, e encontra-se em constante crescimento e mudança, recorrendo a uma maior diversidade de ingredientes para atrair um maior número de consumidores e responder às suas necessidades (Aleksejeva, Siksna, e Rinkule, 2017).

Os desportistas representam uma fatia significativa dos consumidores de barras de cereais/proteicas, o que explica o facto de se encontrarem tantas marcas de nutrição desportiva com este tipo de *snack* disponível no mercado, com opções que variam entre o alto teor de proteína (barras proteicas) e o alto valor energético (barras energéticas). Por outro lado, existem também consumidores comuns que apenas procuram um *snack* que consideram saudável e acessível, algo que poderá justificar a comercialização destas barras por grandes cadeias de distribuição, que as incorporam nas suas próprias marcas.

No entanto, nem todas as barras de cereais/proteicas encontradas nesta pesquisa podem ser consideradas como saudáveis, especialmente devido ao alto teor em açúcares que apresentam. Como foi referido na secção de resultados, a média dos valores de açúcares das barras de cereais/proteicas analisadas foi de 23,2 g/100 g de produto, sendo que os açúcares livres adicionados contribuem substancialmente para este valor. Aliás, muitas barras apresentam na sua composição não só açúcar (sacarose) como também xaropes de milho, glicose e frutose e maltodextrinas. Se por um lado, para desportistas e praticantes de musculação é importante garantir o aporte de glicose antes e após o treino, para consumidores comuns, nomeadamente diabéticos, estes ingredientes podem representar riscos para a saúde quando consumidos em excesso.

Relativamente aos elevados teores proteicos das barras de cereais/proteicas analisadas, nomeadamente das marcas de nutrição desportiva, os ingredientes que mais contribuem para esses valores envolvem leite, proteína do soro de leite, proteína

de soja ou uma mistura de ambas. Esta fortificação proteica com recurso a concentrados de proteínas lácteas tem sido suportada por estudos científicos que apontam diversos benefícios à inclusão destes ingredientes na alimentação, devido principalmente aos seus efeitos antioxidantes, anticancerígenos e antidiabéticos (Patel, 2015).

Mudando agora o foco para as barras com incorporação de insetos, o elevado número de marcas/empresas encontradas nesta pesquisa vai de encontro ao que tem sido observado nos últimos anos: um aumento do número de empresas dedicadas à comercialização de insetos/produtos à base de insetos, nomeadamente no norte da Europa (Pippinato et al., 2020). É expectável que este número continue a subir nos próximos anos, principalmente em resposta à mais recente legislação europeia relativa aos novos alimentos, onde se incluem os insetos comestíveis (Parlamento Europeu, 2015). Para além disso, o também elevado número de barras registadas é justificado pelo facto de este tipo de snack ser considerado um dos alimentos mais apropriados para incorporação de insetos e com melhor aceitação entre consumidores ocidentais (Ardoin e Prinyawiwatkul, 2020).

Contrariamente ao observado para as barras de cereais/proteicas, as barras com incorporação de inseto analisadas raramente continham açúcares refinados na sua constituição, sendo o valor médio das barras (26 g/100 g) devido, na grande maioria dos casos, à inclusão de fruta, sumos de fruta, fruta desidratada (sem adição de açúcar) ou alternativas adoçantes como mel, xarope de tapioca e fruta do monge. Apesar da sua origem natural, estas alternativas devem também ser consumidas com moderação.

Os teores proteicos das barras com incorporação de inseto são superiores aos das barras de cereais/proteicas de marcas comerciais, mas não chegam a atingir os valores encontrados nas barras de cereais/proteicas das marcas especializadas em nutrição desportiva. De facto, em média, as barras com incorporação de inseto continham 18,6 g/100 g de proteína, com um valor máximo de apenas 34 g/100 g. No entanto, importa frisar que a grande maioria destas barras apenas recorria ao inseto como fonte proteica principal ou a alternativas vegetais como a proteína de ervilha ou de arroz. Para além disso, na maioria das barras cuja percentagem de incorporação de inseto era especificada, esta não ultrapassava os 10% de incorporação, tal como reportado num estudo de Pippinato et al. (2020). Uma maior percentagem de inclusão de inseto resultará em teores proteicos mais elevados, mas por outro lado poderá alterar o perfil sensorial das barras. Assim, importa estudar os níveis de percentagem de inclusão que os consumidores consideram aceitáveis do ponto de vista sensorial, para

que deste modo se conseguiram criar barras nutricionalmente ricas e sensorialmente apelativas.

A espécie *A. domesticus* (grilo) é a espécie mais incorporada nestes snacks, sendo que a espécie *T. molitor* apenas foi encontrada em barras de duas marcas diferentes. Não é claro o motivo por detrás desta discrepância entre as espécies, principalmente sendo elas as mais comercializadas no ocidente. Uma possível explicação para o facto de a espécie *A. domesticus* ser mais utilizada na produção de barras poderá residir no facto de esta apresentar uma composição nutricional mais rica em proteínas do que a espécie *T. molitor* (Rumpold e Schlüter, 2013).

Por fim, comparando os preços médios por 100 g das barras de cereais/proteicas com os das barras com incorporação de insetos, observa-se que as últimas são consideravelmente mais caras. Este facto, aliado à incapacidade destas barras em competir nutricionalmente com as centenas de barras proteicas já existentes no mercado, poderá inviabilizar a comercialização das mesmas em Portugal. Tal como descrito por House (2019), a integração de insetos em alimentos ou práticas alimentares já existentes poderá ter pouco sucesso, uma vez que apenas os torna uma alternativa entre um leque de opções já existentes, fazendo com sejam sujeitos a critérios de seleção como o preço, o sabor e a disponibilidade, aos quais ainda não conseguem responder. No entanto, importa referir uma possível limitação nesta análise e consequente comparação de preços que se deve ao facto de a grande maioria das barras com incorporação de insetos serem comercializadas fora de Portugal.

Assim, neste momento, o foco deve recair na melhoria do perfil nutricional e sensorial dos produtos à base de insetos, nos quais se incluem as barras, e na educação alimentar, incidindo sobre temas como a neofobia alimentar e o nojo a insetos, por forma a melhorar a aceitabilidade destes produtos.

# Parte B – Estudo de métodos de branqueamento, secagem e desengorduramento de larvas de *Tenebrio molitor*

## B1. Objetivos

O objetivo desta segunda parte do trabalho passou por testar e comparar diferentes métodos de processamento de larvas de *T. molitor* (como o branqueamento, a aplicação de ácido ascórbico e a secagem) e avaliar o seu efeito no teor de matéria seca (MS), na atividade da água ( $a_w$ ) e na cor das mesmas. Foi também avaliado qual o solvente orgânico que permite uma maior extração da fração lipídica das larvas de *T. molitor*.

Todos estes passos tiveram como finalidade escolher os métodos e as condições ideais a aplicar nas larvas destinadas à formulação das barras com incorporação de farinha de inseto.

O desenho de estudo seguido pode ser encontrado no Anexo 1.

## B2. Materiais e métodos

### B2.1. Larvas de *Tenebrio molitor*

As larvas de *T. molitor* (Figura 5) utilizadas neste trabalho foram adquiridas à empresa Portugal Bugs, vivas e sem alimentação nas 48 horas anteriores para limpeza do trato intestinal. Primeiramente, procedeu-se à lavagem das larvas com solução de 200 ppm de hipoclorito de sódio, sendo depois eutanasiadas por congelação a  $-24^{\circ}\text{C}$ , ficando assim conservadas em pequenas bolsas com fecho de pressão até posterior utilização.



Figura 5. Larvas de *T. molitor*

## B2.2. Caracterização das amostras

Após a aplicação de cada tratamento (branqueamento, secagem), as amostras foram caracterizadas quanto ao seu teor de MS, à sua  $a_w$  e à cor.

### B2.2.1. Matéria Seca

Para determinar o teor de MS das amostras (após branqueamento ou após método de secagem), procedeu-se à pesagem de placas de petri devidamente identificadas (P1), sendo depois pesadas as amostras (P2). As placas de petri com as amostras foram seguidamente colocadas em estufa a 95°C durante 24 horas, sendo que após esse período foi feita a pesagem das placas de petri com as amostras (P3). O cálculo do teor de MS foi efetuado através da seguinte fórmula:

$$\text{Matéria Seca (\%)} = + \frac{P3 - P1}{P2} \times 100$$

onde,

**P1** – peso da placa de petri (g)

**P2** – peso da amostra (g)

**P3** – peso da placa de petri + amostra após 24 h em estufa a 95 °C (g)

Todas as pesagens foram feitas em quadruplicado, com recurso a uma balança analítica Ohaus Explorer® (modelo E01140).

### B2.2.2. Atividade da água

Relativamente à determinação da  $a_w$ , foi utilizado um equipamento Rotronic® (modelo HygroLab 3) onde as amostras pós-branqueamento e pós-secagem foram colocadas antes e depois de serem moídas, sendo feitas medições em triplicado.

### B2.2.3. Cor

Para a determinação da cor, foi utilizado um colorímetro Minolta Chroma Meter® (modelo CR-400), tendo por base o espaço de cor CIELAB, onde  $L^*$  corresponde à luminosidade, de 0 (preto) a 100 (branco);  $a^*$  corresponde à coordenada vermelho/verde, onde -a indica verde e +a indica vermelho; e  $b^*$  corresponde à coordenada amarelo/azul, onde -b indica azul e +b indica amarelo. As medições foram efetuadas nas amostras moídas, sendo repetidas 6 vezes, e com a média correspondente foi possível calcular a variação total da cor das amostras ao longo de determinado tempo, através da fórmula:

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

onde,

$\Delta L^* = L_0 - L$ , sendo  $L_0$  a coordenada inicial e  $L$  a coordenada final

$\Delta a^* = a_0 - a$ , sendo  $a_0$  a coordenada inicial e  $a$  a coordenada final

$\Delta b^* = b_0 - b$ , sendo  $b_0$  a coordenada inicial e  $b$  a coordenada final

### B2.3. Tratamento com Ácido Ascórbico

Parte das larvas utilizadas neste estudo foram tratadas com ácido ascórbico em duas concentrações diferentes, previamente ao seu branqueamento, para testar o seu possível efeito na cor das mesmas. Assim, foram utilizadas soluções de 500 ppm e 5000 ppm de ácido ascórbico, onde as larvas foram mergulhadas durante mais de 15 minutos, sendo posteriormente sujeitas aos mesmos tratamentos de branqueamento e secagem que as amostras sem tratamento com ácido ascórbico.

### B2.4. Branqueamento

O processo de branqueamento é um pré-tratamento que visa a redução da contagem microbiana e a inativação enzimática que provoca a degradação do alimento. Envolve normalmente a colocação do alimento em água fervente durante um curto período de tempo, seguindo-se um arrefecimento rápido através de água fria ou gelo (Melgar-Lalanne et al., 2019).

Neste estudo, tanto as amostras com e sem tratamento prévio com ácido ascórbico foram sujeitas a três tratamentos diferentes (com rácio de 1:10 w/w): 100°C durante 5 minutos (100/5), conforme descrito por Purschke, Brügggen, Scheibelberger, e Jäger (2018), 100°C durante 40 segundos (100/40), segundo o protocolo de Vandeweyer, Lenaerts, Callens, e Van Campenhout (2017) e, por fim, 60°C durante 5 minutos (60/5), como reportado por S Mancini et al. (2019). A Figura 6 ilustra um dos tratamentos de branqueamento realizado a 100°C. No final de cada branqueamento, o excesso de água foi removido com recurso a uma peneira granulométrica, sendo as amostras colocadas em sacos com fecho de pressão, devidamente identificados, e guardadas em refrigeração a 2°C até utilização posterior.

Com as amostras branqueadas (tanto com e sem tratamento com ácido ascórbico) foi efetuado um estudo de avaliação de mudança da cor ao longo do tempo, baseado no estudo de S Mancini et al. (2019). A cor das amostras foi medida logo após o branqueamento (T0), sendo depois parte das amostras armazenadas à temperatura ambiente e outra parte em refrigeração a 2°C. As restantes medições de cor das amostras armazenadas à temperatura ambiente foram efetuadas após 6h, 24h, 48h, 72h e 144h. Para as amostras armazenadas em refrigeração, as restantes medições de cor foram efetuadas após 6h, 24h, 48h, 72h, 144h, 240h, 384h.



Figura 6. Branqueamento de larvas *T. molitor* a 100°C

## B2.5. Métodos de Secagem

Relativamente aos métodos de secagem, neste estudo foram avaliados três métodos: utilização de forno convencional Unox® (modelo XF016-TG), micro-ondas Teka® (modelo MW 21 IVS INOX) e desidratador Klarstein®. Para todos os métodos de secagem apenas foram utilizadas as amostras branqueadas com as condições 100/5 e 100/40, tanto com e sem tratamento prévio com ácido ascórbico.

No que diz respeito ao forno convencional, 10 g das amostras branqueadas foram colocadas no forno a 60°C durante 24 horas (F\_60/24) ou a 80°C durante 7 horas (F\_80/7), de acordo com o protocolo de Purschke et al. (2018).

Foi também testado o método de secagem com micro-ondas, como descrito anteriormente por Vandeweyer et al. (2017) e Lenaerts et al. (2018), sendo aplicadas diferentes condições devido ao tipo de equipamento disponível. Assim, para o método de secagem com micro-ondas (800 W), 10 g das amostras branqueadas foram colocadas num prato de cerâmica e secas durante 5, 4 e 3 minutos (M\_5, M\_4 e M\_3, respetivamente).



No que toca ao desidratador, 10 g das amostras branqueadas foram colocadas em pequenos pedaços de papel de alumínio, devidamente identificados, e distribuídas pelas diferentes prateleiras do aparelho, sendo secas a 52°C durante 24 horas (D\_52/24) ou a 68°C durante 7 horas (68/7).

No final de cada método, as amostras foram retiradas para análise do teor de MS, determinação de  $a_w$  e da cor.

## B2.6. Desengorduramento

Para proceder ao desengorduramento das larvas de *T. molitor* foi escolhido o método de Soxhlet, tal como descrito em estudos de Tzompa-Sosa et al. (2014), Laroche et al. (2019) e Ribeiro, Lima, et al. (2019). O método de Soxhlet é uma técnica contínua de extração da componente lipídica de alimentos, na qual a amostra a desengordurar é colocada num cartucho que se vai enchendo gradualmente de um determinado solvente (líquido extrator) proveniente de um balão de fundo redondo que é continuamente aquecido. Quando o solvente atinge um determinado nível dentro do extrator, é então removido através de um sifão que o devolve ao balão original, juntamente com os resíduos lipídicos da amostra. O processo é então repetido continuamente até que a fração lipídica da amostra seja removida (Luque de Castro e Priego-Capote, 2010).

Foram então escolhidos 5 solventes a utilizar na extração - Etanol, Metanol, Acetona, Hexano e Acetato de Etilo – para assim poder avaliar a eficiência de cada um e o mais apropriado para ser utilizado posteriormente aquando da formulação das barras. A escolha dos solventes baseou-se em estudos prévios de extração lipídica com o método de Soxhlet realizados com insetos (Laroche et al., 2019; Ribeiro, Lima, et al., 2019), servindo também para garantir que os solventes utilizados tinham valores de polaridade distintos. As extrações com cada um dos solventes foram realizadas em quadruplicado.

Assim, para cada extração, foram pesados  $15,0 \pm 0,1$  g de amostra moída (100/5; F\_80/7) para um cartucho de celulose (P1) a colocar no extrator, sendo também pesados os balões de fundo redondo (P2) onde se iria depositar o solvente. Após a montagem de todos os componentes do processo (balão, extrator, condensador e tubos para fornecimento contínuo de água), foram adicionados 650 mL de solvente ao balão de fundo redondo constantemente aquecido numa manta de aquecimento, sendo que cada extração levou 6 horas a concluir. O solvente presente no balão no final da extração foi depois evaporado com recurso a um evaporador rotativo a vácuo Heidolph®

(modelo Laborota 4000 – efficient) com banho de aquecimento para assim o separar do resíduo lipídico extraído. Os valores de temperatura do banho utilizados variaram para cada solvente, consoante a sua temperatura de ebulição sob pressão de 600 mbar. Na Tabela 5 estão representados esses valores.

Tabela 5. Valores de temperatura de ebulição (à pressão atmosférica e a 600 mbar) e temperatura do banho para cada um dos solventes utilizados

Solvente	Temperatura de ebulição (°C)	Temperatura de ebulição (°C) a 600 mbar	Temperatura do banho (°C)
<b>Etanol</b>	78	65	85
<b>Metanol</b>	65	51	71
<b>Acetona</b>	56	36	56
<b>Hexano</b>	69	53	73
<b>Acetato de Etilo</b>	77	62	82

No final de cada extração, o cartucho com a amostra desengordurada foi colocado em estufa a 95 °C durante 24 horas, sendo posteriormente feita a pesagem da amostra desengordurada e a medição da cor. Esta amostra foi então depois guardada em recipiente próprio ao abrigo da luz para uma próxima utilização. Após o processo de evaporação rotativa do solvente, o balão contendo apenas o resíduo lipídico extraído foi colocado num exsiccador por alguns minutos para arrefecer, sendo depois pesado (P3). Os valores de P1, P2 e P3 foram então utilizados para calcular o rendimento do processo de extração lipídica, através da fórmula:

$$\text{Fração lipídica extraída}(\%MS) = \frac{P3 - P2}{P1 \times \frac{MS(\%)}{100}} \times 100$$

onde,

**P1** – peso da amostra (g)

**P2** – peso do balão de fundo redondo (g)

**P3** – peso do balão de fundo redondo com resíduo lipídico extraído (g)

Como forma de confirmação da eficácia do processo de extração com cada um dos solventes, procedeu-se a uma nova extração de Soxhlet utilizando as amostras desengorduradas correspondentes a cada um dos solventes e recorrendo ao éter de petróleo como solvente “padrão”.

