

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

Daniela Andreia da Silva Vieira

Mestrado em Engenharia Agronómica

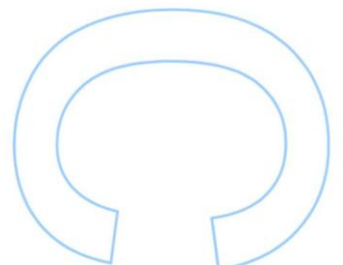
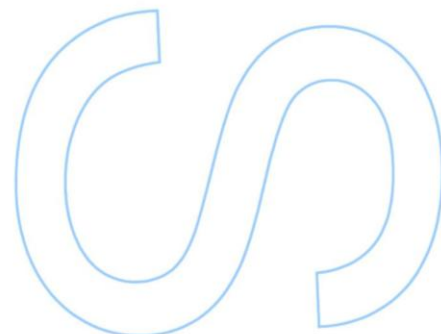
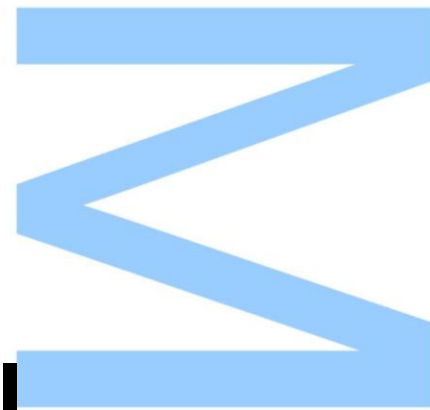
Departamento de Geociências, Ambiente e Ordenamento do Território
2015

Orientador

Ana Álvares Ribeiro Marques de Aguiar ,FCUP

Coorientador

Luís Miguel Soares Ribeiro Leite da Cunha, FCUP

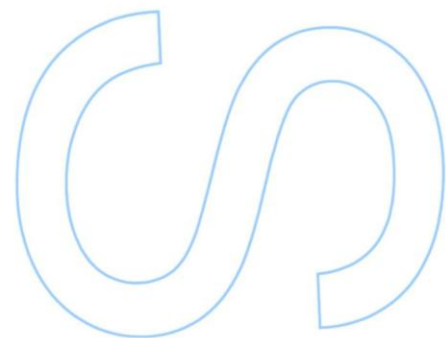
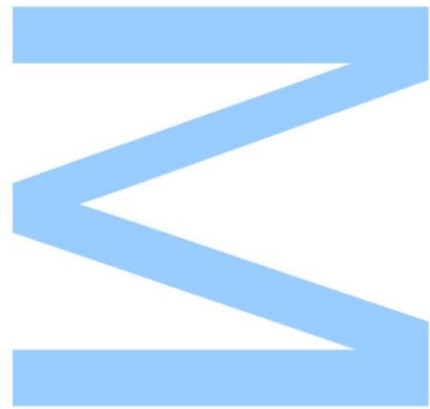




Todas as correções determinadas pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

Porto, ____ / ____ / ____



Agradecimentos

Esta dissertação não é só fruto da minha dedicação mas também de algumas pessoas que me acompanharam e me apoiaram nesta longa caminhada.

Em primeiro lugar quero agradecer o esforço dos meus pais que tornou isto tudo possível. Sem o apoio e incentivo deles nunca teria chegado aqui.

Aos meus irmãos e restantes familiares que sempre me apoiaram e ajudaram no que podiam.

À professora Ana Álvares Ribeiro Marques de Aguiar que me orientou e esteve presente de forma incansável durante este último ano.

Ao professor Luís Miguel Soares Ribeiro Leite da Cunha pela ajuda com a parte estatística.

Aos investigadores Vera Valadas, Arie van der Meijden e Trevisan pela transmissão de conhecimentos que adquiriram da criação deste inseto e que foram preponderantes para o sucesso deste estudo.

À Professora Beatriz Oliveira e à Doutora Joana Santos do laboratório de Bromatologia da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto que me orientaram e ajudaram na realização das análises bromatológicas.

Ao Nelson Silva que me apoiou no exigente trabalho de laboratório.

Às minhas companheiras de guerra Ana Catarina Moreira, Daniela Oliveira e Mónica Silva que me acompanharam durante estes longos 6 anos e que tornaram tudo isto mais divertido.

Às minhas amigas de infância Filipa Cavadas, Cátia Costa e Cátia Almeida que me apoiam desde sempre.

E por fim, ao meu namorado Nelson Feiteira, pelo seu apoio e paciência ao longo destes anos e pela sua entusiasta paixão pela agricultura que me acabou por contagiar.

A todos os mencionados e a tantos outros que ficaram por mencionar, o meu muito obrigado.

Resumo

A entomofagia é uma realidade distante da maioria dos povos europeus. Contudo, a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) tem vindo a sugerir os benefícios que podem advir da incorporação de insetos na nossa alimentação.

Para a entomofagia se tornar uma realidade é necessário produzir insetos em massa. Esta criação leva à necessidade de conhecermos bem o ciclo de vida do animal e os seus hábitos alimentares.

Uma das grandes evoluções na criação em massa de insetos foi a introdução de dietas artificiais que são confeccionadas com ingredientes mais baratos e de fácil acesso.

A *Galleria mellonella* L. é a maior praga das colmeias e faz das 1500 espécies de insetos edíveis. Foi este o inseto escolhido para a realização de ensaios para otimizar a criação e determinar a sua composição nutricional a fim da sua incorporação na alimentação humana.

Constatou-se que os aspetos mais importantes na criação de insetos são as condições climáticas, a escolha dos recipientes de criação e a dieta.

No caso da *Galleria mellonella* L., as melhores condições climáticas para criação são 27-30 °C, 60-65% humidade e constante escuridão. Os recipientes mais aptos para a criação das larvas é o vidro pois oferece maior resistência ao forte aparelho bucal que possuem.

Foram realizados dois ensaios comparativos onde se constatou que a melhor foi a dieta à base de ração de cão pois foi a dieta que originou larvas mais pesadas, melhores índices alimentares e ainda a que é elaborada com ingredientes mais baratos.

Para perceber se o perfil nutricional dos insetos é afetado pelas diferentes dietas foram realizadas análises bromatológicas a duas das dietas testadas. Nestas, constatou-se que os níveis de proteína e gordura estão abaixo dos publicados.

Palavras - Chaves: *Entomofagia, Insetos edíveis, Galleria mellonella L., Dietas artificiais, análises bromatológicas*

Abstract

Entomophagy is a distant reality for most of the European peoples. However, the Food and Agriculture Organization (FAO) has suggested the benefits that can result from the incorporation of insects in our food.

Entomophagy to become a reality it is necessary to mass produce insects. This creation makes it necessary to know well the animal's life cycle as well as their eating habits.