Com os resultados obtidos, procedeu-se à escolha do solvente capaz de extrair maior quantidade de gordura, a utilizar para o desengorduramento das larvas *T. molitor* destinadas à criação de barras alimentares.

## B2.7. Análise estatística

Para se proceder à análise estatística dos dados obtidos foi utilizado o programa SPSS Statistics 26®, sendo os resultados apresentados como médias das medições com os respetivos desvios padrões.

Para avaliar o efeito do método de branqueamento e concentração de ácido ascórbico na MS e cor das amostras, foi aplicado um Two-Way ANOVA seguido de teste de Tukey para calcular diferenças entre condições.

Para a variação de cor ao longo do tempo nas amostras armazenadas em condições refrigeradas, foi avaliado o impacto das condições de branqueamento e concentração de ácido ascórbico na variação total da cor ( $\Delta E^*$ ). Para cada medição foi aplicado um Two-Way ANOVA seguido de teste de Tukey, utilizando método de branqueamento e concentração de ácido ascórbico como fatores. Para medir o efeito do método de conservação (refrigeração ou temperatura ambiente), foi aplicado um Three-Way ANOVA, utilizando método de branqueamento, concentração de ácido ascórbico e modo de conservação como fatores.

A deteção de diferenças estatisticamente significativas nos restantes parâmetros foi efetuada através de *t-test* (com duas condições) ou o teste One-Way ANOVA (para mais de duas condições), seguido do teste de Tukey. Todos os testes foram aplicados com um nível de confiança de 95%.

## B3. Resultados

### B3.1. Efeito do Branqueamento e aplicação de Ácido

#### Ascórbico na Matéria Seca

Após a análise dos dados obtidos, foi possível verificar que apenas o processo de branqueamento teve um efeito significativo no teor de MS das amostras. Através da Tabela 6 observa-se que as amostras sem branqueamento têm um teor de MS superior a todas as amostras branqueadas, com exceção da amostra 60/5. Um branqueamento a 100°C durante 5 minutos, levou ao menor teor de MS.

Tabela 6. Médias ( $\pm$  d.p) dos teores de MS das amostras de acordo com os fatores condições de branqueamento e concentração de ácido ascórbico. Valores de F provenientes do teste Two-Way ANOVA.

Fator		Média ( $\pm$ d.p)	F(gl, gle); $\rho$
<b>Branqueamento</b>	s/t	33,2 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	F(3, 36) = 17,471; $\rho \leq 0,001$
	100/5	26,5 $\pm$ 2,4 <sup>c</sup>	
	100/40	29,9 $\pm$ 3,5 <sup>b</sup>	
	60/5	31,2 $\pm$ 2,1 <sup>a,b</sup>	
<b>Ácido Ascórbico</b>	s/t	29,3 $\pm$ 3,1 <sup>a</sup>	F(2, 36) = 1,772; $\rho = 0,184$
	500ppm	30,4 $\pm$ 3,9 <sup>a</sup>	
	5000ppm	30,8 $\pm$ 3,1 <sup>a</sup>	

<sup>a,b,c</sup> Letras diferentes representam resultados significativamente diferentes para cada um dos fatores ( $p \leq 0,05$ ).

### B3.2. Efeito do Branqueamento e aplicação de Ácido Ascórbico na Cor

O processo de branqueamento revelou ter efeito significativo na cor das amostras. Relativamente à coordenada de cor  $L^*$  (Tabela 7), todas as condições de branqueamento aumentaram os seus valores em comparação com as amostras não branqueadas. Por outro lado, o efeito foi inverso no que toca aos valores da coordenada  $a^*$  (Tabela 8). No que diz respeito à coordenada  $b^*$  (Tabela 9), não se verificou um efeito evidente do branqueamento, uma vez que não houve diferenças estatisticamente significativas entre as amostras não branqueadas e as branqueadas a 100°C durante 5 minutos e a 60°C durante 5 minutos.

Tabela 7. Médias ( $\pm$  d.p) dos valores de  $L^*$  das amostras de acordo com os fatores condições de branqueamento e concentrações de ácido ascórbico. Valores de F provenientes do teste Two-Way ANOVA.

		$L^*$	
Fator		Média ( $\pm$ d.p)	F(gl, gle); $\rho$
<b>Branqueamento</b>	s/t	36,9 $\pm$ 3,4 <sup>c</sup>	F(3, 60) = 148,949; $\rho \leq 0,001$
	100/5	46,8 $\pm$ 1,9 <sup>a</sup>	
	100/40	44,0 $\pm$ 1,9 <sup>b</sup>	
	60/5	47,0 $\pm$ 2,1 <sup>a</sup>	
<b>Ácido Ascórbico</b>	s/t	42,2 $\pm$ 5,6 <sup>b</sup>	F(2, 60) = 15,430; $\rho \leq 0,001$
	500ppm	44,5 $\pm$ 3,4 <sup>a</sup>	
	5000ppm	44,4 $\pm$ 4,5 <sup>a</sup>	

<sup>a,b,c</sup> Letras diferentes representam resultados significativamente diferentes para cada um dos fatores ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 8. Médias ( $\pm$  d.p) dos valores de  $a^*$  das amostras de acordo com os fatores condições de branqueamento e concentrações de ácido ascórbico. Valores de F provenientes do teste Two-Way ANOVA.

		$a^*$	
Fator		Média ( $\pm$ d.p)	$\rho$
<b>Branqueamento</b>	s/t	8,2 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>	F(3, 60) = 39,838; $\rho \leq 0,001$
	100/5	5,2 $\pm$ 1,1 <sup>c</sup>	
	100/40	6,3 $\pm$ 0,9 <sup>b</sup>	
	60/5	6,8 $\pm$ 1,8 <sup>b</sup>	
<b>Ácido Ascórbico</b>	s/t	5,6 $\pm$ 2,0 <sup>b</sup>	F(2, 60) = 28,251; $\rho \leq 0,001$
	500ppm	7,3 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	
	5000ppm	7,0 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	

<sup>a,b,c</sup> Letras diferentes representam resultados significativamente diferentes para cada um dos fatores ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 9. Médias ( $\pm$  d.p) dos valores de  $b^*$  das amostras de acordo com os fatores condições de branqueamento e concentrações de ácido ascórbico. Valores de F provenientes do teste Two-Way ANOVA.

		$b^*$	
Fator		Média ( $\pm$ d.p)	$\rho$
<b>Branqueamento</b>	s/t	26,2 $\pm$ 1,6 <sup>b,c</sup>	F(3, 60) = 8,209; $\rho \leq 0,001$
	100/5	25,7 $\pm$ 1,4 <sup>c</sup>	
	100/40	27,7 $\pm$ 1,8 <sup>a</sup>	
	60/5	27,0 $\pm$ 1,8 <sup>a,b</sup>	
<b>Ácido Ascórbico</b>	s/t	26,5 $\pm$ 1,9 <sup>a,b</sup>	F(2, 60) = 6,470; $\rho \leq 0,001$
	500ppm	27,4 $\pm$ 1,5 <sup>a</sup>	
	5000ppm	26,0 $\pm$ 1,6 <sup>b</sup>	

<sup>a,b,c</sup> Letras diferentes representam resultados significativamente diferentes para cada um dos fatores ( $\rho \leq 0,05$ ).

Relativamente à aplicação de ácido ascórbico, este teve efeito significativo na coordenada  $L^*$  e  $a^*$ , aumentando os seus valores independentemente da concentração utilizada. No entanto, para a coordenada  $b^*$ , a aplicação de 500ppm de ácido ascórbico aumentou significativamente os seus valores em comparação com a aplicação de 5000ppm de ácido ascórbico.

### B3.3. Variação da Cor ao longo do tempo

Para esta secção de resultados, foi decidido apresentar apenas a variação da cor ao longo do tempo das amostras conservadas em frigorífico e a comparação entre métodos de conservação, por forma a não sobrecarregar a quantidade de informação apresentada. Apenas se decidiu trabalhar com os valores de  $\Delta E^*$  pois este parâmetro já engloba todas as variações das coordenadas de cor ( $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  e  $\Delta b^*$ ). Também se optou por não apresentar os resultados referentes às amostras não branqueadas, pois como estas tinham valores de  $t_0$  bastante diferentes das amostras branqueadas (Secção 3.2), a utilização dos valores de  $\Delta E^*$  poderia induzir em erro.

Através da Figura 7, é possível observar um efeito notório do processo de branqueamento na variação da cor ao longo do tempo nas amostras 100/5 e 100/40, que apresentam menores valores de  $\Delta E^*$  que as amostras 60/5.

Relativamente ao efeito do ácido ascórbico na variação da cor ao longo do tempo, este apenas foi evidente e constante para as amostras 60/5, especialmente na concentração de 5000ppm, sendo bastante inconstante nas amostras 100/40 e 100/5 (apenas visível em medições pontuais).

As tabelas referentes às médias ( $\pm$  d.p) dos valores de  $\Delta E^*$  de acordo com o branqueamento e com a aplicação de ácido ascórbico podem ser encontradas em anexo (Anexo 2).

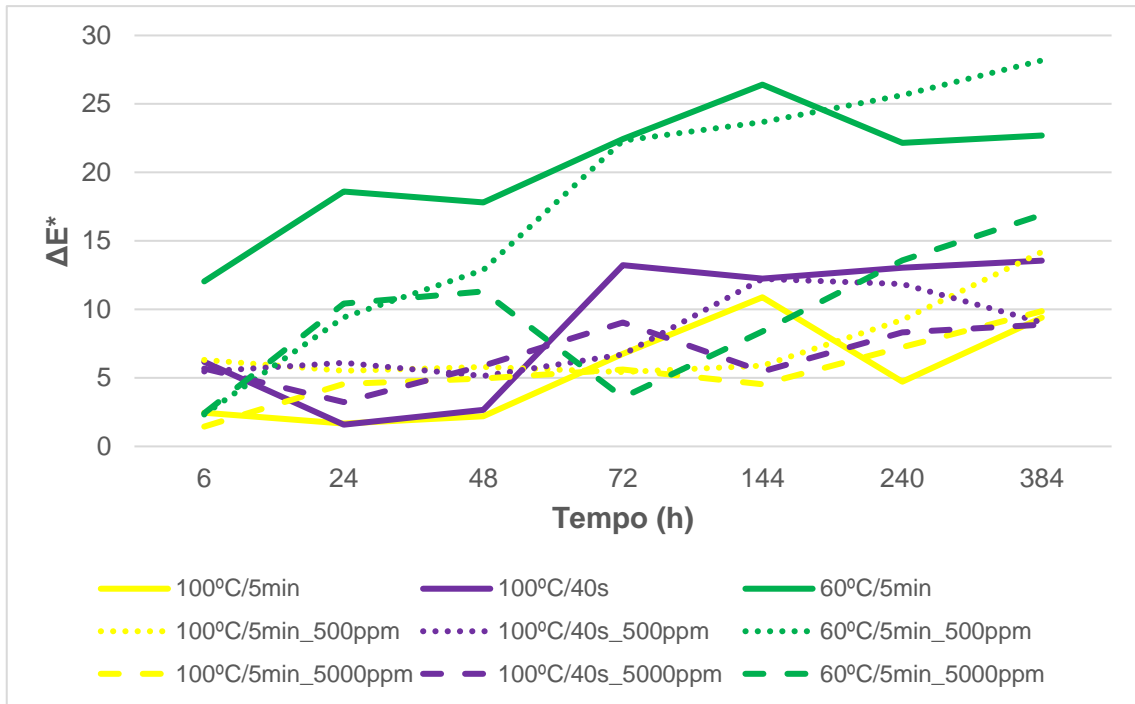


Figura 7. Variação total da cor ( $\Delta E^*$ ) ao longo do tempo para as amostras 100/5, 100/40 e 60/5, sem tratamento com ácido ascórbico, tratadas com 500ppm de ácido ascórbico e tratadas com 5000ppm de ácido ascórbico, conservadas em frigorífico.

Na comparação entre métodos de conservação (temperatura ambiente e frigorífico), observou-se que o seu efeito em amostras branqueadas (Figura 8) foi

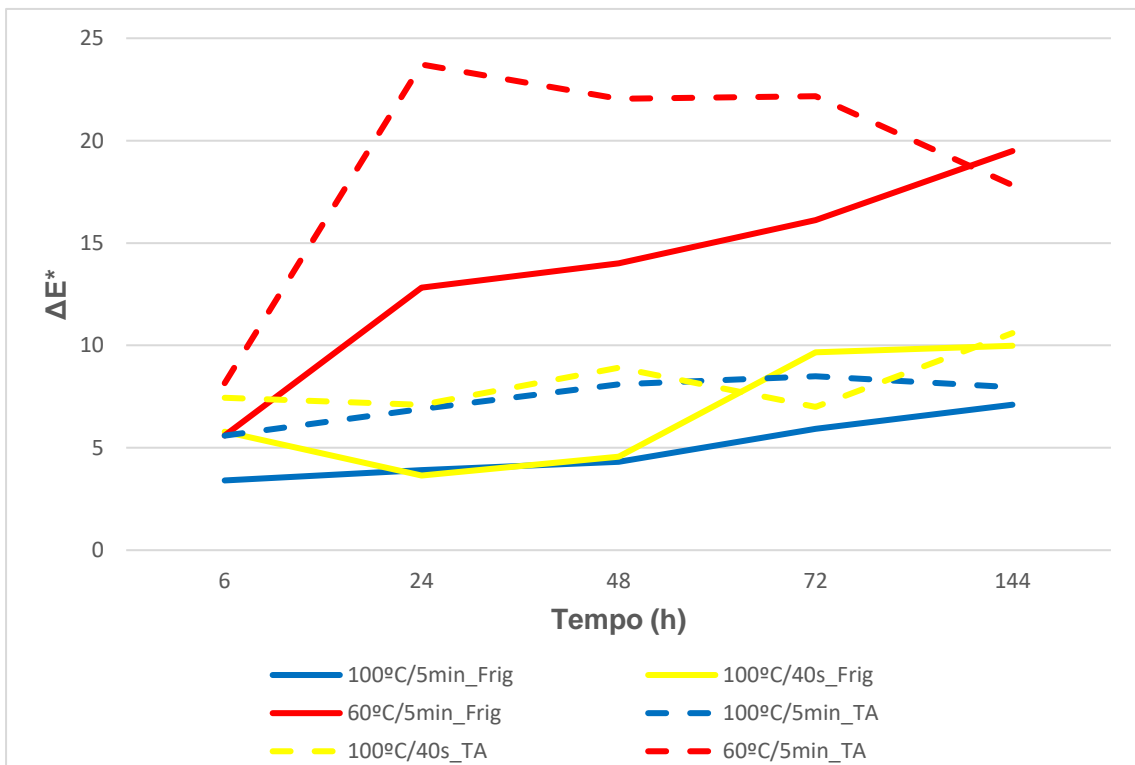


Figura 8. Comparação do efeito dos métodos de conservação (temperatura ambiente vs frigorífico) nos valores de  $\Delta E^*$  de amostras branqueadas.

sempre significativo, com a conservação à temperatura ambiente a resultar em valores mais elevados de  $\Delta E^*$ , exceto na última medição. Este efeito foi especialmente evidente nas amostras 60/5, não sendo tão notório nas restantes amostras com diferentes condições de branqueamento.

Já para as amostras branqueadas, com e sem aplicação prévia de ácido ascórbico (Figura 9), a conservação em frigorífico resultou em menores valores de  $\Delta E^*$ , independentemente da concentração de ácido ascórbico aplicada, particularmente entre as 6 e as 48 horas para as amostras sem tratamento com ácido ascórbico e com tratamento de 500ppm de ácido ascórbico. Adicionalmente, a aplicação de ácido

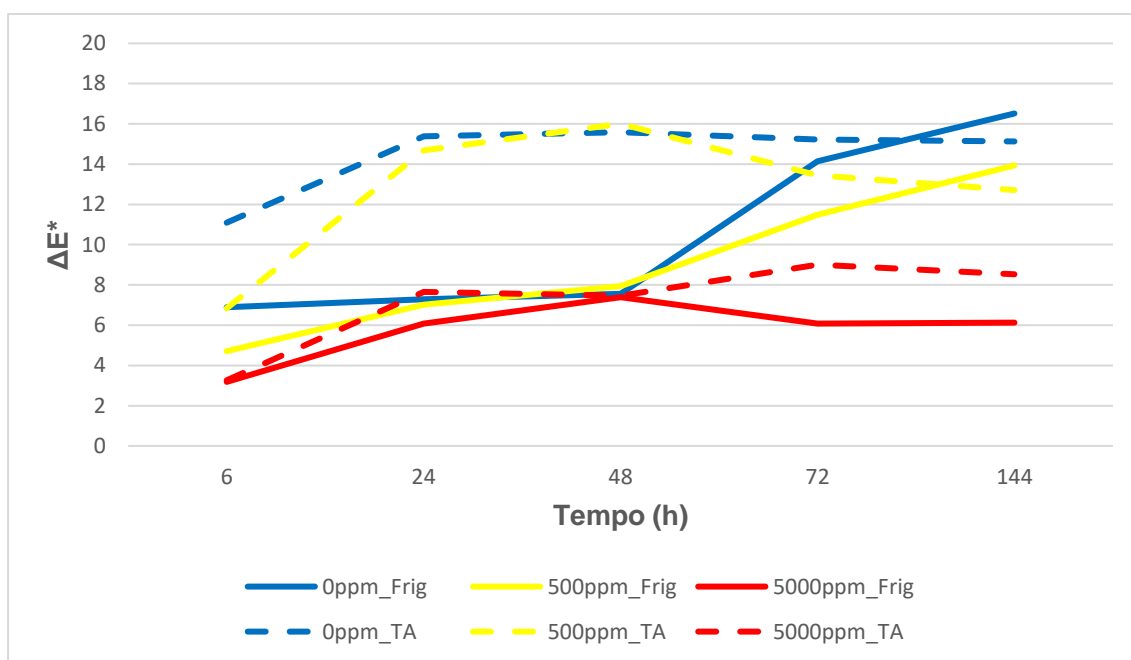


Figura 9. Comparação do efeito dos métodos de conservação (temperatura ambiente vs frigorífico) nos valores de  $\Delta E^*$  de amostras branqueadas, com e sem aplicação prévia de ácido ascórbico.

ascórbico numa concentração de 5000ppm levou a um menor valor de  $\Delta E^*$  em todas as medições para as amostras conservadas a temperatura ambiente. Pelo contrário, para as amostras refrigeradas em frigorífico, este efeito só foi evidente a partir das 72 horas (principalmente nas amostras 60/5, como verificado anteriormente).

As tabelas referentes às médias ( $\pm$  d.p) dos valores de  $\Delta E^*$  consoante o método de conservação e às interações entre a conservação, o processo de branqueamento e a aplicação de ácido ascórbico podem ser encontradas em anexo (Anexo 3).

### B3.4. Métodos de Secagem

Nesta secção, optou-se por reportar apenas os resultados relativos às amostras branqueadas a 100/40 e 100/5 uma vez que apresentaram uma maior estabilidade de

cor ao longo do tempo, facilitando a realização dos ensaios, sendo também as que oferecem mais garantias relativamente à segurança microbiológica.

### B3.4.1. Forno

Começando por analisar os dados de matéria seca (Tabela 10), verifica-se que a secagem a 80°C durante 7 horas resultou num maior teor de MS comparando com a secagem a 60°C durante 24 horas, para qualquer uma das amostras.

Tabela 10. Médias ( $\pm$  d.p) dos teores de MS das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes condições de secagem no forno.

Tratamento	F_80/7	F_60/24
<b>100/5</b>	100,1 $\pm$ 0,3 <sup>Aa</sup>	98,9 $\pm$ 0,1 <sup>Ab</sup>
<b>100/40</b>	99,9 $\pm$ 0,1 <sup>Aa</sup>	98,1 $\pm$ 0,8 <sup>Ab</sup>

<sup>A</sup> Médias com diferentes letras, na mesma coluna, representam resultados significativamente diferentes entre amostras com o mesmo método de secagem ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>a,b</sup> Médias com diferentes letras, na mesma linha, representam resultados significativamente diferentes entre condições de secagem para amostras com o mesmo tipo de branqueamento ( $p \leq 0,05$ ).

Relativamente à  $a_w$ , através da Tabela 11, é possível observar que apenas para as amostras 100/40 existiram diferenças significativas entre as condições de secagem, com a secagem F\_80/7 a apresentar um maior valor de  $a_w$ .

Tabela 11. Médias ( $\pm$  d.p) dos valores de  $a_w$  das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes condições de secagem no forno.

Tratamento	F_80/7	F_60/24
<b>100/5</b>	0,361 $\pm$ 0,046 <sup>Aa</sup>	0,338 $\pm$ 0,034 <sup>Aa</sup>
<b>100/40</b>	0,370 $\pm$ 0,038 <sup>Aa</sup>	0,312 $\pm$ 0,044 <sup>Ab</sup>

<sup>A</sup> Médias com diferentes letras, na mesma coluna, representam resultados significativamente diferentes entre amostras com o mesmo método de secagem ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>a,b</sup> Médias com diferentes letras, na mesma linha, representam resultados significativamente diferentes entre condições de secagem para amostras com o mesmo tipo de branqueamento ( $p \leq 0,05$ ).

Por fim, no que diz respeito à cor (Tabela 12), verifica-se que para a coordenada  $L^*$ , a secagem F\_60/24 resultou num maior valor que a secagem F\_80/7 apenas para as amostras 100/5, sendo estas amostras significativamente mais claras que as 100/40. Para os valores de  $a^*$  não existiram quaisquer diferenças significativas entre condições e amostras. Na coordenada  $b^*$ , existiram diferenças significativas entre condições para as amostras 100/5, com a secagem F\_80/7 a apresentar valores mais elevados.

Tabela 12. Médias ( $\pm$  d.p) dos valores de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes condições de secagem no forno.

Tratamento	$L^*$		$a^*$		$b^*$	
	F_80/7	F_60/24	F_80/7	F_60/24	F_80/7	F_60/24
<b>100/5</b>	29,7 $\pm$ 1,8 <sup>Ab</sup>	33,8 $\pm$ 1,4 <sup>Aa</sup>	8,1 $\pm$ 0,4 <sup>Aa</sup>	7,5 $\pm$ 0,8 <sup>Aa</sup>	24,1 $\pm$ 0,5 <sup>Aa</sup>	22,5 $\pm$ 0,6 <sup>Ab</sup>
<b>100/40</b>	28,8 $\pm$ 2,1 <sup>Aa</sup>	29,9 $\pm$ 3,00 <sup>Ba</sup>	8,5 $\pm$ 1,3 <sup>Aa</sup>	7,5 $\pm$ 1,6 <sup>Aa</sup>	23,3 $\pm$ 1,5 <sup>Aa</sup>	21,6 $\pm$ 1,8 <sup>Aa</sup>

<sup>A,B</sup> Médias com diferentes letras, na mesma coluna, representam resultados significativamente diferentes entre amostras com o mesmo método de secagem ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>a,b</sup> Médias com diferentes letras, na mesma linha, representam resultados significativamente diferentes entre condições de secagem para amostras com o mesmo tipo de branqueamento, para cada coordenada de cor ( $p \leq 0,05$ ).



### B3.4.2. Desidratador

No que diz respeito ao teor de MS (Tabela 13), observa-se que apenas existiram diferenças significativas entre condições para as amostras 100/40, com a secagem D\_52/24 a apresentar maior teor de MS.

Tabela 13. Médias ( $\pm$  d.p) dos teores de MS das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes condições de secagem no desidratador.

Tratamento	D_68/7	D_52/24
100/5	96,6 $\pm$ 2,1 <sup>Aa</sup>	97,2 $\pm$ 0,0 <sup>Aa</sup>
100/40	96,5 $\pm$ 0,2 <sup>Ab</sup>	97,3 $\pm$ 0,5 <sup>Aa</sup>

<sup>A</sup> Médias com diferentes letras, na mesma coluna, representam resultados significativamente diferentes entre amostras com o mesmo método de secagem ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>a,b</sup> Médias com diferentes letras, na mesma linha, representam resultados significativamente diferentes entre condições de secagem para amostras com o mesmo tipo de branqueamento ( $p \leq 0,05$ ).

Para os valores de  $a_w$ , através da Tabela 14 é possível verificar que, nas amostras 100/5, a secagem D\_68/7 resultou em valores significativamente superiores aos da secagem D\_52/24. Para além disso, entre as amostras 100/5 e 100/40 existiram diferenças significativas na condição D\_68/7, com as primeiras a apresentarem maiores valores de  $a_w$ .

Tabela 14. Médias ( $\pm$  d.p) dos valores de  $a_w$  das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes condições de secagem no desidratador.

Tratamento	D_68/7	D_52/24
100/5	0,533 $\pm$ 0,016 <sup>Aa</sup>	0,309 $\pm$ 0,022 <sup>Ab</sup>
100/40	0,485 $\pm$ 0,010 <sup>Ba</sup>	0,421 $\pm$ 0,180 <sup>Aa</sup>

<sup>A,B</sup> Médias com diferentes letras, na mesma coluna, representam resultados significativamente diferentes entre amostras com o mesmo método de secagem ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>a,b</sup> Médias com diferentes letras, na mesma linha, representam resultados significativamente diferentes entre condições de secagem para amostras com o mesmo tipo de branqueamento ( $p \leq 0,05$ ).

Relativamente à cor (Tabela 15), para os valores de  $L^*$  não existiram quaisquer diferenças significativas entre amostras e condições. Para a coordenada  $a^*$ , apenas se observou um efeito significativo nas amostras 100/5, com a secagem D\_68/7 a apresentar valores mais elevados. No que toca à coordenada  $b^*$ , para as amostras 100/5, a secagem D\_68/7 aumentou os seus valores comparativamente à secagem D\_52/24. Para além disso, a primeira condição de secagem também resultou em diferenças significativas entre as amostras, tendo as 100/5 valores superiores às 100/40.

Tabela 15. Médias ( $\pm$  d.p) dos valores de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes condições de secagem no desidratador.

Tratamento	$L^*$		$a^*$		$b^*$	
	D_68/7	D_52/24	D_68/7	D_52/24	D_68/7	D_52/24
100/5	30,9 $\pm$ 2,5 <sup>Aa</sup>	31,6 $\pm$ 1,8 <sup>Aa</sup>	8,8 $\pm$ 0,5 <sup>Aa</sup>	7,1 $\pm$ 0,3 <sup>Ab</sup>	24,5 $\pm$ 0,7 <sup>Aa</sup>	21,9 $\pm$ 0,8 <sup>Ab</sup>
100/40	33,2 $\pm$ 1,3 <sup>Aa</sup>	30,6 $\pm$ 4,2 <sup>Aa</sup>	8,5 $\pm$ 0,5 <sup>Aa</sup>	7,5 $\pm$ 1,4 <sup>Aa</sup>	21,4 $\pm$ 0,7 <sup>Ba</sup>	22,0 $\pm$ 2,4 <sup>Aa</sup>

<sup>A,B</sup> Médias com diferentes letras, na mesma coluna, representam resultados significativamente diferentes entre amostras com o mesmo método de secagem ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>a,b</sup> Médias com diferentes letras, na mesma linha, representam resultados significativamente diferentes entre condições de secagem para amostras com o mesmo tipo de branqueamento, para cada coordenada de cor ( $p \leq 0,05$ ).

### B3.4.3. Micro-ondas

Ao analisar os dados de MS (Tabela 16), verifica-se que para ambas as amostras, a secagem durante 3 minutos resultou num teor de MS significativamente mais baixo em comparação com as restantes condições.

Tabela 16. Médias ( $\pm$  d.p) dos teores de MS das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes condições de secagem no micro-ondas.

Tratamento	M_5	M_4	M_3
100/5	99,7 $\pm$ 0,3 <sup>Aa</sup>	97,2 $\pm$ 3,0 <sup>Aa</sup>	86,7 $\pm$ 1,2 <sup>Ab</sup>
100/40	99,7 $\pm$ 0,3 <sup>Aa</sup>	96,8 $\pm$ 0,3 <sup>Aa</sup>	89,3 $\pm$ 3,1 <sup>Ab</sup>

<sup>A</sup> Médias com diferentes letras, na mesma coluna, representam resultados significativamente diferentes entre amostras com o mesmo método de secagem ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>a,b</sup> Médias com diferentes letras, na mesma linha, representam resultados significativamente diferentes entre condições de secagem para amostras com o mesmo tipo de branqueamento ( $p \leq 0,05$ ).

Relativamente à  $a_w$ , através da Tabela 17 é possível verificar que existiram diferenças significativas entre todas as condições em ambas as amostras, com a secagem durante 5 minutos a resultar em valores mais baixos de  $a_w$ , seguida da secagem durante 4 minutos e, por fim, a secagem durante 3 minutos a apresentar valores mais elevados.

Tabela 17. Médias ( $\pm$  d.p) dos valores de  $a_w$  das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes condições de secagem no micro-ondas.

Tratamento	M_5	M_4	M_3
100/5	0,311 $\pm$ 0,018 <sup>Ac</sup>	0,465 $\pm$ 0,120 <sup>Ab</sup>	0,752 $\pm$ 0,033 <sup>Aa</sup>
100/40	0,319 $\pm$ 0,008 <sup>Ac</sup>	0,448 $\pm$ 0,038 <sup>Ab</sup>	0,753 $\pm$ 0,031 <sup>Aa</sup>

<sup>A</sup> Médias com diferentes letras, na mesma coluna, representam resultados significativamente diferentes entre amostras com o mesmo método de secagem ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>a,b,c</sup> Médias com diferentes letras, na mesma linha, representam resultados significativamente diferentes entre condições de secagem para amostras com o mesmo tipo de branqueamento ( $p \leq 0,05$ ).

No que diz respeito à cor (Tabela 18), para a coordenada  $L^*$ , existiram diferenças significativas entre a secagem M\_3 e a secagem M\_5, para ambas as amostras, com a primeira condição a apresentar valores mais elevados. Para a coordenada  $a^*$ , a secagem M\_3 resultou em valores mais baixos quer nas amostras 100/5, quer nas amostras 100/40. Relativamente à coordenada  $b^*$ , apenas se observaram diferenças significativas entre a secagem M\_3 e as restantes condições nas amostras 100/5.

Tabela 18. Médias ( $\pm$  d.p) dos valores de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes condições de secagem no micro-ondas.

Tratamento	$L^*$			$a^*$			$b^*$		
	M_5	M_4	M_3	M_5	M_4	M_3	M_5	M_4	M_3
100/5	31,7 $\pm$ 1,6 <sup>Ab</sup>	35,5 $\pm$ 5,9 <sup>Aa,b</sup>	37,7 $\pm$ 0,8 <sup>Aa</sup>	14,1 $\pm$ 0,9 <sup>Aa</sup>	12,4 $\pm$ 2,0 <sup>Aa</sup>	9,1 $\pm$ 0,1 <sup>Bb</sup>	28,5 $\pm$ 0,5 <sup>Aa</sup>	28,1 $\pm$ 1,2 <sup>Aa</sup>	24,5 $\pm$ 0,3 <sup>Bb</sup>
100/40	31,2 $\pm$ 7,5 <sup>Ab</sup>	37,4 $\pm$ 0,8 <sup>Aa,b</sup>	38,3 $\pm$ 1,0 <sup>Aa</sup>	14,2 $\pm$ 1,2 <sup>Aa</sup>	11,8 $\pm$ 0,2 <sup>Ab</sup>	9,9 $\pm$ 0,2 <sup>Ac</sup>	27,9 $\pm$ 3,9 <sup>Aa</sup>	28,9 $\pm$ 0,5 <sup>Aa</sup>	26,3 $\pm$ 0,3 <sup>Aa</sup>

<sup>A,B</sup> Médias com diferentes letras, na mesma coluna, representam resultados significativamente diferentes entre amostras com o mesmo método de secagem ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>a,b,c</sup> Médias com diferentes letras, na mesma linha, representam resultados significativamente diferentes entre condições de secagem para amostras com o mesmo tipo de branqueamento, para cada coordenada de cor ( $p \leq 0,05$ ).

### B3.5. Comparação entre métodos de secagem

Para a análise aos resultados desta secção, apenas foram consideradas as condições de secagem F\_80/7 (por apresentar melhores teores de MS), D\_52/24 (por apresentar melhores resultados para o teor de MS e  $a_w$ ) e Micro\_4 (por apresentar melhores resultados relativamente à cor).

#### B3.5.1. Matéria Seca

Relativamente aos teores de MS, através da Tabela 19 é possível observar que apenas existiram diferenças significativas para as amostras 100/40, com a secagem F\_80/7 a resultar num maior teor de MS que as restantes duas condições.

Tabela 19. Médias ( $\pm$  d.p) dos teores de MS das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes métodos de secagem.

Tratamento	F_80/7	D_52/24	M_4
100/5	100,1 $\pm$ 0,3 <sup>Aa</sup>	97,2 $\pm$ 0,0 <sup>Aa</sup>	97,2 $\pm$ 3,0 <sup>Aa</sup>
100/40	99,9 $\pm$ 0,1 <sup>Aa</sup>	97,3 $\pm$ 0,5 <sup>Ab</sup>	96,8 $\pm$ 0,3 <sup>Ab</sup>

<sup>A</sup> Médias com diferentes letras, na mesma coluna, representam resultados significativamente diferentes entre amostras com o mesmo método de secagem ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>a,b</sup> Médias com diferentes letras, na mesma linha, representam resultados significativamente diferentes entre condições de secagem para amostras com o mesmo tipo de branqueamento ( $p \leq 0,05$ ).

#### B3.5.2. Atividade da água

No que diz respeito à  $a_w$  (Tabela 20), verificam-se diferenças significativas apenas para as amostras 100/5, com a secagem M\_4 a apresentar um maior valor de  $a_w$  do que a secagem D\_52/24.

Tabela 20. Médias ( $\pm$  d.p) dos valores de  $a_w$  das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes métodos de secagem.

Tratamento	F_80/7	D_52/24	M_4
100/5	0,361 $\pm$ 0,046 <sup>Aa,b</sup>	0,309 $\pm$ 0,022 <sup>Ab</sup>	0,465 $\pm$ 0,120 <sup>Aa</sup>
100/40	0,370 $\pm$ 0,038 <sup>Aa</sup>	0,421 $\pm$ 0,180 <sup>Aa</sup>	0,448 $\pm$ 0,038 <sup>Aa</sup>

<sup>A</sup> Médias com diferentes letras, na mesma coluna, representam resultados significativamente diferentes entre amostras com o mesmo método de secagem ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>a,b</sup> Médias com diferentes letras, na mesma linha, representam resultados significativamente diferentes entre condições de secagem para amostras com o mesmo tipo de branqueamento ( $p \leq 0,05$ ).

#### B3.5.3. Cor

Analisando a Tabela 21, é possível observar diferenças significativas para todas as coordenadas de cor, sendo que a secagem M\_4 foi a condição que resultou em valores mais elevados de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  tanto nas amostras 100/5 como nas amostras 100/40.

Tabela 21. Médias ( $\pm$  d.p) dos valores de L\*, a\* e b\* das amostras 100/5 e 100/40 para diferentes métodos de secagem.