As entomophagy become a reality it is necessary to mass produce insects. This makes requires a good knowledge of the animal's life cycle and their eating habits.

One of the major developments in mass breeding of insects was the introduction of artificial diets that are made with cheaper ingredients and easily accessible.

The *Galleria mellonella* L. is the greatest pest of hives and is one of those 1500 edible species. This was the chosen insect to perform tests to optimize the breeding and determine nutritional composition to their incorporation in food.

It was found that the most important aspects in breeding insects are the climatic conditions, the rearing containers and the diet.

In the case of *Galleria mellonella* the best climatic conditions were 27-30 ° C, 60-65% humidity and constant darkness. The most suitable containers for larvae rearing is the glass as it offers greater resistance to strong mouth parts they have.

Two comparative trials in which it was found that the best was the diet of dog food base because it was the diet that originated heavier larvae, better eating indices and yet that is made with cheaper ingredients were performed.

To understand the nutritional profile of insects is affected by different diets chemical analyzes were carried out at two of the diets tested. Accordingly, it was found that the protein and fat levels are below those published.

Key - Words: *Entomophagy, edible insects, Galleria mellonella* L., *artificial diets, chemical analyzes*

Índice

Agradecimentos.....	1
Resumo.....	2
Abstract.....	3
Lista de figuras	6
Lista de Tabelas	8
Lista de Abreviaturas.....	9
I - Contextualização e enquadramento do tema.....	10
1.1 - Enquadramento	10
1.2- Objetivos	12
II - Revisão Bibliográfica.....	13
1- Os insetos	13
1.2- Entomofagia	15
1.2.1- Insetos Edíveis.....	15
1.2.2- Segurança alimentar e conservação dos insetos para alimentação Humana	17
1.2.2 - Legislação aplicada ao mercado dos insetos edíveis.....	19
1.3 – <i>Galleria mellonella</i> L.	20
1.3.1 – Taxonomia	21
1.3.2 – Ciclo Biológico.....	21
1.3.3- Morfologia.....	21
2- Criação de insetos em laboratório	26
2.1- Criação de <i>Galleria mellonella</i> L. em escala piloto	27
2.2- Dietas Artificiais.....	29
2.2.1 – Constituição de uma boa dieta artificial.....	30
2.2.2-Critérios para avaliar dietas artificiais para insetos.....	31
3 – Análises Bromatológicas	33
3.1- Constituição Nutricional dos Insetos	34
III - Materiais e Métodos.....	35
1.Criação de <i>Galleria mellonella</i> L. em escala piloto	35
1.1 - Obtenção de material biológico	35
1.2 – Primeiro método de criação	36
1.3 – Segundo método de criação.....	37
1.4 - Ensaio Comparativo de dietas	38

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana:
ensaios para otimização da produção e caracterização da composição
nutricional

1.4.1 – Ensaio I	38
1.4.2 – Ensaio II	41
1.5 – Determinação dos ciclos de vida.....	43
2– Realização das análises Bromatológicas.....	44
2.1- Preparação de amostras	44
2.2 - Determinação de cinzas	45
2.3.- Determinação do teor de água	46
2.4 - Determinação de gordura	47
2.5- Determinação de proteína	49
IV - Resultados e Discussão	51
1 – Criação.....	51
1.1 – Primeiro método de criação	51
1.2- Segundo método de criação.....	51
1.3 -Ensaio comparativo de dietas I	53
1.4- Ciclos de vida observados no ensaio comparativo I.....	54
1.5. – Ensaio comparativo de dietas II.....	55
1.5 - Ciclo de vida observados no ensaio II.....	61
1.6 - Previsão de custos com as dietas	62
2– Resultados das análises Bromatológicas	65
Conclusão.....	66
Bibliografia	67

Lista de figuras

Figura 1 – Percentagem da utilização dos insetos na alimentação por ordens;	16
Figura 2 -Ovos de <i>Galleria mellonella</i> L. com cerca de 1 a 2 dias à esquerda e com cerca de 5 dias à direita;	22
Figura 3 – Ovo de <i>Galleria mellonella</i> L. a cerca de 12 horas da eclosão;	22
Figura 4 -Larvas de <i>Galleria mellonella</i> L. de último instar;	23
Figura 5 - Pupas de <i>Galleria mellonella</i> L.;.....	23
Figura 6 – Observação da genitália de pupas de <i>Galleria mellonella</i> L. macho à direita e fêmea à esquerda;.....	24
Figura 7 - Adulto <i>Galleria mellonella</i> L. macho à esquerda e fêmea à direita;	24
Figura 8-Duração do ciclo de vida de <i>Galleria mellonella</i> L. para várias temperaturas de criação;	28
Figura 9 – Quadro atacado por <i>Galleria mellonella</i> L. onde foram retirados os primeiros indivíduos para início da criação em laboratório;	35
Figura 10– Câmara fitoclimática onde se iniciou a criação de <i>Galleria mellonella</i> L.;...	36
Figura 11 –Gobelé com dieta artificial à esquerda e colmeia onde se inseriram os adultos à direita;	36
Figura 12 –Hotte do laboratório 11 do pólo de Vairão com a sua janela forrada de alumínio de forma a tornar o seu interior escuro;.....	37
Figura 13 – Garrafão com adultos de <i>Galleria mellonella</i> L. onde é possível observar-se os papéis de oviposição;	37
Figura 14 – Frascos de vidro com cerca de 100g de cada uma das dietas;	39
Figura 15– Caixas de petri com 10 g de cada uma das dietas e papéis com massas de ovos;	39
Figura 16 – Interior da hotte com as caixas de petri do ensaio I;	40
Figura 17 –Frascos de vidro com cerca de 100g das diferentes dietas;	41
Figura 18 –Compartimento onde se realizou o ensaio II;.....	42
Figura 19 – Picadora onde se efetuou a trituração das larvas à esquerda e larvas trituradas num frasco de amostra à direita;	44
Figura 20 – Mufla com cadinhos no seu interior;.....	45
Figura 21- Cadinhos com cinza de cor branca;	45
Figura 22 – Balança de humidade onde foi determinado o teor de água das amostras;	46
Figura 23 – Amostra em pó após a adição de sulfato sódico anidro e areia;.....	47
Figura 24 –Cartuchas com as amostras no interior;.....	47
Figura 25 –Aparelho de extração de Soxhlet em funcionamento;	48
Figura 26 – Amostras colocadas nas resistências;	49
Figura 27 – Aspeto da amostra após destilação automática;	49
Figura 28- Mudança de cor durante a titulação;	50
Figura 29 – Criação de <i>Galleria mellonella</i> L. em caixas de petri em vidro;.....	51
Figura 30 - Comparação entre a duração do ciclo de vida obtido no ensaio com a referida noutrabalhos;	54
Figura 31 – Aspeto da repetição 4 atacada por fungos;.....	57