Tratamento	L*			a*			b*		
	F_80/7	D_52/24	M_4	F_80/7	D_52/24	M_4	F_80/7	D_52/24	M_4
100/5	29,7 $\pm$	31,6 $\pm$	35,5 $\pm$	8,1 $\pm$	7,1 $\pm$	12,4 $\pm$	24,1 $\pm$	21,9 $\pm$	28,1 $\pm$
	1,8 <sup>Ab</sup>	1,8 <sup>Aa,b</sup>	5,9 <sup>Aa</sup>	0,4 <sup>Ab</sup>	0,3 <sup>Ab</sup>	2,0 <sup>Aa</sup>	0,5 <sup>Ab</sup>	0,8 <sup>Ac</sup>	1,2 <sup>Aa</sup>
100/40	28,8 $\pm$	30,6 $\pm$	37,4 $\pm$	8,5 $\pm$	7,5 $\pm$	11,8 $\pm$	23,3 $\pm$	22,0 $\pm$	28,9 $\pm$
	2,1 <sup>Ab</sup>	4,2 <sup>Ab</sup>	0,8 <sup>Aa</sup>	1,3 <sup>Ab</sup>	1,4 <sup>Ab</sup>	0,2 <sup>Aa</sup>	1,5 <sup>Ab</sup>	2,4 <sup>Ab</sup>	0,5 <sup>Aa</sup>

<sup>A</sup> Médias com diferentes letras, na mesma coluna, representam resultados significativamente diferentes entre amostras com o mesmo método de secagem ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>a,b,c</sup> Médias com diferentes letras, na mesma linha, representam resultados significativamente diferentes entre condições de secagem para amostras com o mesmo tipo de branqueamento, para cada coordenada de cor ( $p \leq 0,05$ ).

### B3.6. Efeito da aplicação de Ácido Ascórbico na Cor após secagem

Os resultados apresentados nesta secção apenas dizem respeito às amostras 100/5, pois foi a condição de branqueamento utilizada para incorporação nas barras (Parte C). As tabelas referentes às amostras 100/40 podem ser encontradas em anexo (Anexo 4).

#### B3.6.1. Forno

Observando a Tabela 22, verifica-se que para os valores de L\*, apenas na condição de secagem F\_80/7 existiram efeitos significativos da aplicação de ácido ascórbico, tendo a concentração de 5000ppm resultado num maior valor. Para as coordenadas a\* e b\*, observam-se diferenças significativas para ambas as condições de secagem.

Tabela 22. Médias ( $\pm$  d.p) dos valores de L\*, a\* e b\* para diferentes condições de secagem no forno, consoante as concentrações de ácido ascórbico aplicadas em amostras 100/5.

A.A	L*		a*		b*	
	F_80/7	F_60/24	F_80/7	F_60/24	F_80/7	F_60/24
s/t	29,7 $\pm$ 1,8 <sup>c</sup>	32,7 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	8,1 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	6,8 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>	24,1 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>	22,4 $\pm$ 0,9 <sup>b</sup>
500ppm	31,9 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	29,9 $\pm$ 2,6 <sup>a</sup>	9,4 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	8,8 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	25,5 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	26,4 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>
5000ppm	37,4 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	30,9 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	9,4 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	9,4 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	24,3 $\pm$ 1,2 <sup>b</sup>	26,2 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>

<sup>a,b,c</sup> Médias com diferentes letras, na mesma coluna, representam resultados significativamente diferentes entre amostras com o mesmo método de secagem ( $p \leq 0,05$ ).

#### B3.6.2. Desidratador

Com os dados apresentados na Tabela 23, é possível observar que para os valores de L\*, apenas se registaram diferenças significativas para a condição de secagem D\_68/7, com a aplicação de 5000ppm de ácido ascórbico a aumentar significativamente os valores desta coordenada. Na condição de secagem D\_52/24, para as coordenadas a\* e b\* observam-se as mesmas diferenças significativas, com a aplicação de ácido ascórbico a resultar em valores mais altos, havendo também diferenças para cada concentração.

Tabela 23. Médias ( $\pm$  d.p) dos valores de L\*, a\* e b\* para diferentes condições de secagem no desidratador, consoante as concentrações de ácido ascórbico aplicadas em amostras 100/5.

A.A	L*		a*		b*	
	D_68/7	D_52/24	D_68/7	D_52/24	D_68/7	D_52/24
s/t	29,2 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>	32,0 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup>	8,2 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	7,2 $\pm$ 0,3 <sup>c</sup>	23,5 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup>	22,1 $\pm$ 0,8 <sup>c</sup>
500ppm	31,1 $\pm$ 1,6 <sup>a,b</sup>	30,3 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	8,6 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	8,1 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	24,1 $\pm$ 0,5 <sup>a,b</sup>	23,2 $\pm$ 0,6 <sup>b</sup>
5000ppm	31,2 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>	29,3 $\pm$ 2,5 <sup>a</sup>	8,9 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	8,8 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	24,8 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	24,2 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>

<sup>a,b,c</sup> Médias com diferentes letras, na mesma coluna, representam resultados significativamente diferentes entre amostras com o mesmo método de secagem ( $p \leq 0,05$ ).

### B3.6.3. Micro-ondas

Através da Tabela 24 é possível observar que, para os valores de L\*, apenas se registaram diferenças significativas na condição de secagem M\_3, com a aplicação de 500ppm de ácido ascórbico a resultar em valores de L\* mais elevados. Relativamente aos valores de b\*, apenas se verificou efeito da aplicação de ácido ascórbico nas condições de secagem M\_4 e M\_3, com ambas as concentrações a resultarem em valores mais elevados de b\*.

Tabela 24. Médias ( $\pm$  d.p) dos valores de L\*, a\* e b\* para diferentes condições de secagem no micro-ondas, consoante as concentrações de ácido ascórbico aplicadas em amostras 100/5.

A.A	L*			a*			b*		
	M_5	M_4	M_3	M_5	M_4	M_3	M_5	M_4	M_3
s/t	32,3 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	36,7 $\pm$ 5,7 <sup>a</sup>	37,7 $\pm$ 0,9 <sup>a,b</sup>	13,9 $\pm$ 0,9 <sup>a,b</sup>	12,0 $\pm$ 1,8 <sup>b</sup>	9,1 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	28,5 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	27,9 $\pm$ 1,2 <sup>b</sup>	24,4 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>
500ppm	35,1 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	35,0 $\pm$ 1,6 <sup>a</sup>	38,6 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	13,2 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	13,6 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	9,4 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	29,3 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>	30,5 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	26,5 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>
5000ppm	34,0 $\pm$ 3,1 <sup>a</sup>	37,0 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>	35,1 $\pm$ 3,0 <sup>b</sup>	14,6 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	14,1 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	10,9 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	30,0 $\pm$ 2,4 <sup>a</sup>	30,1 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	25,7 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>

<sup>a,b,c</sup> Médias com diferentes letras, na mesma coluna, representam resultados significativamente diferentes entre amostras com o mesmo método de secagem ( $p \leq 0,05$ ).

### B3.7. Desengorduramento

Relativamente aos dados da extração lipídica através do método de Soxhlet (Tabela 25), verificou-se que o etanol foi o solvente que melhor extraiu a fração lipídica das larvas de *T. molitor*.

Tabela 25. Eficiência dos diferentes solventes na extração lipídica (% de lípidos extraídos  $\pm$  d.p).

Solvente	Lípidos (%)
Etanol	35,7 $\pm$ 4,0 <sup>a</sup>
Metanol	26,1 $\pm$ 2,5 <sup>b</sup>
Acetona	29,1 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>
Hexano	28,4 $\pm$ 0,6 <sup>b</sup>
Acetato de Etilo	29,6 $\pm$ 3,1 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> Letras diferentes representam resultados significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Na confirmação dos resultados (Tabela 26), recorrendo a uma nova extração de Soxhlet com éter de petróleo, observou-se que na fração desengordurada pelo metanol

estava presente uma maior percentagem de lípidos, o que indica que este solvente foi o menos eficiente na remoção da fração lipídica. Para as frações desengorduradas pelos restantes solventes, não existiram diferenças significativas.

Tabela 26. Percentagem de lípidos removidos ( $\pm$  d.p) das frações desengorduradas de cada solvente numa segunda extração de Soxhlet com éter de petróleo.

Fração Desengordurada	Lípidos (%)
Etanol	4,2 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>
Metanol	15,2 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>
Acetona	3,2 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup>
Hexano	2,9 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>
Acetato de Etilo	3,1 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> Letras diferentes representam resultados significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

## B4. Discussão

Através deste trabalho, foi possível verificar que o processo de branqueamento, utilizado principalmente como técnica de conservação alimentar, tem efeito sobre o teor de MS e a cor do alimento branqueado.

O efeito observado sobre o teor de MS traduziu-se numa diminuição deste parâmetro, com as amostras branqueadas a 100°C (independentemente da duração) a terem um menor teor de MS. Os resultados obtidos neste trabalho vão de encontro ao que é reportado num estudo de Purschke et al. (2018), onde larvas de *T. molitor* branqueadas em água fervente durante 10 minutos apresentaram um teor de humidade significativamente superior (menor teor de MS) a larvas frescas sem branqueamento. O mesmo se verificou num estudo de Azzollini, Derossi, e Severini (2016), onde o tempo de branqueamento foi de 3 minutos. Estes mesmos autores sugerem que este efeito do branqueamento sobre o teor de MS pode dever-se a uma absorção da água pelas larvas abaixo do seu exoesqueleto de quitina, sendo cada vez maior quanto mais prolongado for o tempo de branqueamento. No entanto, os resultados apresentados neste trabalho ilustram que a temperatura da água desempenha também um efeito nesta possível absorção de água, uma vez que o branqueamento a 60°C ou o tratamento prévio com ácido ascórbico (onde as amostras são também mergulhadas numa solução aquosa) não provocaram efeitos significativos no teor de MS.

Relativamente à cor das larvas, os parâmetros de maior interesse na sua caracterização são o L\* (luminosidade) e o b\* (espectro azul-amarelo). No que toca ao efeito do branqueamento na cor das larvas, para todas as condições testadas neste trabalho, verificou-se um aumento significativo dos valores de L\* e uma diminuição significativa dos valores de a\*. Para os valores da coordenada b\*, este efeito não foi tão

evidente e as diferenças entre as amostras foram muito reduzidas (variando entre 25,7 e 27,7). Num estudo de Azzollini et al. (2016), para amostras branqueadas e secas em forno a 70°C, os valores de L\*, a\* e b\* foram significativamente superiores aos das amostras secas na mesma condição mas sem branqueamento prévio, o que comprova o efeito deste processamento prévio na cor das larvas mesmo após secagem. A aplicação prévia de ácido ascórbico também revelou ter efeito na cor das larvas após branqueamento, com ambas as concentrações utilizadas (500ppm e 5000ppm) a resultarem num aumento significativo dos valores de L\* (apesar de as diferenças serem muito baixas, com os valores a variarem entre 42,2 e 44,5) e de a\*. No entanto, semelhante ao que ocorreu com o branqueamento, o efeito nos valores de b\* não foi tão evidente, sendo as diferenças verificadas muito reduzidas (variando entre 26,0 e 27,4).

No que diz respeito à variação da cor ao longo do tempo, os resultados obtidos neste trabalho sugerem um efeito imediato do processo de branqueamento na cor das larvas, deixando-as mais claras. No entanto, 6 horas após o branqueamento, já são notórias algumas alterações na cor das larvas, comparativamente com a sua cor inicial. Num estudo semelhante de S Mancini et al. (2019), onde a cor de larvas *T. molitor* foi monitorizada durante 6 horas, para todas as condições de branqueamento aplicadas, os valores de L\* das amostras foram diminuindo ao longo do tempo. As maiores variações de cor foram registadas em amostras branqueadas com a temperatura mais baixa (50°C), tal como foi observado no presente trabalho em amostras branqueadas a 60°C. Os autores sugerem ainda que estas variações de cor podem dever-se a reações enzimáticas, nomeadamente por ação da polifenol oxidase, e não enzimáticas onde quinonas e proteínas dão origem a melaninas, provocando escurecimento.

O branqueamento a 100°C resultou numa maior estabilização da cor ao longo do tempo, por potencial inativação de enzimas responsáveis pelo escurecimento. Já a aplicação de ácido ascórbico apenas teve um efeito vincado e constante nas amostras 60/5, atuando talvez como compensação do branqueamento a 60°C que, como anteriormente descrito, não é eficaz na prevenção do escurecimento das larvas. Para além disso, o modo de conservação das larvas também só teve um efeito evidente para amostras 60/5, sendo que uma elevada temperatura de armazenamento pode contribuir para o escurecimento das amostras.

Relativamente aos processos de secagem, na realização destes ensaios procurou-se definir as condições de secagem ótimas que garantiriam os melhores resultados em termos de teor de MS, de  $a_w$  e de cor (nomeadamente em L\* e b\*).

Na secagem em forno convencional, a condição F\_80/7 resultou num maior teor de MS ( $100,1 \pm 0,3$  %) e num maior valor de coordenada de cor  $b^*$  ( $24,1 \pm 0,5$ ), comparativamente à condição F\_60/24. Os resultados de cor obtidos contrastam com os de Purschke et al. (2018), onde as mesmas condições de tempo e temperatura foram aplicadas, tendo a secagem a  $80^\circ\text{C}$  durante 7 horas resultado num valor de  $L^*$  superior e num valor de  $b^*$  inferior à secagem a  $60^\circ\text{C}$  durante 24 horas. Para os valores de  $a_w$ , que se fixaram entre 0,3 e 0,4, não se registaram diferenças significativas entre condições nas amostras 100/5. Estes valores garantem a segurança alimentar das larvas, uma vez que se encontram abaixo do valor mínimo para o desenvolvimento microbiano (Lenaerts et al., 2018). Assim, para ensaios posteriores, optou-se por utilizar apenas a condição de secagem F\_80/7.

Na secagem com desidratador, a condição D\_52/24 levou a que fosse registado um teor de MS de  $97,2 \pm 0,0$  em amostras 100/5, não havendo, contudo, diferenças significativas para a condição D\_68/7. Para os valores de  $a_w$  existiram diferenças significativas entre condições, com a secagem D\_52/24 a resultar numa  $a_w$  bastante inferior ( $0,309 \pm 0,022$ ) em amostras 100/5. No que toca à cor, não se registaram diferenças significativas entre condições para os valores de  $L^*$ , sendo que para os valores de  $b^*$ , a condição D\_68/24 resultou num valor significativamente mais elevado. Assim, a escolha da condição ótima de secagem em desidratador, a utilizar em ensaios posteriores, recaiu sobre aquela que garantia um menor valor de  $a_w$ , ou seja, a condição D\_52/24.

Na secagem em micro-ondas, a condição M\_5 resultou num teor de MS de  $99,7 \pm 0,3$  %, não sendo registadas diferenças significativas entre M\_5 e M\_4 para este parâmetro. Para os valores de  $a_w$ , registaram-se diferenças significativas entre todas as condições, tendo a condição M\_5 apresentado o valor mais baixo ( $0,311 \pm 0,018$ ), seguida da condição M\_4 ( $0,465 \pm 0,120$ ) e M\_3 ( $0,752 \pm 0,033$ ). Com estes dados, a condição M\_3 foi imediatamente descartada por não garantir uma  $a_w$  abaixo de 0,6. Num estudo de Kröncke, Bösch, Woyzichowski, Demtröder, e Benning (2018), os valores de  $a_w$  obtidos numa secagem em micro-ondas durante 5 minutos (850 W) foram bastante mais elevados, podendo ser comparados com os valores obtidos neste presente trabalho para a condição M\_3. Relativamente à cor, não foram observadas diferenças significativas entre M\_5 e M\_4 para qualquer uma das coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ . No entanto, para ensaios posteriores, optou-se por utilizar a condição M\_4 por potencialmente poder apresentar efeitos ao nível da cor quando comparada com outros métodos de secagem, algo que a condição M\_5 não garantiria.



Quando comparados entre si, os métodos de secagem F\_80/7, D\_52/24 e M\_4 não apresentaram diferenças significativas para o teor de MS em amostras 100/5. Para os valores de  $a_w$ , em amostras 100/5, verificaram-se diferenças significativas entre M\_4 e D\_52/24, tendo esta última condição apresentado o valor mais baixo ( $0,309 \pm 0,022$ ). No entanto, para qualquer uma das três condições, os valores de  $a_w$  foram considerados ótimos por se fixarem abaixo de 0,6. No que toca à cor, observaram-se diferenças significativas para todas as coordenadas de cor, tendo a condição M\_4 resultado nos valores mais elevado de  $L^*$  e de  $b^*$ . Assim, para a fase de formulação das barras, foi decidido que seriam utilizadas larvas de *T. molitor* secas nas condições F\_80/7 e M\_4, por terem produzido resultados mais constantes, relativamente ao teor de MS, à  $a_w$  e à cor, durante todos os ensaios. Adicionalmente, é de realçar que nos ensaios realizados com secagem em desidratador (para qualquer uma das condições), foi registada uma grande variabilidade na capacidade de secagem das amostras (ex: amostras secas simultaneamente e na mesma prateleira do desidratador apresentavam valores distintos de MS e  $a_w$ ). Esta mesma variabilidade justifica algumas das diferenças encontradas para os parâmetros medidos (MS,  $a_w$ , cor) entre amostras com branqueamentos diferentes. Para as outras condições de secagem (F\_80/7 e M\_4), não se verificaram diferenças ao nível de MS,  $a_w$  e cor entre amostras 100/5 ou 100/40. Por este motivo, para posteriores utilizações, definiu-se que as condições de branqueamento a aplicar seriam 100/5, de modo a garantir uma maior segurança alimentar.

Relativamente ao efeito do ácido ascórbico na cor das amostras após secagem, este foi muito inconstante, não se verificando em todas as condições de secagem. O maior efeito foi registado para os valores de  $L^*$  das amostras F\_80/7 (aumentando de 29,7 para 37,4 com concentração de 5000ppm). No entanto, para estas mesmas amostras, a aplicação de ácido ascórbico nessa concentração não levou a qualquer efeito nos valores de  $b^*$ . Noutras condições de secagem (nomeadamente M\_4 e D\_52/24) a aplicação de ácido ascórbico não teve este efeito positivo nos valores de  $L^*$ , mas levou a um aumento residual dos valores da coordenada  $b^*$ . Devido a estas discrepâncias entre condições, e à falta de efeito na cor das amostras branqueadas a 100°C, decidiu-se não utilizar o ácido ascórbico em estudos seguintes.

Por fim, o processo de desengorduramento através do método de Soxhlet foi significativamente mais eficiente quando realizado com recurso ao etanol como solvente orgânico. De facto, o etanol levou a uma maior percentagem de lípidos removidos ( $35,7 \pm 4,0$  %) que qualquer um dos restantes solventes testados. Estes resultados foram ainda posteriormente confirmados com uma segunda extração com o éter de petróleo a

servir como “solvente padrão”. Para além disso, Ribeiro, Lima, et al. (2019) e Laroche et al. (2019) levaram a cabo estudos semelhantes em insetos *A. domesticus* e *G. sigillatus*, obtendo os mesmos resultados, com o etanol a extrair uma percentagem significativamente maior de lípidos. Esta elevada eficiência do etanol pode ser explicada pela sua polaridade, que permite a remoção de lípidos polares presentes na fração lipídica dos insetos, como os fosfolípidos, muito mais facilmente que outros solventes menos polares (Laroche et al., 2019; Ribeiro, Lima, et al., 2019). No entanto, é de realçar que, no trabalho de Laroche et al. (2019), não foram verificadas diferenças na eficiência de extração entre o etanol e outros solventes orgânicos para *T. molitor*. Esta diferença de resultados pode estar relacionada com a composição lipídica das larvas utilizadas nos estudos, visto que, no presente trabalho, as condições de criação dos insetos podem ter levado a uma maior composição em lípidos polares. Assim, no âmbito deste trabalho, o etanol foi escolhido como o solvente ideal no desengorduramento da farinha de *T. molitor* para incorporação em barras.

# Parte C – Formulação de barras com incorporação de farinha de *T. molitor*, avaliação sensorial e aceitação dos consumidores

## C1. Objetivos

A terceira e última parte do trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de uma barra com incorporação de farinha de *T. molitor* desengordurada e a avaliação da sua aceitação e perfil sensorial. Procurou-se também avaliar o potencial impacto de diferentes métodos de secagem (forno e micro-ondas) e fazer a comparação entre diferentes espécies de insetos (larvas de *T. molitor* e grilos *A. domesticus*).

## C2. Materiais e métodos

### C2.1. Formulação e elaboração das barras

Para avaliar o efeito do método de secagem e do desengorduramento das larvas de *T. molitor* no perfil sensorial e aceitação de produtos alimentares, foram elaboradas 5 formulações diferentes (Tabela 27) sendo uma delas designada como controlo, por não incorporar farinha de inseto. Foi também decidido que uma das formulações teria incorporação de farinha de grilo (*A. domesticus*), por forma a comparar os resultados com os de um estudo semelhante onde essa espécie foi utilizada. As restantes 3 formulações iriam incorporar farinha de *T. molitor* seco no forno, farinha de *T. molitor* seco em micro-ondas e farinha de *T. molitor* desengordurada.

Tabela 27. Formulações das barras com as quantidades de cada ingrediente apresentadas em g/100 g.

	Controlo	TM_F	TM_M	TM_D	AD_F
<b>Tâmaras (g)</b>	30	30	30	30	30
<b>Arandos desidratados (g)</b>	10	10	10	10	10
<b>Aveia em pó (g)</b>	25	20	20	20	20
<b>Banana desidratada (g)</b>	25	20	20	20	20
<b>Castanha do Brasil (g)</b>	9,8	4,8	4,8	4,8	4,8
<b>Sal (g)</b>	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
<b>Farinha de inseto (g)</b>	-	15	15	15	15

TM\_F: *T. molitor* seco em forno; TM\_M: *T. molitor* seco em micro-ondas; TM\_D: *T. molitor* desengordurado; AD\_F: *A. domesticus* seco em forno

As tâmaras e os arandos desidratados foram adquiridos no seu formato original, pelo que tiveram de ser cortados em pequenos pedaços, sendo a banana desidratada e as castanhas do Brasil trituradas com recurso a um robot de cozinha Kenwood® (modelo Major Titanium). Todos os ingredientes foram pesados com recurso a uma balança Kern® (modelo EW 2200-2NM).

Após pesagem, os ingredientes foram misturados no mesmo robot de cozinha mencionado e o produto obtido foi amassado e colocado numa forma própria, sendo prensado até alcançar o aspeto de barra. Cada barra foi depois cortada em quadrados de cerca de 20-25 g para posterior prova sensorial (Figura 10). Todos estes processos foram repetidos para cada uma das formulações.

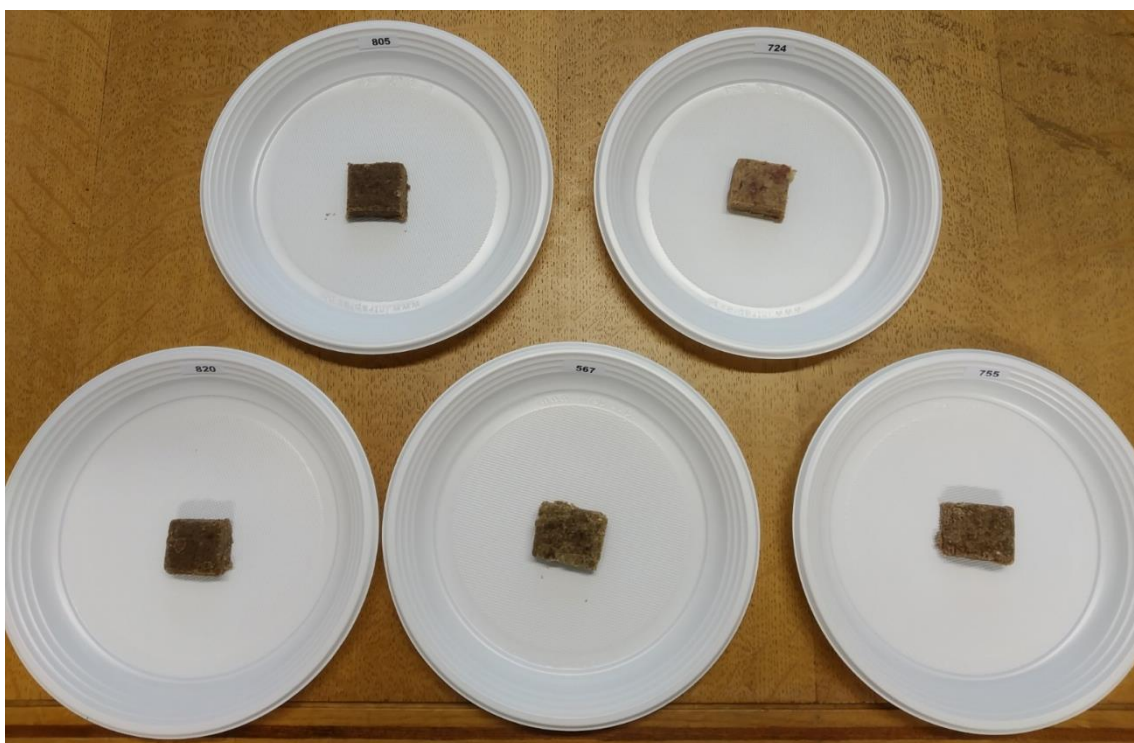


Figura 10. Exemplo das amostras apresentadas nas provas sensoriais. 805 - TM\_F; 724 - Controlo; 820 - TM\_M; 567 - AD\_F; 755 - TM\_D

## C2.2. Provas sensoriais

As provas sensoriais foram realizadas no Pólo Universitário de Vairão, Vila do Conde, sendo recrutadas 40 pessoas (painel não treinado) (Tabela 28), que foram informadas de que os produtos que iriam provar continham insetos. A cada um dos provadores foi fornecido um tablet para registo das respostas, um copo de água e duas bolachas de água e sal para limpeza do palato. Para a elaboração do questionário e registo de respostas foi utilizado o software Compusense®.

Tabela 28. Caracterização do Painel de Provadores consoante a idade, o sexo e os scores de Neofobia Alimentar e Nojo a Insetos.

<b>Caracterização do Painel</b>	
<b>Idade (Média ± d.p ; mínimo e máximo)</b>	30,4 ± 11,0; (21 – 58)
<b>Sexo (%)</b>	52,5 % M; 47,5% F
<b>Neofobia Alimentar (Média ± d.p)</b>	14,0 ± 4,7
<b>Nojo a Insetos (Média ± d.p)</b>	11,4 ± 5,8

Previamente à avaliação das amostras, foram registados dados demográficos (idade e sexo) e o nível de neofobia alimentar e nojo a insetos dos provadores. Para a avaliação da Neofobia alimentar, foi utilizada a escala de Pliner e Hobden (1992) traduzida para português (Cadete, 2010), mas avaliando apenas os 5 itens relacionados com a neofobia (“Não confio em alimentos novos”; “Se não conheço os ingredientes de uma comida, não a experimento”; “A comida étnica parece esquisita demais para provar”; “Receio comer coisas que nunca experimentei”; “Sou seletivo relativamente à comida de como”). O nojo a insetos foi avaliado recorrendo à escala desenvolvida por Cunha et al. (2015), englobando os seguintes itens: “Só de pensar em insetos fico com náuseas”; “Só de pensar em insetos fico doente”; “Comer insetos é nojento”; “Fico ofendido com a ideia de comer insetos”; “Se um inseto rastejar sobre a minha comida favorita, já não a como”. Em ambas avaliações foi utilizada uma escala de Likert de 7 pontos ancorada em extremos (1-Discordo extremamente, 7-Concordo extremamente). Para a avaliação das amostras, os provadores inicialmente avaliavam a aceitação global através de uma escala hedónica de 9 pontos, seguindo-se a avaliação do Perfil sensorial através da metodologia CATA (*Check All That Apply*). Os atributos a incluir foram baseados em trabalhos prévios de análise sensorial com produtos incorporando insetos (Cunha e Ribeiro, 2019; Ribeiro, Lima, et al., 2019) e em provas preliminares realizadas por investigadores com experiência em análise sensorial. Um total de 34 atributos foi utilizado neste trabalho (Tabela 30), divididos por dimensão sensorial (aparência, odor, textura e sabor) e apresentados aos provadores. A ordem dos atributos foi balanceada entre provadores e amostras.

As 5 amostras (Controlo, TM\_F, TM\_M, TM\_D e AD\_F) foram codificadas com códigos aleatórios de 3 dígitos e apresentadas a cada provador de forma monádica e sequencial balanceada.

### C2.3. Análise estatística

Os dados obtidos através das provas sensoriais foram tratados e analisados com recurso ao software XLSTAT® (Addinsoft) para Excel®. Relativamente aos dados da “Caracterização demográfica”, foi calculada a média de idades e proporção de sexo. Para os dados referentes à neofobia alimentar e ao nojo a insetos foi calculada a média de cada uma das escalas (pontuação máxima de 35). Quanto aos dados acerca da “Aceitação global”, foi utilizado o teste de Friedman, com um nível de confiança de 95%. No que toca aos dados referentes ao “Perfil Sensorial”, a frequência de uso de cada atributo foi determinada ao contar o número de consumidores que usaram cada atributo para descrever as amostras, sendo posteriormente aplicado um teste de Cochran, com um nível de confiança de 90%, por forma a detetar diferenças significativas entre amostras para cada um dos atributos (Parente, Manzoni, e Ares, 2011). Com a tabela de contingência obtida, procedeu-se a uma Análise de Correspondência que fornece um mapa sensorial das amostras, permitindo determinar semelhanças e diferenças relativas aos atributos que caracterizam as amostras. Para avaliar o nível de associação multidimensional entre as amostras e os atributos presentes no mapa sensorial, foi aplicado um Alinhamento Multidimensional (Meyners, Castura, e Carr, 2013). Para além disso, foi ainda realizada uma Análise de Penalidades com o intuito de avaliar o impacto de cada atributo na aceitação das barras.

## C3. Resultados

### C3.1. Aceitação global

O teste de Friedman aplicado aos dados da aceitação global não detetou quaisquer diferenças estatisticamente significativas entre as amostras (Tabela 29). No entanto, todas as amostras tiveram pontuações positivas (à volta de 6 – Gosto ligeiramente). A percentagem de respostas negativas ou neutras ( $\leq 5$ ) variou entre 27,5% (amostras AD\_Forno e Controlo) e 37,5% (amostra TM\_Forno).

Tabela 29. Valores da aceitação global (média + d.p) para cada uma das amostras.

<b>Amostra</b>	<b>Média (<math>\pm</math> d.p)</b>
<b>Controlo</b>	6,4 $\pm$ 1,7 <sup>n.s</sup>
<b>TM_Forno</b>	5,8 $\pm$ 1,9 <sup>n.s</sup>
<b>TM_Micro</b>	6,4 $\pm$ 1,8 <sup>n.s</sup>
<b>TM_Desengordurada</b>	6,1 $\pm$ 1,7 <sup>n.s</sup>
<b>AD_Forno</b>	6,1 $\pm$ 1,6 <sup>n.s</sup>

<sup>ns</sup> Valores sem diferenças significativas de acordo com o teste de Friedman (95% de confiança).

### C3.2. Perfil sensorial

Dos 34 atributos utilizados no boletim CATA, apenas 10 (29,4%) diferenciaram significativamente as amostras. Estes atributos estão relacionados com a aparência (“Acinzentada”, “Acastanhada”, “Dourada”), a textura (“Granulosa/Arenosa”, “Mole”, “Pastosa”, “Seca”) e o sabor (“Doce”, “Banana”, “Ração”). De referir que nenhum dos atributos relacionados com o odor diferenciou as amostras.

Tabela 30. Lista de atributos utilizados no boletim CATA, divididos por dimensão sensorial. A negrito estão os atributos que diferenciam significativamente as amostras, de acordo com o teste de Cochran ( $p < 0,100$ )

<b>Aparência</b>	<b>p</b>	<b>Odor</b>	<b>p</b>	<b>Textura</b>	<b>p</b>	<b>Sabor</b>	<b>p</b>
<b>Acinzentada</b>	<b>0,035</b>	Óleo de fritura	0,360	<b>Granulosa/Arenosa</b>	<b>0,000</b>	Ácido	0,981
<b>Acastanhada</b>	<b>&lt; 0,0001</b>	Banana	0,365	<b>Mole</b>	<b>&lt; 0,0001</b>	Fim de boca desagradável	0,681
<b>Dourada</b>	<b>&lt; 0,0001</b>	Mofo	0,866	Adstringente	0,267	Fim de boca muito longo	0,182
Apelativa	0,108	Armário velho	0,301	<b>Pastosa</b>	<b>0,000</b>	<b>Doce</b>	<b>0,058</b>
		Ranço	0,144	<b>Seca</b>	<b>&lt; 0,0001</b>	<b>Banana</b>	<b>0,050</b>
		Desagradável	0,287	Consistente	0,544	Térreo	0,713
		Ração	0,161			Ranço	0,107
		Palha	0,153			Agradável	0,230
		Cereal	0,307			<b>Ração</b>	<b>0,003</b>
		Amendoim	0,199			Palha	0,877
		Nozes	0,406			Tiras de milho	0,247
						Amendoim	0,615
						Nozes	0,913

Apesar de não se terem verificado diferenças estatisticamente significativas entre as amostras ao nível da aceitação global, é possível observar que as amostras têm diferentes perfis sensoriais (Figura 11 e Figura 12). A amostra controlo foi associada a uma aparência dourada e acinzentada, assim como a uma textura pastosa e mole e a um sabor doce (identificado como tendo impacto positivo significativo na aceitação global das amostras). Entre as barras com incorporação de insetos não fracionados (TM\_Forno, TM\_Micro e AD\_Forno), não se verificaram grandes diferenças ao nível do perfil sensorial. Estas amostras foram associadas com um sabor a ração (em especial a amostra TM\_Forno) e a banana (embora com associação muito menor). Para além disso, foram também associadas a uma textura granulosa/arenosa e aparência acastanhada (atributo com impacto negativo significativo na aceitação global das amostras). Por último, as amostras com incorporação de extrato desengordurado foram associadas a uma textura seca (atributo com impacto negativo significativo na aceitação global das amostras) e granulosa/arenosa, assim como a uma aparência acastanhada

(estes dois atributos com uma maior associação do que com as amostras não fracionadas). É ainda de realçar que esta barra está negativamente associada a atributos caracterizadores da barra controlo (textura pastosa, mole e sabor doce).