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana:
ensaios para otimização da produção e caracterização da composição
nutricional

Figura 32 - Box plot para o peso das larvas obtidas nas diferentes dietas;	58
Figura 33 -Box plot para o peso das pupas obtidas nas diferentes dietas;	59
Figura 34 - Ciclos de vida, em dia, obtidos nas diferentes dietas em estudo;.....	61
Figura 35 - Comparação dos tempos de ciclo de vida obtidos neste ensaio com tempos de ciclo publicados;	61

Lista de Tabelas

Tabela1 –Principais características e representantes das várias ordens da classe <i>Insecta</i> ;	14
Tabela 2– Temperatura e humidade recomendadas para a criação de <i>Galleria mellonella</i> L. segundo vários autores;	27
Tabela 3 -Temperatura e humidade recomendadas para a criação dos diferentes estádios de <i>Galleria mellonella</i> L. segundo vários autores;	27
Tabela 4 – Características dos alimentos e constituintes químicos responsáveis;	33
Tabela 5 - Registos das temperaturas mínimas e máximas assim como da humidade relativa durante o ensaio I;	53
Tabela 6 – Pesagem das larvas das caixas 4 e 4' no dia 2 de março de 2015;	54
Tabela 7 – Número de larvas e peso médio (em gramas) em cada caixa nos dias de pesagem;	56
Tabela 8– Registo da quantidade de alimento fornecido e sobranete durante o período de monitorização;	57
Tabela 9 – Tabela de ANOVA obtida no programa SPSS para os dados obtidos durante o ensaio;	58
Tabela 10 – Taxa de mortalidade nas diferentes dietas e repetições;	59
Tabela 11 – Índices calculados para as diferentes repetições;	60
Tabela 12 –Preço (por kg) dos diferentes ingredientes;	62
Tabela 13 – Preço (por kg)de cada uma das dietas;	62
Tabela 14 – Custos para produzir 1 kg de larvas de <i>Galleria mellonella</i> L. nas diferentes dietas utilizando os dados do ensaio comparativo II;	63
Tabela 15 – Comparação dos valores obtidos nas análises bromatológicas das dietas 1 e 4 comparativamente a valores publicados;	65

Lista de Abreviaturas

ANOVA – Analysis of Variance;

FAO - Food and Agriculture Organization;

HACCP - Hazard Analysis Critical Control Points;

CE -Comunidade Europeia.

I - Contextualização e enquadramento do tema

1.1 - Enquadramento

Prevê-se que em 2050 a população mundial rondará os 9 mil milhões de pessoas. Para sustentar esta população a produção de alimentos deverá ser duplicada. Contudo, a terra é escassa e a expansão da área dedicada à agricultura não será uma opção viável ou sustentável. Para enfrentar este desafio a nossa alimentação e a produção do que comemos necessitam ser reavaliados. As ineficiências precisam ser corrigidas e o desperdício de alimentos tem de ser reduzido. Temos de encontrar novas formas de cultivo de alimentos (FAO, 2013).

A necessidade de alimentar uma população mundial que se encontra em constante crescimento coloca uma pressão muito forte sobre a produção agrícola, que por sua vez contribui para a degradação dos recursos naturais. A par disto temos ainda as constantes mudanças climáticas que colocam em risco o sucesso da agricultura. Posto isto, variadas entidades mundiais têm estudado soluções para encontrar dietas sustentáveis. Estas dietas devem aliar a segurança alimentar e nutricional à ecologia. Os insetos comestíveis são uma boa alternativa neste tipo de dietas (FAO, 2009).

Para cerca de 2 mil milhões de pessoas, isto é, cerca de um terço da população mundial, os insetos fazem parte da sua dieta diária (Huis, 2013).

Diversos estudos têm mostrado que a “carne” dos insetos é composta pelas mesmas substâncias encontradas na carne dos animais vertebrados, como o boi, o porco, a galinha e o peixe (Conconi & Rodriguez, 1977).

Existem 1900 espécies de insetos cientificamente comprovados como comestíveis. Os grupos mais consumidos são os besouros, lagartas, abelhas, vespas, formigas, gafanhotos, grilos, cigarras, cochonilhas, libélulas e moscas (FAO, 2013). Entre estas, encontra-se a *Galleria mellonella* L..

Os insetos comestíveis habitam uma grande variedade de habitats, desde ecossistemas aquáticos a florestas. Até há pouco tempo, os insetos eram um recurso inesgotável obtido por colheita a partir da natureza. No entanto, algumas espécies de insetos comestíveis estão agora em perigo. Uma série de fatores antrópicos, como a sobre-colheita, poluição e degradação do habitat, têm contribuído para um declínio de insetos comestíveis em muitas populações (FAO, 2013).

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

A maioria dos insetos utilizados na alimentação são recolhidos principalmente em florestas. No entanto, a ciência pode contribuir para a inovação e intensificação das tecnologias de criação em massa. A criação de insetos oferece grandes oportunidades para aumentar a oferta sem comprometer as populações de insetos selvagens (FAO, 2015).

Na Europa não é comum o consumo de insetos, mas em alguns países como a Holanda existem diferentes linhas de pesquisa sobre insetos comestíveis e há empresas que vendem insetos para consumo humano (Cinta Quirce, 2013).

A FAO publicou, no ano de 2013, em parceria com a Universidade de Wageningen um artigo onde expôs todos os benefícios deste tipo de alimentação de forma a sensibilizar as populações para a necessidade da sua incorporação assim como todos os benefícios que as populações podem advir nomeadamente a nível económico, ambiental e nutricional.

O uso de insetos como alimento humano apresenta dois desafios tecnológicos importantes nomeadamente, como transformar insetos em alimentos seguros, saudáveis e saborosos e como produzir insetos de forma barata, eficiente e sustentável para atender à procura do mercado (Dossey, 2010).

Para uma boa produção em escala piloto é necessário conhecimento sobre métodos de criação e dietas adequadas. Os métodos de criação devem ser eficientes e as dietas nutricionalmente equilibradas.

A *Galleria mellonella* L. que é uma conhecida praga das colmeias, foi o inseto escolhido para o desenvolvimento deste trabalho. Esta escolha deveu-se à facilidade de aquisição de exemplares para o início da criação e pela sua forte relação com o mel.

Atualmente, vários centros de investigação estão a unir esforços de forma a demonstrar todas as vantagens da incorporação dos insetos na alimentação humana e animal de forma a sensibilizar a população para esta prática.

Apesar de já existirem bastantes estudos onde descrevem variados métodos de criação em laboratório da *Galleria mellonella* L., poucos são os que comparam os efeitos de variadas dietas e demonstram que a dieta influencia significativamente o perfil nutricional do animal.