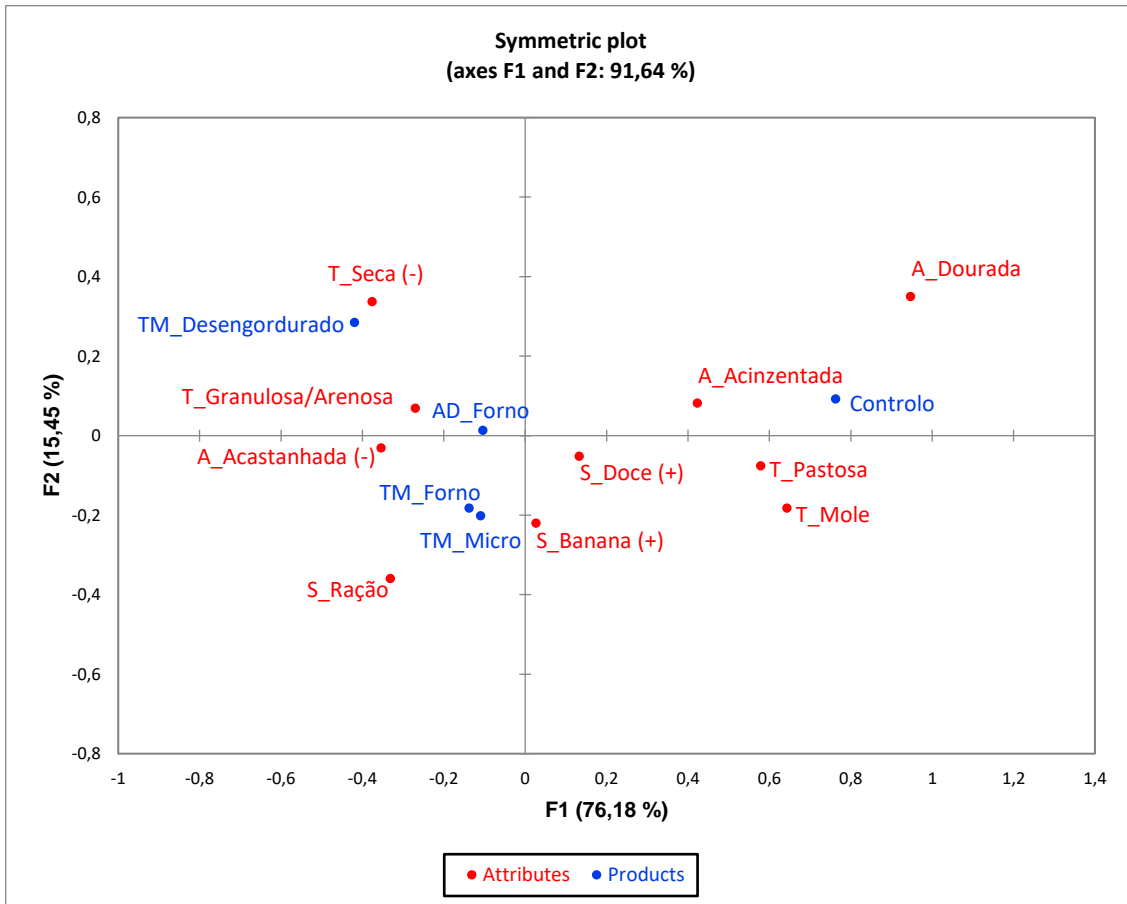


Figura 11. Análise de Correspondência às frequências CATA, contendo apenas os atributos que diferenciaram significativamente as amostras (Teste de Cochran com nível de confiança de 90%). (+): Atributos identificados por análise de penalidades que têm impacto positivo na aceitação global das amostras. (-): Atributos identificados por análise de penalidades que têm impacto negativo na aceitação global das amostras.



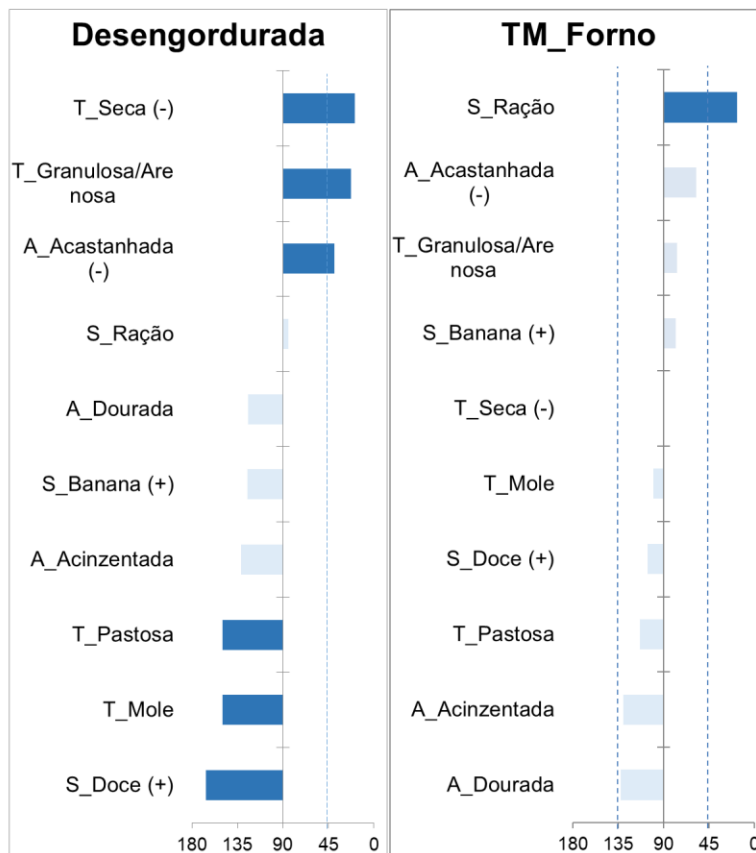
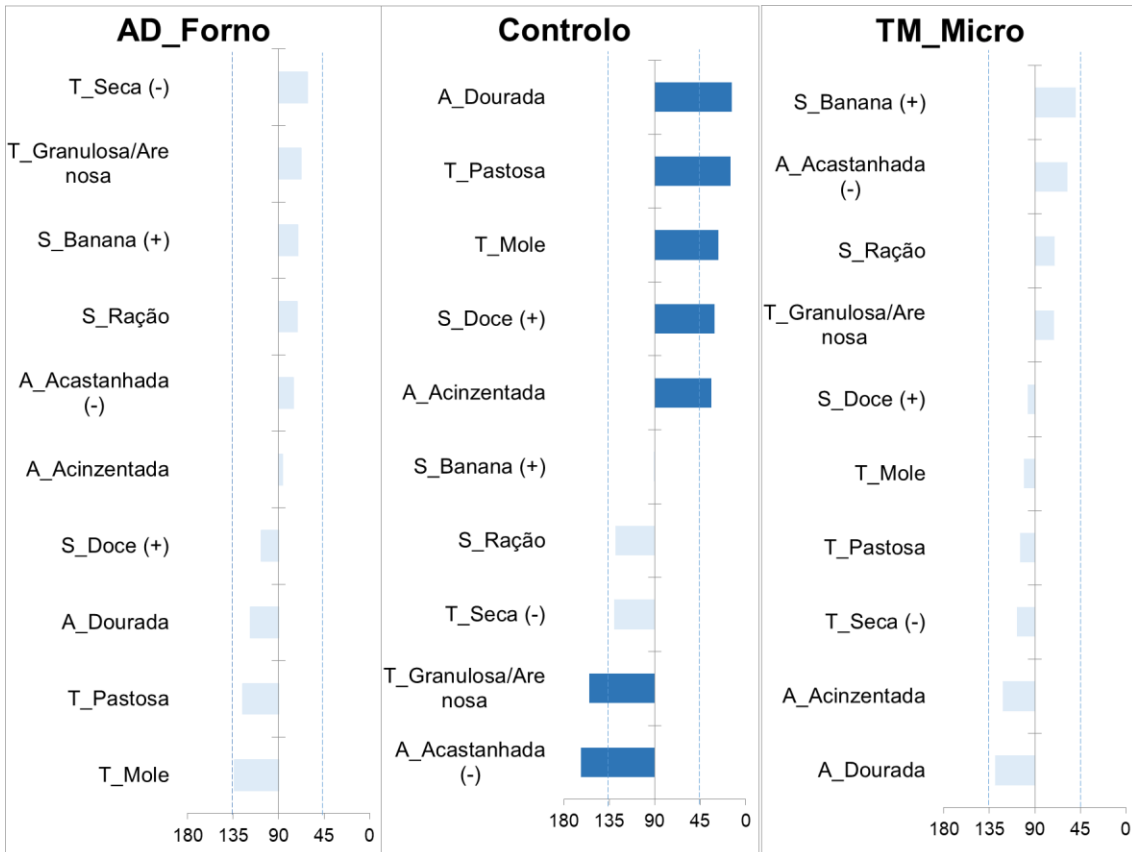


Figura 12. Resultados da Análise Multidimensional com os cossenos dos ângulos entre os produtos e os atributos que diferenciaram estatisticamente as amostras. As linhas verticais tracejadas indicam os valores de corte de  $\cos(45^\circ)$  e  $\cos(135^\circ)$ , que representam correlações positivas e negativas, respetivamente. (+): Atributos identificados por análise de penalidades que têm impacto positivo na aceitação global das amostras. (-): Atributos identificados por análise de penalidades que têm impacto negativo na aceitação global das amostras.

## C4. Discussão

Conforme descrito na Secção 3, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre as amostras relativamente à sua aceitação global.

A literatura existente reporta que, globalmente, a inclusão de insetos em produtos alimentares leva a uma diminuição da sua aceitação global (Cunha e Ribeiro, 2019), principalmente para níveis de inclusão semelhantes aos utilizados neste estudo. Este efeito foi já registado na inclusão de grilos em barras (Ribeiro, Lima, et al., 2019; Zhong, 2017) ou de *T. molitor* em produtos à base de carne (Y.-S. Choi et al., 2017; Schouteten et al., 2016; Tan, Verbaan, e Stieger, 2017). No entanto, semelhante ao observado no presente trabalho, a inclusão de grilo em bolachas (Castro Delgado et al., 2020) e batidos proteicos (Barton, Richardson, e McSweeney, 2020) não levou a uma diminuição da sua aceitação. Os trabalhos já realizados com *T. molitor* até ao momento reportam sempre uma diminuição da sua aceitação quando incorporados em concentrações semelhantes às deste trabalho.

Por outro lado, importa ressaltar que o painel recrutado neste trabalho foi bastante reduzido (40 provadores), sendo essencial aumentar o número de provadores por forma a possibilitar uma obtenção de dados com maior relevância estatística e uma análise mais consistente dos mesmos.

Relativamente ao perfil sensorial das barras, observou-se que a incorporação de insetos (tanto *T. molitor* como *A. domesticus*) foi associada a atributos sensoriais negativos, relacionados com a textura (“Seca”, “Granulosa/Arenosa”), a aparência (“Acastanhada”) e o sabor (“Ração”), sendo que a textura seca e a aparência acastanhada foram os atributos que maior impacto negativo tiveram na aceitação global das barras. Já a barra controlo foi associada a atributos positivos como aparência dourada, sabor doce e a banana e textura pastosa e mole. O sabor doce e o sabor a banana foram os atributos com maior impacto positivo na aceitação das barras. Em estudos anteriores foi já verificado que a adição de *T. molitor* ou *A. domesticus* levou à associação de atributos comuns. Num trabalho de Ribeiro, Lima, et al. (2019), verificou-se que a inclusão de *A. domesticus* e *G. sigillatus* em barras de cereais levava a que as mesmas fossem associadas a atributos negativos como textura seca, aparência acastanhada, sabor térreo e sabor residual longo e desagradável. Similarmente, Schouteten et al. (2016) observaram que hambúrgueres com incorporação de *T. molitor* eram associados a uma textura seca, granulosa e pouco mole, levando também à deteção de *off-flavors*. Adicionalmente, a inclusão de *T. molitor* em almôndegas (Tan et

al., 2017) levou a que estas tivessem uma textura seca e fibrosa e sabor residual intenso e prolongado. Apesar de neste presente trabalho, não se terem detetado as associações com os atributos de sabor previamente identificados nos outros trabalhos (“térreo”, “fim de boca desagradável”, “fim de boca muito longo” e “ranço”), houve uma associação com o sabor a ração, que faz parte dos atributos relacionados com notas de comida “velha” que caracterizam farinha de *A. domesticus* ou *T. molitor* (Brynning, Bækgaard, e Heckmann, 2020).

Por outro lado, a barra com incorporação de extrato desengordurado não foi associada com nenhum atributo positivo, aproximando-se mais das restantes barras com incorporação de inseto do que da barra controlo. De facto, a barra com extrato desengordurado apresentou forte associação a uma textura seca e granulosa/arenosa e a uma aparência acastanhada. Estes resultados contrastam com os de Ribeiro, Lima, et al. (2019), uma vez que nesse estudo, as barras com incorporação de extrato desengordurado de *A. domesticus* e *G. sigillatus* apresentaram um perfil sensorial bastante semelhante ao da barra controlo e não foram associadas aos atributos negativos relacionados com sabor (“térreo”, “fim de boca desagradável”, “fim de boca muito longo” e “ranço”) e odor (“ranço” e “mofo”). Neste trabalho, como referido anteriormente, as barras com incorporação de inseto não foram associadas a esses atributos de odor e sabor pelo que não foi possível verificar se o desengorduramento poderia ter o mesmo efeito nestes atributos que no trabalho de (Ribeiro, Lima, et al., 2019). Esta diferença de resultados poderá ser devida a diferentes metodologias de elaboração e formulação das barras, pois neste presente trabalho, as barras não sofreram qualquer processo térmico, o que pode ter impactado a associação aos atributos mais negativos de odor e sabor. A diferença na elaboração das barras e o facto de o desengorduramento ter sido em *T. molitor* e não em espécies de grilos podem justificar a maior associação aos atributos negativos de textura verificada neste trabalho.

Para além disso, não foram percecionadas diferenças nos perfis sensoriais das amostras TM\_Forno e TM\_Micro, pelo que o método de secagem das larvas não parece ter efeito no perfil sensorial do produto final. Mesmo com a secagem em micro-ondas a apresentar melhor resultados relativamente à cor do que a secagem em forno, este efeito não foi visível aquando da incorporação dos insetos nas barras.

Assim, os resultados deste trabalho sugerem que o processo de desengorduramento de farinha de *T. molitor* para incorporação em barras de cereais/snacks não se justifica de um ponto de vista sensorial. Para além disso, o

método de secagem das larvas também não revela ter efeito no perfil sensorial das barras.

## Conclusão Geral

O presente trabalho possibilitou aprofundar conhecimentos acerca da entomofagia, dos mercados de barras de cereais/proteicas e de barras com incorporação de insetos, do processamento de insetos comestíveis e da aceitação e perfil sensorial de produtos com incorporação de insetos.

A pesquisa realizada relativamente às barras de cereais/proteicas comercializadas em Portugal e às barras à base de insetos comercializadas no Ocidente permitiu conhecer não só a dimensão destes mercados, mas também as características das barras (a nível nutricional e de preço) que as diferenciam. Neste sentido, as conclusões retiradas focam-se na incapacidade de as barras à base de inseto competirem nutricionalmente com as barras proteicas desportivas, assim como no seu elevado preço, comparativamente às barras de cereais comuns.

Os ensaios de avaliação de diferentes condições de branqueamento demonstraram que todas tiveram efeito significativo no teor de matéria seca, diminuindo-o, e na cor das amostras, tanto após branqueamento como ao longo do tempo. No entanto, com a aplicação de ácido ascórbico não se observaram efeitos constantes na cor das amostras, quer após branqueamento quer após secagem. Já os métodos de secagem estudados (forno, desidratador e micro-ondas) produziram diferentes efeitos no teor de matéria seca, na atividade da água e na cor das amostras, tendo sido escolhidos os métodos de secagem em forno a 80°C durante 7 horas e em micro-ondas durante 4 minutos para tratamento das larvas destinadas à incorporação em barras.

O desengorduramento das larvas através do método de Soxhlet permitiu aferir a maior eficiência do etanol como solvente orgânico na extração lipídica.

Por fim, com as provas sensoriais realizadas, foi possível concluir que a incorporação de farinha de *T. molitor* em barras não afeta negativamente a sua aceitação global, mas sim o seu perfil sensorial, nomeadamente no que toca à aparência (acastanhada), à textura (seca e granulosa) e ao sabor (ração). Por sua vez, o desengorduramento das larvas também não resultou em qualquer melhoria do perfil sensorial das barras incorporadas com extrato desengordurado, acabando até por acentuar a associação a atributos negativos relativos à textura.

## Disseminação dos Resultados

Foi elaborado e submetido à revista CAPTar, um artigo científico focando-se nos resultados relativos aos ensaios dos processos de branqueamento e secagem e aos seus efeitos no teor de matéria seca, atividade da água e cor de larvas *T. molitor*.

## Referências bibliográficas

- Adámková, A., Adámek, M., Mlček, J., Borkovcová, M., Bednářová, M., Kouřimská, L., . . . Vítová, E. (2017). Welfare of the mealworm (*Tenebrio molitor*) breeding with regard to nutrition value and food safety. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*.
- Aleksejeva, S., Siksná, I., & Rinkule, S. (2017). Composition of Cereal Bars. *Journal of Health Science*, 5, 139-145.
- Ardoin, R., & Prinyawiwatkul, W. (2020). Product Appropriateness, Willingness to Try, and Perceived Risks of Foods Containing Insect Protein Powder: A Survey of U.S. Consumers. *International Journal of Food Science & Technology*. doi:10.1111/ijfs.14612
- Azzollini, D., Derossi, A., & Severini, C. (2016). Understanding the drying kinetic and hygroscopic behaviour of larvae of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) and the effects on their quality. *Journal of Insects as Food and Feed*, 2(4), 233-243.
- Baiano, A. (2020). Edible insects: An overview on nutritional characteristics, safety, farming, production technologies, regulatory framework, and socio-economic and ethical implications. *Trends in Food Science & Technology*.
- Barton, A., Richardson, C. D., & McSweeney, M. B. (2020). Consumer attitudes toward entomophagy before and after evaluating cricket (*Acheta domesticus*)-based protein powders. *Journal of Food Science*, 85(3), 781-788. doi:10.1111/1750-3841.15043
- Batat, W., & Peter, P. (2020). The healthy and sustainable bugs appetite: factors affecting entomophagy acceptance and adoption in Western food cultures. *Journal of Consumer Marketing*.
- Bednářová, M., Borkovcová, M., Mlček, J., Rop, O., & Zeman, L. (2013). Edible insects-species suitable for entomophagy under condition of Czech Republic. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*.
- Belluco, S., Losasso, C., Maggioletti, M., Alonzi, C., Ricci, A., & Paoletti, M. G. (2015). Edible insects: a food security solution or a food safety concern? *Animal Frontiers*, 5(2), 25-30.
- 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. doi:10.1111/1541-4337.12014
- Ben Jebli, M., & Ben Youssef, S. (2017). The role of renewable energy and agriculture in reducing CO2 emissions: Evidence for North Africa countries. *Ecological Indicators*, 74, 295-301. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.11.032>
- Bessa, L. W., Pieterse, E., Sigge, G., & Hoffman, L. C. (2017). Insects as human food; from farm to fork. *J Sci Food Agric*. doi:10.1002/jsfa.8860
- Broekman, H., Verhoeckx, K. C., den Hartog Jager, C. F., Kruizinga, A. G., Pronk-Kleinjan, M., Remington, B. C., . . . Immunology, C. (2016). Majority of shrimp-allergic patients are allergic to mealworm. *137(4)*, 1261-1263.
- Broekman, H. C., Knulst, A. C., den Hartog Jager, C. F., van Bilsen, J. H., Raymakers, F. M., Kruizinga, A. G., . . . Immunology, C. (2017). Primary respiratory and food allergy to mealworm. *140(2)*, 600-603. e607.
- Bryning, G., Bækgaard, J., & Heckmann, L.-H. (2020). Investigation of Consumer Acceptance of Foods Containing Insects and Development of Non-Snack Insect-based Foods. *Industrial Biotechnology*, 16, 26-32. doi:10.1089/ind.2019.0028
- Cadete, S. (2010). *Avaliação da neofobia alimentar num painel de consumidores*. (Tese de Mestrado em Engenharia Agronómica), University of Porto, Porto.