1.2- Objetivos

Com este estudo pretende-se contribuir para o desenvolvimento de uma técnica de criação de *Galleria mellonella* L. em escala piloto para posterior utilização em fábrica para produção de alimentação humana, perceber qual a dieta mais eficiente, obter dados de base da criação, ciclo de vida e composição nutricional das larvas assim como determinar os custos com a dieta.

II - Revisão Bibliográfica

1– Os insetos

Os insetos são o grupo dominante de animais na Terra, ultrapassando em número todos os outros animais terrestres, podendo ser encontrados, praticamente, em todos os lugares (Gillott, 2005).

Embora muitas espécies de insetos sejam benéficas para o homem, como as abelhas, o bicho-da-seda, predadores e parasitóides de pragas agrícolas, outras tantas são prejudiciais, transmitindo doenças, além de atacarem e consumirem produtos indispensáveis à sobrevivência da humanidade (Macedo, 2000).

Os insetos são membros do vasto e diversificado reino animal que por sua vez, é organizado em grupos com base em características estruturais semelhantes (Moore, 2013).

A primeira classificação é o chamado Filo. Há dez Filos no reino animal e os membros de cada um destes apresentam características semelhantes (Moore, 2013).

O filo Arthropoda, onde se inserem os insetos, corresponde a cerca de 80% do reino Animal. Todos os seus representantes têm características semelhantes como patas articuladas, exoesqueleto, simetria bilateral, corpo segmentado, aparelho circulatório dorsal, sistema nervoso ventral e ausência de epitélio ciliado (Macedo, 2000).

Este Filo está dividido em duas classes, a classe *Acari* e a classe *Insecta*. Os insetos pertencem à classe *Insecta*. A classe *Insecta* é geralmente estudada sob um sistema de classificação com aproximadamente 30 ordens. Algumas destas ordens não são muito importantes sendo apenas estudadas sob o ponto de vista científico (Moore, 2013).

Quatro ordens de insetos tornaram-se extremamente diversificadas: *Coleoptera* (300.000 espécies), *Lepidoptera* (200.000), *Hymenoptera* (130.000), e *Diptera* (110.000). Claramente, estes devem ter características particulares que lhes permitiram explorar novos nichos (Gillott, 2005).

Na tabela 1 encontram-se identificadas as principais ordens da classe *Insecta*, as suas principais características e alguns representantes.

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

Tabela1 –Principais características e representantes das várias ordens da classe *Insecta*;

Ordem	PrincipaisCaraterísticas	Representantes
Thysanura	Insetos não-alados que se movem rapidamente e apresentam dois a três apêndices abdominais semelhantes a estiletes.	Traça de livros
Hymenoptera	Animais que podem ou não apresentar asas. Possuem cabeça, tórax e abdómen bem definidos, sendo que o abdómen é pedunculado.	Formigas, vespas, abelhas,
Syphonaptera	Insetos diminutos, achatados lateralmente, que saltam.	Pulgas
Anoplura	Ectoparasitas, com peças bucais adaptadas para sugar. Não possuem asas.	Piolhos
Dermaptera	Insetos com quatro asas, sendo que as anteriores são curtas, rígidas, sem nervuras, e as posteriores quando presentes são membranosas.	Bicha- cadela
Hemiptera	Insetos cujas asas anteriores possuem a parte basal espessada e coriácea e a apical membranosa. As asas posteriores são inteiramente membranosas e um pouco mais curtas que as anteriores.	Percevejos, cigarras
Coleoptera	É o maior grupo de insetos que existe. Possuem 4 asas, sendo o par anterior é duro, rígido e recobre o par posterior.	Besouros, escaravelhos
Diptera	Insetos que possuem apenas um par de asas membranosas.	Mosquitos e moscas
Odonata	Insetos que possuem 4 asas membranosas, alongadas, com rica nervação, abdómen longo e estreito.	Libélulas
Isoptera	Insetos que, quando apresentam asas, são membranosas, em número de quatro, de tamanho igual.	Térmitas
Blattodea	Insetos que possuem 4 asas, sendo que as anteriores são longas, enrijecidas, espessadas, ricas em nervuras e recobrem as posteriores em repouso. Possuem corpo oval com cabeça escondida.	Baratas
Orthoptera	Insetos com quatro asas, sendo que as anteriores são longas, estreitas, ricas em nervuras e espessadas e as posteriores são membranosas. Possuem as pernas posteriores saltadores, muito maiores que as anteriores.	Grilos, gafanhotos,
Lepidoptera	Possuem dois pares de asas bem grandes, muitas vezes coloridas, recoberta por escamas.	Borboletas e traças

Fonte:(USP, 2015)

1.2- Entomofagia

A entomofagia é a utilização de insetos na alimentação e é praticada por muitas espécies de animais e também por humanos. Esta prática surgiu com os primeiros hominídeos e está presente em mais de 120 países da Ásia, África, Oceânia e América Latina (Elorduy, 2000).

As populações da África, Ásia e América Latina consomem insetos regularmente. Nestes países os insetos são consumidos para colmatar a escassez de carne e peixe ou apenas por constituírem iguarias gastronómicas (FAO, 2013).

O grau de entomofagia num país varia muito e é influenciado pela história, tradição e pela sociedade. A entomofagia é importante nos países em desenvolvimento, os insetos são consumidos principalmente pelos nativos representando uma fonte económica de proteína animal (Elorduy, 2000).

Um erro comum sobre os insetos utilizados como fonte alimentar é achar que estes são unicamente consumidos em épocas de fome. Em muitos locais onde fazem parte da dieta, os insetos são consumidos pelo seu sabor e não pela escassez alimentar. Certas espécies no sudeste asiático, podem atingir preços muito elevados e são tratados como iguarias (FAO, 2015).

Os insetos também são consumidos indevidamente através da ingestão de alimentos contaminados, com fragmentos de asas, patas, antenas, ovos ou fezes de baratas, abelhas, formigas, grilos ou outros insetos (Posey, 1986).

1.2.1– Insetos Edíveis

Os insetos edíveis, ou comestíveis, são selecionados de acordo com seu tamanho, comportamento social, segurança, risco de transmitir epidemias, potencial reprodutivo e de sobrevivência, benefícios nutricionais e capacidade de armazenamento e comercialização (Schabel, 2010).

Estão identificadas cerca de 1900 espécies de insetos comestíveis no mundo. Destas, 250 espécies são consumidas em África, 549 consumidas no México, 170 na China, 164 na Tailândia e 429 na Amazónia, sendo estes os países com maior consumo de insetos (FAO, 2013).

Globalmente, os insetos mais consumidos são os escaravelhos (*Coleoptera*) (30%), lagartas (*Lepidoptera*) (18%) e as abelhas, vespas e formigas (*Hymenoptera*) (14%). Seguidamente são os gafanhotos e grilos (*Orthoptera*) (13%), cigarras,

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

cigarrinhas e cochonilhas (*Hemiptera*) (10%), térmitas (*Isoptera*) (3%), libélulas (*Odonata*) (3%), moscas (*Diptera*) (2%) e outras ordens (5%) (Figura 1).

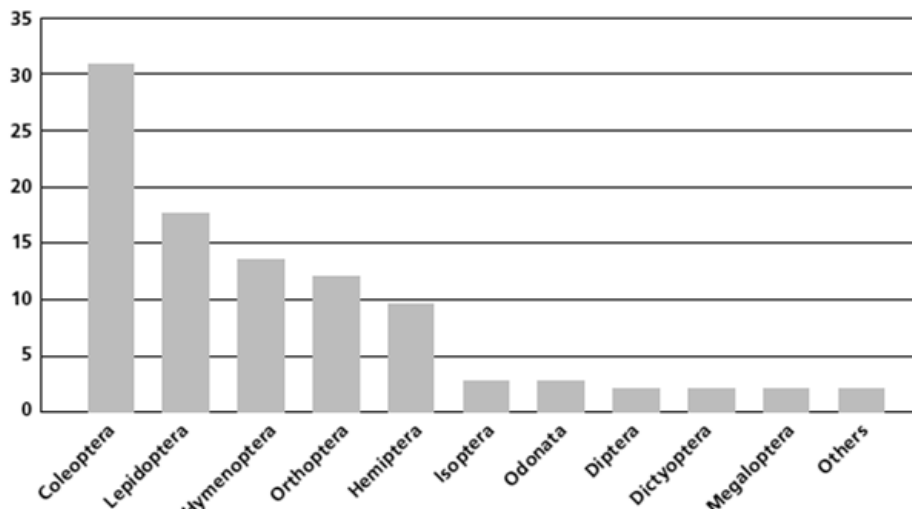


Figura 1 – Percentagem da utilização dos insetos na alimentação por ordens;
Fonte: (FAO, 2013)

Os insetos da ordem *Leptidoptera* são consumidos em larva (geralmente denominada lagarta), os da ordem *Hymenoptera* são consumidos principalmente em larva ou pupa, os da ordem *Coleoptera* são comidos tanto em larva como adulto e as restantes ordens em adulto (Cerritos, 2009).

Depois de serem colhidos na natureza ou criados em ambientes controlados, os insetos são mortos por liofilização, secagem ao sol ou fervura. Podendo ser processados e consumidos de várias formas como insetos inteiros, em forma granulada ou pasta ou como extrato de gordura (FAO, 2013).

Nos países tropicais, os insetos são frequentemente consumidos na sua totalidade, mas alguns, como gafanhotos, exigem a remoção de partes do corpo (por exemplo, asas e patas). Dependendo do prato, os insetos frescos podem ser assados, fritos ou cozidos (FAO, 2013).

Os insetos comestíveis são muitas vezes moídos, originando uma pasta ou um pó que é adicionado a outros alimentos pobres em proteínas, de modo a aumentar o seu valor nutricional. Uma maneira fácil de obter o pó é por secagem e moagem dos insetos. Nas sociedades em que os consumidores não estão familiarizados com o consumo de insetos inteiros, a forma granulada ou pastosa pode ter uma melhor aceitação (FAO, 2013).

A extração de proteínas de insetos destina-se à sua adição noutros produtos alimentares de modo a aumentar o seu teor proteico. Contudo, esta prática é

extremamente complexa, pois requer o conhecimento das propriedades das proteínas extraídas, nomeadamente, o perfil em aminoácidos, a estabilidade térmica, a solubilidade, a gelificação, a formação de espuma e a capacidade emulsionante (FAO, 2013).

A separação e extração dos grupos proteicos podem ser realizadas com base na sua solubilidade em solventes, o que produz frações insolúveis em água, que podem ser utilizados para aplicações específicas em alimentos para consumo humano ou animal. Contudo, até ao presente os custos da extração de proteína são proibitivos. É necessária mais investigação no sentido de desenvolver o processo, torná-lo rentável e aplicável para ser usado na indústria (FAO, 2013).

1.2.2- Segurança alimentar e conservação dos insetos para alimentação Humana

Os insetos, assim como outros produtos alimentares à base de carne, são ricos em nutrientes e humidade, proporcionando um ambiente favorável para a sobrevivência e crescimento microbiano (Klunder, 2012). Os métodos de transformação tradicionais, tais como a fervura, o assar e a fritura, muitas vezes são aplicados para melhorar o sabor e a palatabilidade dos insetos comestíveis tendo a vantagem de garantir a segurança do produto alimentar (FAO, 2013).

Embora não sejam conhecidos problemas de saúde que advêm do consumo de insetos comestíveis (Banjo, 2006), a confiança do consumidor está fortemente correlacionada com perceção da segurança de um determinado produto. Nesse sentido, a aplicação de pesticidas em insetos destinados ao setor alimentar levanta questões importantes, tanto para a segurança como para a globalização do mercado. É documentado que as espécies capturadas em campos, por exemplo, são mais propensas a conter pesticidas ou metais pesados do que os que têm origem em florestas densas. No entanto, as questões de segurança alimentar são importantes não só para os insetos recolhidos na natureza, mas também para os insetos de criação (FAO, 2013).

Embora uma grande variedade de métodos de conservação estejam disponível, podem ser necessárias medidas específicas para as diferentes espécies de insetos, dependendo da sua composição biológica, de modo a que a qualidade e a segurança do alimento sejam asseguradas. Para isso a adoção do sistema HACCP ao longo da cadeia de abastecimento dos insetos será um fator determinante para o sucesso e desenvolvimento do sector de insetos comestíveis pois, segundo a FAO, "qualquer sistema HACCP é capaz de acomodar a mudança, tais como avanços em

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

design de equipamento, procedimentos de processamento ou desenvolvimentos tecnológicos" (FAO/IAEA, 2001).

Outros métodos de conservação simples, tais como a acidificação dos insetos com vinagre, têm sido bem sucedidas. Outro exemplo é o uso de insetos para o enriquecimento de proteínas em produtos alimentares fermentados. Esta é uma opção viável de processamento com benefícios mútuos, uma vez que a diminuição do pH no produto fermentado de ácido láctico impede o crescimento de microrganismos potencialmente nocivos (Kuhnlein, 2009).

Na Holanda tem havido algum sucesso no processamento utilizado nos insetos que comercializam para o consumo humano. Neste caso após o jejum de um dia, que garante a limpeza do intestino, o inseto é liofilizado resultando um produto seguro com uma vida útil relativamente longa (um ano), se armazenado adequadamente num lugar fresco e seco. As vantagens adicionais da liofilização são a manutenção do valor nutricional do inseto e a capacidade do produto para reabsorver água. No entanto, os elevados custos da liofilização e a indesejável oxidação dos ácidos gordos insaturados de cadeia longa, que diminuem o valor nutricional do produto e produzem odores e gostos, constituem obstáculos a este processo (FAO, 2013).