- Caparros Megido, R., Desmedt, S., Blecker, C., Béra, F., Haubruge, É., Alabi, T., & Francis, F. (2017). Microbiological load of edible insects found in Belgium. *Insects*, 8(1), 12.
- Capponi, L. (2015). *Consumer acceptance of edible insects : a value proposition development for the case of an entomology-based venture* Retrieved from <http://edepot.wur.nl/369562>
- Castro Delgado, M., Chambers IV, E., Carbonell-Barrachina, A., Noguera Artiaga, L., Vidal Quintanar, R., & Burgos Hernandez, A. (2020). Consumer acceptability in the USA, Mexico, and Spain of chocolate chip cookies made with partial insect powder replacement. *Journal of Food Science*, 85(6), 1621-1628. doi:10.1111/1750-3841.15175
- Choi, B. D., Wong, N. A. K., & Auh, J. H. (2017). Defatting and Sonication Enhances Protein Extraction from Edible Insects. *Korean J Food Sci Anim Resour*, 37(6), 955-961. doi:10.5851/kosfa.2017.37.6.955
- Choi, Y.-S., Kim, T.-K., Choi, H.-D., Park, J.-D., Sung, J.-M., Jeon, K.-H., . . . Kim, Y.-B. (2017). Optimization of Replacing Pork Meat with Yellow Worm (*Tenebrio molitor* L.) for Frankfurters. *Korean J Food Sci Anim Resour*, 37, 617-625. doi:10.5851/kosfa.2017.37.5.617
- Churchward-Venne, T. A., Pinckaers, P. J., van Loon, J. J., & van Loon, L. J. (2017). Consideration of insects as a source of dietary protein for human consumption. *Nutrition Reviews*, 75(12), 1035-1045.
- 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.
- Cunha, L. M., Gonçalves, A., Varela, P., Hersleth, M., Neto, E., Grabowski, N., . . . Moura, A. P. d. (2015). *Adoption of insects as a source for food and feed production: a cross-cultural study on determinants of acceptance*. Paper presented at the 11th Pangborn Sensory Science Symposium-Book of Abstracts.
- Cunha, L. M., Pinto de Moura, A., & Lima, R. (2014). *Consumers' associations with insects in the context of food consumption: comparisons from acceptors to disgusted*.
- Cunha, L. M., & Ribeiro, J. C. (2019). Sensory and Consumer Perspectives on Edible Insects *Edible Insects in the Food Sector* (pp. 57-71): Springer.
- Dicke, M., Eilenberg, J., Salles, J. F., Jensen, A., Lecocq, A., Pijlman, G., . . . van Oers, M. (2020). Edible insects unlikely to contribute to transmission of coronavirus SARS-CoV-2. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1-8.
- EFSA Scientific Committee. (2015). Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. *EFSA Journal*, 13(10), 4257.
- Evans, J., Alemu, M. H., Flore, R., Frøst, M. B., Halloran, A., Jensen, A. B., . . . Olsen, S. B. (2015). 'Entomophagy': an evolving terminology in need of review. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1(4), 293-305.
- FAO. (2009). How to Feed the World in 2050.
- FAO, IFAD, UNICEF, WFP, & WHO. (2019). *The State of Food Security and Nutrition in the World 2019. Safeguarding against economic slowdowns and downturns*. Retrieved from Rome, FAO: <http://www.fao.org/state-of-food-security-nutrition/en/>
- Fernandez-Cassi, X., Supenu, A., Jansson, A., Boqvist, S., & Vagsholm, I. (2018). Novel foods: a risk profile for the house cricket (*Acheta domesticus*). *EFSA Journal*, 16. doi:10.2903/j.efsa.2018.e16082
- Gahukar, R. (2016). Edible insects farming: efficiency and impact on family livelihood, food security, and environment compared with livestock and crops *Insects as sustainable food ingredients* (pp. 85-111): Elsevier.



- Ghosh, S., Lee, S.-M., Jung, C., & Meyer-Rochow, V. (2017). Nutritional composition of five commercial edible insects in South Korea. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 20(2), 686-694.
- Giubilini, A., Birkel, P., Douglas, T., Savulescu, J., Maslen, H. J. J. o. A., & Ethics, E. (2017). Taxing meat: taking responsibility for one's contribution to antibiotic resistance. 30(2), 179-198.
- Godfray, H. C. J., Aveyard, P., Garnett, T., Hall, J. W., Key, T. J., Lorimer, J., . . . Jebb, S. A. J. S. (2018). Meat consumption, health, and the environment. 361(6399).
- González, N., Marquès, M., Nadal, M., & Domingo, J. L. J. F. R. I. (2020). Meat consumption: which are the current global risks? A review of recent (2010-2020) evidences. 109341.
- Grau, T., Vilcinskis, A., & Joop, G. (2017). Sustainable farming of the mealworm *Tenebrio molitor* for the production of food and feed. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 72(9-10), 337-349.
- Hartmann, C., & Siegrist, M. (2017). Insects as food: perception and acceptance. Findings from current research. *Ernahrungs Umschau*, 64(3), 44-50.
- Hartmann, C., & Siegrist, M. (2018). Development and validation of the Food Disgust Scale. *Food Quality and Preference*, 63, 38-50.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2017.07.013>
- Heidari-Parsa, S. (2018). Determination of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) nutritional value as an animal and human food supplementation. *Arthropods*, 7(4), 94.
- Hill, J., McSweeney, C., Wright, A.-D. G., Bishop-Hurley, G., & Kalantar-zadeh, K. (2016). Measuring Methane Production from Ruminants. *Trends in Biotechnology*, 34(1), 26-35. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.10.004>
- House, J. (2019). Insects are not 'the new sushi': theories of practice and the acceptance of novel foods. *Social & Cultural Geography*, 20(9), 1285-1306.
- Imathiu, S. (2020). Benefits and food safety concerns associated with consumption of edible insects. *NFS Journal*, 18, 1-11.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.nfs.2019.11.002>
- IPIFF. (2019). Guide on Good Hygiene Practices for European Union (EU) producers of insects as food and feed.
- IPIFF. (2020). *The production & commercialisation of insects as a novel food in the European Union (EU)*. Paper presented at the Ad hoc meeting with industry representatives (EFSA).
- Janssen, R. H., Vincken, J.-P., van den Broek, L. A., Fogliano, V., & Lakemond, C. M. (2017). Nitrogen-to-protein conversion factors for three edible insects: *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, and *Hermetia illucens*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(11), 2275-2278.
- Jantzen da Silva Lucas, A., Menegon de Oliveira, L., da Rocha, M., & Prentice, C. (2020). Edible insects: An alternative of nutritional, functional and bioactive compounds. *Food Chem*, 311, 126022. doi:10.1016/j.foodchem.2019.126022
- Jonas-Levi, A., & Martinez, J.-J. I. (2017). The high level of protein content reported in insects for food and feed is overestimated. *Journal of Food Composition and Analysis*, 62, 184-188. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.06.004>
- Kim, T.-K., Yong, H. I., Kim, Y.-B., Kim, H.-W., & Choi, Y.-S. J. F. S. o. A. R. (2019). Edible insects as a protein source: A review of public perception, processing technology, and research trends. 39(4), 521.
- Kouřimská, L., & Adámková, A. (2016). Nutritional and sensory quality of edible insects. *NFS Journal*, 4, 22-26.
- Kröncke, N., Bösch, V., Woyzichowski, J., Demtröder, S., & Benning, R. (2018). Comparison of suitable drying processes for mealworms (*Tenebrio molitor*). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 50, 20-25.  
doi:10.1016/j.ifset.2018.10.009

- Kulma, M., Kouřimská, L., Plachý, V., Božik, M., Adámková, A., & Vrabec, V. (2019). Effect of sex on the nutritional value of house cricket, *Acheta domestica* L. *Food Chemistry*, 272, 267-272.
- Kumar, M., Vivekanand, V., & Pareek, N. (2020). Insect Chitin and Chitosan: Structure, Properties, Production, and Implementation Prospective *Natural Materials and Products from Insects: Chemistry and Applications* (pp. 51-66): Springer.
- La Barbera, F., Verneau, F., Amato, M., & Grunert, K. (2018). Understanding Westerners' disgust for the eating of insects: The role of food neophobia and implicit associations. *Food Quality and Preference*, 64, 120-125.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2017.10.002>
- Laroche, M., Perreault, V., Marciniak, A., Gravel, A., Chamberland, J., & Doyen, A. (2019). Comparison of Conventional and Sustainable Lipid Extraction Methods for the Production of Oil and Protein Isolate from Edible Insect Meal. *Foods (Basel, Switzerland)*, 8(11), 572. doi:10.3390/foods8110572
- Le Moal, M., Gascuel-Oudou, C., Ménesguen, A., Souchon, Y., Étrillard, C., Levain, A., . . . Pinay, G. (2019). Eutrophication: A new wine in an old bottle? *Science of The Total Environment*, 651, 1-11.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.139>
- Lee, J.-H., Lee, J., Whang, J., Nam, J.-S., Han, H.-K., Kim, S.-M., . . . Kim, S.-N. (2016). Changes in food composition of *Tenebrio molitor* by life stage. *Korean journal of food and cookery science*, 32(5), 656-663.
- Lenaerts, S., Van Der Borgh, 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.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.006>
- Luque de Castro, M. D., & Priego-Capote, F. (2010). Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography A*, 1217(16), 2383-2389.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.027>
- Mancini, S., Fratini, F., Tuccinardi, T., Turchi, B., Nuvoloni, R., & Paci, G. (2019). Effects of different blanching treatments on microbiological profile and quality of the mealworm (*Tenebrio molitor*). *Journal of Insects as Food and Feed*, 5(3), 225-234.
- Mancini, S., Moruzzo, R., Riccioli, F., & Paci, G. (2019). European consumers' readiness to adopt insects as food. A review. *Food Research International*, 122, 661-678.
- Melgar-Lalanne, G., Hernández-Álvarez, A.-J., & Salinas-Castro, A. (2019). Edible Insects Processing: Traditional and Innovative Technologies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(4), 1166-1191.  
doi:10.1111/1541-4337.12463
- Meyners, M., Castura, J. C., & Carr, B. T. (2013). Existing and new approaches for the analysis of CATA data. *Food Quality and Preference*, 30(2), 309-319.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2013.06.010>
- Mishyna, M., Chen, J., & Benjamin, O. (2020). Sensory attributes of edible insects and insect-based foods—Future outlooks for enhancing consumer appeal. 95, 141-148.
- Mishyna, M., Martinez, J.-J. I., Chen, J., & Benjamin, O. J. F. R. I. (2019). Extraction, characterization and functional properties of soluble proteins from edible grasshopper (*Schistocerca gregaria*) and honey bee (*Apis mellifera*). 116, 697-706.
- Mohan, K., Ganesan, A. R., Muralisankar, T., Jayakumar, R., Sathishkumar, P., Uthayakumar, V., . . . Technology. (2020). Recent insights into the extraction, characterization, and bioactivities of chitin and chitosan from insects.
- Nebbia, S., Lamberti, C., Giorgis, V., Giuffrida, M. G., Manfredi, M., Marengo, E., . . . Brussino, L. (2019). The cockroach allergen-like protein is involved in primary

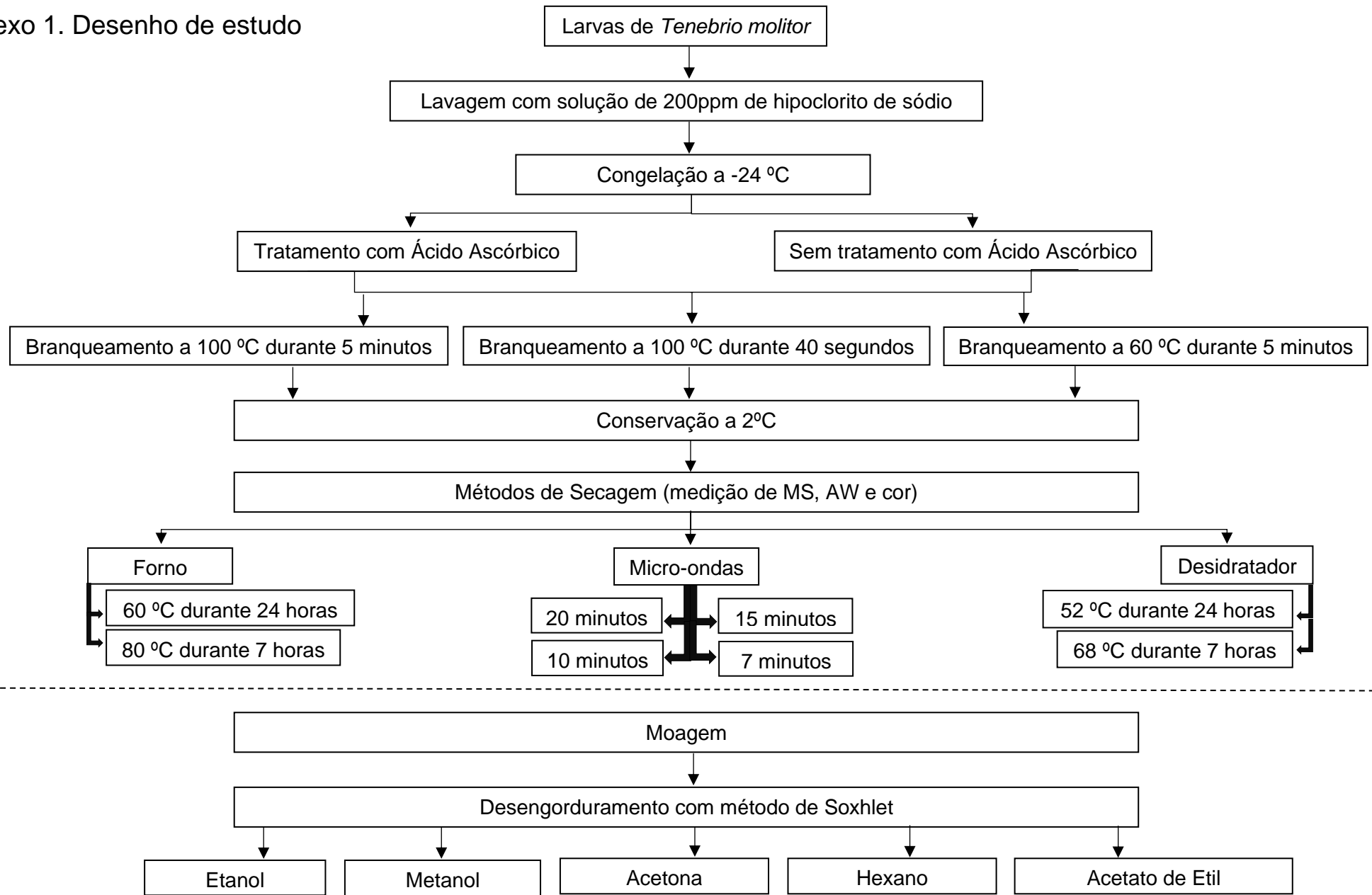
- respiratory and food allergy to yellow mealworm (*Tenebrio molitor*). *Clinical & Experimental Allergy*, 49(10), 1379-1382.
- Nielsen, A. S. (2016). Screening of alternative feed substrates for production of *Tenebrio molitor* larvae. *Aarhus University, Denmark*.
- Oibiokpa, F. I. J. F. J. o. N., & Sciences, A. (2017). Nutrient and antinutrient compositions of some edible insect species in Northern Nigeria. 6(1).
- Oonincx, D. G., Laurent, S., Veenenbos, M. E., & van Loon, J. J. (2020). Dietary enrichment of edible insects with omega 3 fatty acids. *Insect Science*, 27(3), 500-509.
- Parente, M. E., Manzoni, A. V., & Ares, G. (2011). External Preference Mapping of Commercial Antiaging Creams based on Consumers' Responses to a Check-All-That-Apply Question. *Journal of Sensory Studies*, 26(2), 158-166. doi:10.1111/j.1745-459X.2011.00332.x
- Regulamento (UE) 2015/2283 do Parlamento Europeu e do Conselho de 25 de novembro de 2015 relativo a novos alimentos (OJ L 327, 11.12.2015, (2015).
- Patel, S. (2015). Functional food relevance of whey protein: A review of recent findings and scopes ahead. *Journal of Functional Foods*, 19, 308-319.
- Patterson, E., Wall, R., Fitzgerald, G., Ross, R., & Stanton, C. (2012). Health implications of high dietary omega-6 polyunsaturated fatty acids. *Journal of nutrition and metabolism*, 2012.
- Pippinato, L., Gasco, L., Di Vita, G., & Mancuso, T. (2020). Current scenario in the European edible-insect industry: a preliminary study. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1-12.
- Pliner, P., & Hobden, K. (1992). Development of a scale to measure the trait of food neophobia in humans. *Appetite*, 19(2), 105-120. doi:[https://doi.org/10.1016/0195-6663\(92\)90014-W](https://doi.org/10.1016/0195-6663(92)90014-W)
- Pomés, A., Mueller, G. A., Randall, T. A., Chapman, M. D., Arruda, L. K. J. C. a., & reports, a. (2017). New insights into cockroach allergens. 17(4), 25.
- Purschke, B., Brüggem, H., Scheibelberger, R., & Jäger, H. (2018). Effect of pre-treatment and drying method on physico-chemical properties and dry fractionation behaviour of mealworm larvae (*Tenebrio molitor* L.). *European Food Research and Technology*, 244(2), 269-280.
- Raheem, D., Raposo, A., Oluwole, O. B., Nieuwland, M., Saraiva, A., & Carrascosa, C. (2019). Entomophagy: Nutritional, ecological, safety and legislation aspects. *Food Research International*, 126, 108672. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108672>
- Ramos-Elorduy, J. (2009). Anthro-po-entomophagy: Cultures, evolution and sustainability. *Entomological Research*, 39(5), 271-288.
- Ribeiro, J. C., Cunha, L. M., Sousa-Pinto, B., & Fonseca, J. (2019). Potential Allergenic Risks of Entomophagy *Edible Insects in the Food Sector* (pp. 87-104): Springer.
- Ribeiro, J. C., Cunha, L. M., Sousa-Pinto, B., & Fonseca, J. (2018). Allergic risks of consuming edible insects: A systematic review. *Molecular nutrition & food research*, 62(1), 1700030.
- Ribeiro, J. C., Lima, R. C., Maia, M. R. G., Almeida, A. A., Fonseca, A. J. M., Cabrita, A. R. J., & Cunha, L. M. (2019). Impact of defatting freeze-dried edible crickets (*Acheta domesticus* and *Gryllobates sigillatus*) on the nutritive value, overall liking and sensory profile of cereal bars. *LWT*, 113, 108335. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108335>
- Ritchie, H., & Roser, M. (2020). Environmental impacts of food production. *Our World in Data*.
- Rumpold, B. A., & Schlüter, O. J. A. F. (2015). Insect-based protein sources and their potential for human consumption: Nutritional composition and processing. 5(2), 20-24.