Uma série de outros métodos de preservação contemporâneos como a aplicação de tecnologias de luz ultravioleta e alta pressão, bem como os métodos de embalagem adequados precisam ser explorados (FAO, 2013).

Em muitas partes do mundo os insetos "pronto-a-comer" são muitas vezes vendidos nos mercados locais depois de serem fritos ou assados. Sendo assim, nestes casos, a higiene na manipulação é igualmente importante para evitar o risco potencial de contaminação e de re-contaminação cruzada (FAO, 2013).

A nível doméstico, os insetos frescos devem ser preparados em condições higiénicas e deverá ser aplicado o tratamento térmico suficiente para garantir um produto alimentar microbiologicamente seguro (FAO, 2013).

Alguns insetos são comercializados e transportados vivos dentro de países ou para além das fronteiras para venda em mercados distantes. Nestes mercados os insetos vivos, após a lavagem, normalmente são transportados em caixas térmicas com gelo logo após a recolha. A refrigeração também é recomendada para insetos fritos e cozidos (FAO, 2013).

Os insetos podem ser preservados e comercializado, após secagem (Allotey, 2003). Os ambientes secos normalmente encontrados em locais onde a secagem ao sol é uma prática comum limitam o crescimento da maioria dos microrganismos. Em

áreas húmidas, no entanto, as lagartas, mesmo secas ao sol são suscetíveis à humidade, o que pode estimular o crescimento de microrganismos. Os insetos podem também ser re-contaminados durante o processo de secagem ao ar ou no solo por este motivo, práticas de higiene durante o processamento são de grande importância e o aquecimento/arrefecimento adicional são recomendados antes do seu consumo (Giaccone, 2005) .

1.2.2 - Legislação aplicada ao mercado dos insetos edíveis

A globalização e a crescente preocupação dos consumidores em relação à qualidade dos alimentos mudaram dramaticamente os padrões de consumo nas últimas décadas. As cadeias alimentares tornaram-se mais longas e complexas devido ao comércio mundial de matérias-primas e ingredientes alimentares. Como resultado, a segurança alimentar e a qualidade dos produtos alimentares comercializados têm recebido maior atenção e a regulamentação que rege a alimentação humana e animal desenvolveu-se bastante nos últimos 20 anos. Em muitas sociedades, como é o caso da Europa, os insetos não são utilizados como alimento e, como tal, raramente se encontra na legislação(FAO, 2013).

Contudo, os insetos são referenciados na legislação ao nível dos limites máximos de vestígios nos alimentos, quando inevitável. Estes exemplos podem ser encontrados nos regulamentos que regem a produção de produtos secos, tais como grãos, farinha, manteiga de amendoim, frutas, especiarias e chocolate. A ausência de legislação específica não é porque os riscos estão a ser negligenciados, mas porque as quantidades de insetos na alimentação humana e animal são, actualmente, insignificantes. Se os insetos se tornarem um ingrediente mais utilizado na alimentação humana e animal, será necessária uma avaliação de risco para a criação de um quadro regulamentar adequado(FAO, 2013).

Atualmente na União Europeia, com a ausência de regulamentação específica, os alimentos que integram insetos na sua constituição estão inseridos no Regulamento (CE) nº 258/97(IPIFF, 2014).

O Regulamento (CE) nº 258/97 prevê que os alimentos e ingredientes alimentares que não foram utilizados para consumo humano a um nível significativo na União Europeia antes de 15 de maio de 1997, são novos alimentos ou novos ingredientes alimentares. De acordo com este regulamento, todos os novos alimentos ou ingredientes alimentares devem ser avaliados e receber uma autorização Europeia antes de poderem ser colocados legalmente no mercado. Esta autorização abrange,

entre outras coisas, as condições de utilização, a designação do novo ingrediente ou novo alimento, bem como os requisitos de rotulagem específicas (IPIFF, 2014).

1.3 – *Galleria mellonella* L.

A *Galleria mellonella* L., mais conhecida por traça grande da cera, é uma das mais importantes pragas das colmeias de abelhas (Villas, 2006).

As larvas de *Galleria mellonella* L. alimentam-se de cera, pólen e mel, presente nas colmeias de abelhas (Vandenberg & Shimanuki, 1990). Devido a esse hábito alimentar, certos investigadores consideram-na uma praga, já outros o classificam como um organismo importante na reciclagem de matéria orgânica dentro das colmeias (Madeira, 2008) Nessa primeira visão são considerados nocivos às abelhas, e por isso são combatidos, pois as larvas inutilizam os favos e consomem o pólen, prejudicando assim a produção de mel (Vandenberg & Shimanuki, 1990).

A colonização das colmeias de *Apis mellifera* pela traça da cera ocorre tanto por oviposição direta, quanto por migração de lagartas de instares iniciais para outras colmeias, onde não ocorreram posturas (Nielsen & Brister, 1977).

Nos ataques, a fêmea adulta de *Galleria mellonella* L. entra na colmeia durante a noite, através da entrada ou de rachadelas nas paredes da colmeia depositando os seus ovos sobre os favos ou em fendas estreitas que ofereçam proteção contra a remoção por abelhas operárias. Em cada oviposição são colocados cerca de 50 a 150 ovos. A alimentação das larvas recém-eclodidas é baseada em mel e pólen passando gradualmente a alimentar-se dos favos. Nesta fase, as larvas em desenvolvimento são completamente seguras para as abelhas operárias. À medida que avançam nos favos, elas deixam atrás de si uma massa de teias e detritos e a destruição vai aumentando. Além de pólen e favo, as larvas de *Galleria mellonella* L. também poderão atacar a descendência das abelhas quando há escassez de alimentos(FAO, 2006).

A cera e os favos armazenados depois da extração do mel também são colonizados pelas traças. Neste caso, os danos causados são mais severos porque os favos e a cera estão desprovidos da defesa das operárias, similarmente ao que ocorre em colmeias pouco populosas, geralmente mais suscetíveis aos ataques das traças. Em colmeias com grande número de lagartas pode ocorrer o consumo de toda a cera dos favos, predominando as galerias construídas pelas traças, que destroem as células ao consumirem cera e pólen(Ahamad, 1983).

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

As lagartas de *Galleria mellonella* L. são frequentemente utilizadas como isco de pesca em várias regiões da Europa e dos Estados Unidos, além de servir como alimento vivo para várias espécies de animais insetívoros (Williams J. , 1976). Além disso, são amplamente utilizadas em estudos de fisiologia e patologia de insetos (Thompson, 1999) e também utilizadas como hospedeiro de nemátodos em estudos científicos e criação laboratorial (Valadas, Laranjo, Mota, & Oliveira, 2013).

1.3.1 – Taxonomia

A *Galleria mellonella* L. (Linnaeus 1758) é um inseto da ordem *Leptidoptera*, pertencente à família *Pyrilidae*, género *Galleria* e espécie *mellonella*(European Commission, 2000 - 2014).

1.3.2 – Ciclo Biológico

A grande traça de cera tem um ciclo de vida muito rápido, sob condições ótimas leva cerca de seis semanas para completar o ciclo (Villas, 2006).

As fêmeas de *Galleria mellonella* L. depositam os seus ovos nos favos das colmeias. (Nielsen & Brister, 1977). As larvas eclodem entre três e cinco dias depois(Villas, 2006).

A fase larval de *Galleria mellonella* L. tem sete instares e uma duração, tanto nas criações de campo quanto nas de laboratório, entre de 21 a 43 dias (Guerra, 1973), dependendo da qualidade do alimento disponível e da ocorrência de baixas temperaturas (Shimanuki, 1993).

O comportamento alimentar das larvas está associado à construção de galerias de seda, que posteriormente são recobertas por partículas fecais que aumentam com o crescimento das lagartas. Essas lagartas, quando estão no estágio de pré-pupa, escavam depressões nas paredes de madeira das colmeias e nos quadros dos favos, tecem os casulos e pupam, geralmente uma ao lado da outra (Guerra, 1973).

1.3.3– Morfologia

1.3.3.1 - Ovos

Os ovos de *Galleria mellonella* L. têm uma coloração perolada e uma textura áspera. Na maioria dos casos, as fêmeas fazem a oviposição em aglomerados de 50-150 ovos (Williams J. , 1997). Ao longo do desenvolvimento, os ovos passam da cor branca para uma cor amarelada (Figura 2). Cerca de quatro dias antes da incubação, é visível um anel escuro dentro do ovo. Doze horas antes da eclosão já é possível

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana:
ensaios para otimização da produção e caracterização da composição
nutricional

observar as larvas completamente formadas através do córion do ovo (Figura 3)
(Paddock, 1918).

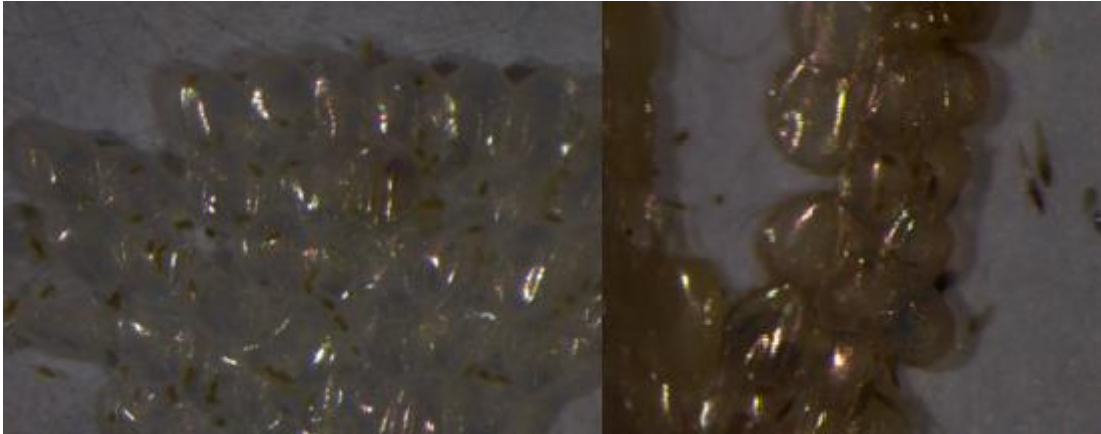


Figura 2 -Ovos de *Galleria mellonella* L. com cerca de 1 a 2 dias à esquerda e com cerca de 5 dias à direita;

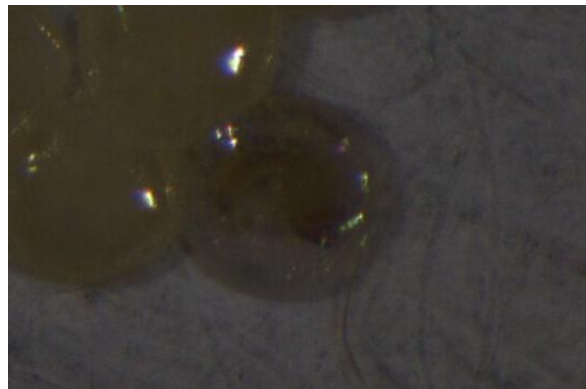


Figura 3 – Ovo de *Galleria mellonella* L. a cerca de 12 horas da eclosão;

1.3.3.2 – Larvas

Após a eclosão, as larvas têm uma cor esbranquiçada e 1 a 3 mm de comprimento. A larva recém eclodida começa a comer imediatamente e a tecer teias. A fase larval passa por 7 instares. A maior parte do crescimento e aumento de tamanho acontece durante os últimos dois instares. A larva de último instar tem aproximadamente 20 mm de comprimento e corpo de cor cinza com um escudo do protórax castanho (Figura 4)(Paddock, 1918).



Figura 4 -Larvas de *Galleria mellonella* L. de último instar;
Fonte: biobichos

1.3.3.3 - Pupas

Atingindo o último instar as larvas transformam-se em pupas. Dentro do casulo, a pupa recém-formada é branca e torna-se amarela após aproximadamente 24 horas (Figura 5).



Figura 5 - Pupas de *Galleria mellonella* L.;

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

Após 4 dias a pupa torna-se castanha clara e vai escurecendo gradualmente até ao final. As pupas de *Galleria mellonella* L. variam entre 5 mm a 7 mm de diâmetro e 12 mm a 20 mm de comprimento (Paddock, 1918). É possível sexar as pupas através da observação da genitália à lupa (Figura 6).



Figura 6 – Observação da genitália de pupas de *Galleria mellonella* L. macho à direita e fêmea à esquerda; Fonte: (Realpe-Aranda, Bustillo-Pardey, & López-Núñez, 2007)

1.3.3.4 – Adultos

Os adultos machos da *Galleria mellonella* L. são mais pequenos que as fêmeas, mais claros e têm as asas dianteiras menores enquanto as fêmeas têm maiores (Figura 7). As antenas do sexo feminino são 10-20% maiores que as do sexo masculino (Paddock, 1918).



Figura 7 - Adulto *Galleria mellonella* L. macho à esquerda e fêmea à direita; Fonte: (Apacame, 2015)

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana:
ensaios para otimização da produção e caracterização da composição
nutricional

O tamanho e cor dos adultos podem variar consideravelmente, dependendo da composição e abundância de alimento. Em média, os machos têm 21 mm de comprimento e as fêmeas 32 mm. Os adultos da traça caminham rapidamente de um lado para outro, fazendo apenas voos curtos (Apacame, 2015).