- Rumpold, B. A., & Schlüter, O. K. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular nutrition & food research*, 57(5), 802-823.
- Schouteten, J. J., De Steur, H., De Pelsmaeker, S., Lagast, S., Juvinal, J. G., De Bourdeaudhuij, I., . . . Gellynck, X. (2016). Emotional and sensory profiling of insect-, plant- and meat-based burgers under blind, expected and informed conditions. *Food Quality and Preference*, 52, 27-31. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2016.03.011>
- Sharma, C., Kaur, A., Aggarwal, P., & Singh, B. (2014). Cereal Bars - A Healthful Choice A Review. *Carpathian Journal of Food Science & Technology*, 6(2).
- Stanhope, J., Carver, S., & Weinstein, P. J. E. r. (2015). The risky business of being an entomologist: a systematic review. 140, 619-633.
- Stull, V., & Patz, J. (2020). Research and policy priorities for edible insects. *Sustainability Science*, 15(2), 633-645.
- Tan, H. S. G., Verbaan, Y. T., & Stieger, M. (2017). How will better products improve the sensory-liking and willingness to buy insect-based foods? *Food Research International*, 92, 95-105. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.12.021>
- Tang, C., Yang, D., Liao, H., Sun, H., Liu, C., Wei, L., & Li, F. (2019). Edible insects as a food source: a review. *Food Production, Processing and Nutrition*, 1(1), 8. doi:10.1186/s43014-019-0008-1
- Toti, E., Massaro, L., Kais, A., Aiello, P., Palmery, M., & Peluso, I. (2020). Entomophagy: A Narrative Review on Nutritional Value, Safety, Cultural Acceptance and A Focus on the Role of Food Neophobia in Italy. *European Journal of Investigation in Health, Psychology and Education*, 10(2), 628-643.
- Tzompa-Sosa, D. A., & Fogliano, V. (2017). Potential of insect-derived ingredients for food applications. 215-231.
- Tzompa-Sosa, D. A., Yi, L., van Valenberg, H. J., van Boekel, M. A., & Lakemond, C. M. (2014). Insect lipid profile: aqueous versus organic solvent-based extraction methods. *Food Research International*, 62, 1087-1094.
- United Nations, D. o. E. a. S. A., Population Division. (2019). World population prospects 2019: Highlights. *New York (US): United Nations Department for Economic and Social Affairs*.
- van der Fels-Klerx, H., 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. (2016). Edible insects are the future? *Proceedings of the Nutrition Society*, 75(3), 294-305. doi:10.1017/s0029665116000069
- van Huis, A., & Oonincx, D. G. (2017). The environmental sustainability of insects as food and feed. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37(5), 43.
- van Huis, A., van Itterbeeck, J., Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G., & Vantomme, P. (2013). *Edible insects: future prospects for food and feed security*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Vandeweyer, D., Lenaerts, S., Callens, A., & Van Campenhout, L. (2017). Effect of blanching followed by refrigerated storage or industrial microwave drying on the microbial load of yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*). *Food Control*, 71, 311-314. doi:10.1016/j.foodcont.2016.07.011
- Wilkinson, J. (2012). Methane production by ruminants. *UK Vet Livestock*, 17(4), 33-35.
- World Health Organization, & United Nations University. (2007). *Protein and amino acid requirements in human nutrition* (Vol. 935): World Health Organization.
- Wu, R. A., Ding, Q., Yin, L., Chi, X., Sun, N., He, R., . . . Li, Z. (2020). Comparison of the nutritional value of mysore thorn borer (*Anoplophora chinensis*) and mealworm larva (*Tenebrio molitor*): Amino acid, fatty acid, and element profiles. *Food Chemistry*, 323, 126818. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126818>

- Yi, L., Lakemond, C. M. M., Sagis, L. M. C., Eisner-Schadler, V., van Huis, A., & van Boekel, M. A. J. S. (2013). Extraction and characterisation of protein fractions from five insect species. *Food Chemistry*, 141(4), 3341-3348.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.115>
- Yohannes, H. (2016). A review on relationship between climate change and agriculture. *J Earth Sci Clim Change*.
- Yoo, J., Hwang, J.-S., Goo, T.-W., & Yun, E.-Y. (2013). Comparative analysis of nutritional and harmful components in Korean and Chinese mealworms (*Tenebrio molitor*). *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 42(2), 249-254.
- Zhong, A. (2017). *Product development considerations for a nutrient rich bar using cricket (Acheta domesticus) protein*. (Master of Science in Nutritional Science), California State University, ProQuest.
- Zielińska, E., Baraniak, B., Karaś, M., Rybczyńska, K., & Jakubczyk, A. (2015). Selected species of edible insects as a source of nutrient composition. *Food Research International*, 77, 460-466.

## Anexos

### Anexo 1. Desenho de estudo



## Anexo 2. Tabelas de $\Delta E^*$ consoante o tipo de branqueamento e a aplicação de ácido ascórbico

Tabela 31. Médias ( $\pm$  d.p) dos valores de  $\Delta E^*$  consoante a condição de branqueamento aplicada. Valores de F provenientes do teste Two-Way ANOVA.

Tempo (h)	Branqueamento	$\Delta E^*$ (Média $\pm$ d.p)	F(gl,gle); p
6	100/5	3,6 $\pm$ 2,2 <sup>b</sup>	F(2, 45) = 22,3; p $\leq$ 0,001
	100/40	6,2 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup>	
	60/5	5,9 $\pm$ 4,6 <sup>a</sup>	
24	100/5	4,1 $\pm$ 1,9 <sup>b</sup>	F(2, 45) = 186,3; p $\leq$ 0,001
	100/40	4,0 $\pm$ 2,2 <sup>b</sup>	
	60/5	12,9 $\pm$ 4,7 <sup>a</sup>	
48	100/5	4,4 $\pm$ 2,0 <sup>b</sup>	F(2, 45) = 234,6; p $\leq$ 0,001
	100/40	4,8 $\pm$ 1,7 <sup>b</sup>	
	60/5	14,1 $\pm$ 3,4 <sup>a</sup>	
72	100/5	6,0 $\pm$ 1,5 <sup>c</sup>	F(2, 45) = 130,6; p $\leq$ 0,001
	100/40	9,7 $\pm$ 3,1 <sup>b</sup>	
	60/5	16,1 $\pm$ 9,4 <sup>a</sup>	
144	100/5	7,2 $\pm$ 3,0 <sup>c</sup>	F(2, 45) = 370,6; p $\leq$ 0,001
	100/40	10,1 $\pm$ 3,4 <sup>b</sup>	
	60/5	19,6 $\pm$ 8,3 <sup>a</sup>	
240	100/5	7,1 $\pm$ 2,3 <sup>c</sup>	F(2, 45) = 496,9; p $\leq$ 0,001
	100/40	11,1 $\pm$ 2,5 <sup>b</sup>	
	60/5	20,5 $\pm$ 5,3 <sup>a</sup>	
384	100/5	11,2 $\pm$ 2,6 <sup>b</sup>	F(2, 45) = 289,6; p $\leq$ 0,001
	100/40	10,5 $\pm$ 2,9 <sup>b</sup>	
	60/5	22,7 $\pm$ 5,0 <sup>a</sup>	

<sup>a,b,c</sup> Letras diferentes representam resultados significativamente diferentes para cada um dos tempos (p  $\leq$  0,05).

Tabela 32. Médias ( $\pm$  d.p) dos valores de  $\Delta E^*$  consoante a concentração de ácido ascórbico aplicada. Valores de F provenientes do teste Two-Way ANOVA.

Tempo (h)	Ácido Ascórbico	$\Delta E^*$ (Média $\pm$ d.p)	F(gl,gle); p
6	0	7,2 $\pm$ 4,1 <sup>a</sup>	F(2, 45) = 39,0; p $\leq$ 0,001
	500ppm	4,9 $\pm$ 1,8 <sup>b</sup>	
	5000ppm	3,6 $\pm$ 2,3 <sup>c</sup>	
24	0	7,5 $\pm$ 8,3 <sup>a</sup>	F(2, 45) = 2,9; p = 0,064
	500ppm	7,2 $\pm$ 2,3 <sup>a</sup>	
	5000ppm	6,3 $\pm$ 3,4 <sup>a</sup>	
48	0	7,8 $\pm$ 7,5 <sup>a</sup>	F(2, 45) = 0,6; p = 0,537
	500ppm	8,0 $\pm$ 3,9 <sup>a</sup>	
	5000ppm	7,5 $\pm$ 3,1 <sup>a</sup>	
72	0	14,2 $\pm$ 6,9 <sup>a</sup>	F(2, 45) = 83,2; p $\leq$ 0,001
	500ppm	11,5 $\pm$ 8,1 <sup>b</sup>	
	5000ppm	6,2 $\pm$ 2,6 <sup>c</sup>	
144	0	16,6 $\pm$ 7,4 <sup>a</sup>	F(2, 45) = 253,6; p $\leq$ 0,001
	500ppm	14,0 $\pm$ 7,7 <sup>b</sup>	
	5000ppm	6,3 $\pm$ 2,1 <sup>c</sup>	
240	0	13,3 $\pm$ 7,4 <sup>b</sup>	F(2, 45) = 92,0; p $\leq$ 0,001
	500ppm	15,6 $\pm$ 7,5 <sup>a</sup>	
	5000ppm	9,7 $\pm$ 3,1 <sup>c</sup>	
384	0	15,2 $\pm$ 5,9 <sup>b</sup>	F(2, 45) = 44,3; p $\leq$ 0,001
	500ppm	17,2 $\pm$ 8,5 <sup>a</sup>	
	5000ppm	11,9 $\pm$ 4,1 <sup>c</sup>	

<sup>a,b,c</sup> Letras diferentes representam resultados significativamente diferentes para cada um dos tempos (p  $\leq$  0,05).



### Anexo 3. Tabelas com os resultados da comparação entre métodos de conservação e o seu efeito em $\Delta E^*$

Tabela 33. Médias ( $\pm$  d.p) dos valores de  $\Delta E^*$  consoante o método de conservação. Valores de F provenientes do teste Three-Way ANOVA.

Tempo (h)	Conservação	Média ( $\pm$ d.p)	F(gl, gle); p
6	Frigorífico	5,2 $\pm$ 3,2	F(1, 90) = 64,2; $p \leq 0,001$
	Temperatura Ambiente	7,2 $\pm$ 5,5	
24	Frigorífico	7,0 $\pm$ 5,3	F(1, 90) = 311,5 ; $p \leq 0,001$
	Temperatura Ambiente	12,7 $\pm$ 9,3	
48	Frigorífico	7,8 $\pm$ 5,1	F(1, 90) = 275,3 ; $p \leq 0,001$
	Temperatura Ambiente	13,1 $\pm$ 8,6	
72	Frigorífico	10,6 $\pm$ 7,1	F(1, 90) = 34,0 ; $p \leq 0,001$
	Temperatura Ambiente	12,6 $\pm$ 7,7	
144	Frigorífico	12,3 $\pm$ 7,6	F(1, 90) = 0,0 ; $p = 0,892$
	Temperatura Ambiente	12,2 $\pm$ 5,7	

Tabela 34. Valores de F para as interações Conservação x Branqueamento e Conservação x Ácido Ascórbico, provenientes do teste Three-Way ANOVA.

Tempo (h)	Interação	F(gl, gle); p
6	Conservação x Branqueamento	F(2, 90) = 1,8; $p = 0,175$
	Conservação x Ácido Ascórbico	F(2, 90) = 18,8; $p \leq 0,001$
24	Conservação x Branqueamento	F(2, 90) = 63,3; $p \leq 0,001$
	Conservação x Ácido Ascórbico	F(2, 90) = 41,0; $p \leq 0,001$
48	Conservação x Branqueamento	F(2, 90) = 18,2; $p \leq 0,001$
	Conservação x Ácido Ascórbico	F(2, 90) = 66,6; $p \leq 0,001$
72	Conservação x Branqueamento	F(2, 90) = 55,3; $p \leq 0,001$
	Conservação x Ácido Ascórbico	F(2, 90) = 2,4; $p = 0,094$
144	Conservação x Branqueamento	F(2, 90) = 9,8; $p \leq 0,001$
	Conservação x Ácido Ascórbico	F(2, 90) = 21,5; $p \leq 0,001$

## Anexo 4. Tabelas das amostras 100/40 relativas ao efeito da aplicação de ácido ascórbico na cor após secagem

Tabela 35. Médias ( $\pm$  d.p) dos valores de L\*, a\* e b\* para diferentes condições de secagem no forno, consoante as concentrações de ácido ascórbico aplicadas em amostras 100/40.

A.A	L*		a*		b*	
	F_80/7	F_60/24	F_80/7	F_60/24	F_80/7	F_60/24
s/t	28,8 $\pm$ 2,1 <sup>c</sup>	29,4 $\pm$ 3,0 <sup>a</sup>	8,5 $\pm$ 1,3 <sup>c</sup>	7,3 $\pm$ 1,6 <sup>b</sup>	23,3 $\pm$ 1,5 <sup>b</sup>	21,2 $\pm$ 1,8 <sup>b</sup>
500	31,9 $\pm$ 1,4 <sup>b</sup>	32,4 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	11,5 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	8,9 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	26,2 $\pm$ 1,8 <sup>a</sup>	25,2 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>
5000	40,0 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	31,5 $\pm$ 7,0 <sup>a</sup>	9,9 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	9,4 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	26,1 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	25,7 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>

<sup>a,b,c</sup> Médias com diferentes letras, na mesma coluna, representam resultados significativamente diferentes entre amostras com o mesmo método de secagem ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 36. Médias ( $\pm$  d.p) dos valores de L\*, a\* e b\* para diferentes condições de secagem no desidratador, consoante as concentrações de ácido ascórbico aplicadas em amostras 100/40.

A.A	L*		a*		b*	
	D_68/7	D_52/24	D_68/7	D_52/24	D_68/7	D_52/24
s/t	22,7 $\pm$ 1,4 <sup>b</sup>	29,9 $\pm$ 4,2 <sup>a</sup>	6,6 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	7,3 $\pm$ 1,3 <sup>b</sup>	18,3 $\pm$ 0,9 <sup>b</sup>	21,6 $\pm$ 2,4 <sup>b</sup>
500	31,7 $\pm$ 1,9 <sup>a</sup>	33,3 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	8,2 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	8,8 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	23,2 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	24,5 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>
5000	31,9 $\pm$ 5,4 <sup>a</sup>	34,7 $\pm$ 3,3 <sup>a</sup>	8,3 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	9,2 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	21,8 $\pm$ 1,6 <sup>a</sup>	25,7 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> Médias com diferentes letras, na mesma coluna, representam resultados significativamente diferentes entre amostras com o mesmo método de secagem ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 37. Médias ( $\pm$  d.p) dos valores de L\*, a\* e b\* para diferentes condições de secagem no micro-ondas, consoante as concentrações de ácido ascórbico aplicadas em amostras 100/40.

A.A	L*			a*			b*		
	M_5	M_4	M_3	M_5	M_4	M_3	M_5	M_4	M_3
s/t	32,9 $\pm$ 6,9 <sup>a</sup>	37,6 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	38,4 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	13,8 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	11,8 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	9,9 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	28,3 $\pm$ 4,2 <sup>a</sup>	29,0 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	26,2 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>
500	33,0 $\pm$ 1,3 <sup>a</sup>	36,8 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	38,6 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	14,9 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	13,9 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	10,5 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	31,6 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup>	30,6 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	26,4 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>
5000	32,3 $\pm$ 1,6 <sup>a</sup>	33,7 $\pm$ 2,2 <sup>b</sup>	38,6 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	14,9 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	14,1 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	10,4 $\pm$ 1,8 <sup>a</sup>	31,5 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>	30,6 $\pm$ 1,5 <sup>a</sup>	26,1 $\pm$ 2,4 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> Médias com diferentes letras, na mesma coluna, representam resultados significativamente diferentes entre amostras com o mesmo método de secagem ( $p \leq 0,05$ ).