Os indivíduos adultos de *Galleria mellonella* L. não se alimentam, já que suas peças bucais são atrofiadas (Garedeu & Schmoltz, 2004).

2- Criação de insetos em laboratório

A criação de insetos em laboratório é fundamental quando se deseja obter material biológico puro e de qualidade, para se realizar estudos entomológicos básicos ou aplicados (Parra, 2001).

Para (Parra, 1998), podem ser distinguidas três categorias de criação em escala piloto:

- 1) Criação de pequena escala para pesquisas básicas ou para objetivos genéticos;
- 2) Criação comercial;
- 3) Criação massal envolvendo operações semelhantes a uma fábrica servindo de suporte a programas de controlo de pragas;

Não se pode iniciar uma criação massal sem antes ter sido efetuada uma pesquisa abrangente e a construção de um laboratório adequado com o mínimo de instalações que permitam a produção dos insetos desejados com boa qualidade e sem problemas de sanidade (Parra, 1992).

Podem destacar-se três elementos fundamentais que devem ser controlados dentro de uma criação massal: a produção, o processo e o produto. O controlo da produção garante que a criação do inseto e as operações a ela associadas estão a ser executadas, sendo o desempenho dessas operações controlado diretamente pela monitorização dos procedimentos, equipamentos e ambiente. O controlo do processo refere-se ao ajuste dos procedimentos de criação por meio da monitorização do produto inacabado comparando-o com padrões pré-estabelecidos. O controlo do produto visa assegurar que os insetos se encontrem em condições apropriadas para tratamento, manuseio e utilização (Leppla & Fisher, 1989).

2.1- Criação de *Galleria mellonella* L. em escala piloto

A temperatura, humidade relativa e alimento são os principais fatores que determinam o ciclo de vida da traça e por isso o sucesso da criação.

Existem variados estudos onde foram determinadas as condições ideais para a criação em laboratório de *Galleria mellonella* L., na tabela abaixo é possível verificar as condições climáticas ideais publicadas por diversos autores.

Tabela 2– Temperatura e humidade recomendadas para a criação de *Galleria mellonella* L. segundo vários autores;

Autor/es	Temperatura	Humidade Relativa
(Guerra, 1973)	30°C	70%
(Jafari, Goldasteh, & Afrogheh, 2010)	30 ± 2°C	50 ± 10 %
(Realpe F., 2007)	25°C	80%
(Villas, 2006)	30-35 °C	75-85 %

Como é possível verificar as temperaturas ideais rondam os 30°C e a humidade 70-75%. Todos os autores concordam que a criação deve ser conduzida com ausência total de luz.

Apesar de os autores referidos na tabela 2 apresentarem uma temperatura e humidade uniforme para todas as fases do ciclo de vida da *Galleria mellonella* L. outros apresentam temperaturas diferentes para os diferentes estádios (Tabela 3).

Tabela 3 -Temperatura e humidade recomendadas para a criação dos diferentes estádios de *Galleria mellonella* L. segundo vários autores;

Autor/es	Estádio	Temperatura (°C)	Humidade Relativa (%)
(Nomura, Chaud-Netto, & Gobbi., 2006)	Ovo	30±2	55±5
(Nomura, Chaud-Netto, & Gobbi., 2006)	Larva a adulto	25-29	65±5
(Zacarin, Gobbi, & Chaud-Netto., 2004)	Ovo	30±2	55±5
(Zacarin, Gobbi, & Chaud-Netto., 2004)	Larva a adulto	27±2	65±5

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

A duração dos estádios larvais está inversamente relacionada com a temperatura que decorre a criação. Assim, quanto mais altas forem as temperaturas de criação menor será o ciclo de vida do inseto (Cardoso, M, Furlong, & Prezoto, 2007). Na figura 8 é possível observar a duração do ciclo de vida a várias temperaturas de criação.

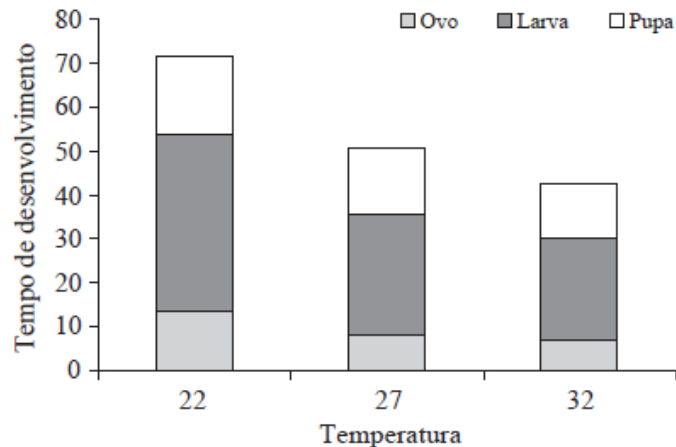


Figura 8-Duração do ciclo de vida de *Galleria mellonella* L. para várias temperaturas de criação; Fonte:(Cardoso, M, Furlong, & Prezoto, 2007)

A técnica de criação de *Galleria mellonella* L. requer o uso de recipientes de material resistente como o plástico duro ou de preferência o vidro, porque as larvas possuem um aparelho bucal muito forte e facilmente destroem o material (Villas, 2006).

O alimento deve ser colocado no fundo dos recipiente podendo a criação iniciar-se em qualquer altura do ciclo. Se a criação se iniciar com ovos estes devem ser colocados sobre o alimento, se iniciar em larvas deve-se colocar o alimento perto destas de forma a elas acederem-lhe facilmente (Villas, 2006).

Todo inseto que se desenvolve em ambiente ideal (alimento em abundância e de alta qualidade nutricional, ausência de inimigos naturais, temperatura, humidade relativa e fotoperíodo ideais) pode expressar o seu potencial fisiológico máximo, levando assim a uma alta capacidade reprodutiva. Por outro lado, em ambiente adverso, com acentuadas variações dos fatores bióticos, bem como dos abióticos, os insetos têm o seu potencial fisiológico reduzido, com diminuição da sua capacidade reprodutiva (Panizzi & Parra, 1991).

2.2– Dietas Artificiais

Um dos grandes avanços nas pesquisas entomológicas foi o desenvolvimento de técnicas de criação e manutenção de insetos de interesse económico, sob condições de laboratório. Dentre estas, destacam-se as de criação de insetos em meios (ou dietas) artificiais (Parra, 2001).

Definem-se dietas artificiais como os alimentos fornecidos pelo homem, na tentativa de substituir o alimento natural por outro mais acessível ou conveniente, sob o ponto de vista técnico ou económico. A dieta artificial corretamente formulada deve possuir propriedades físicas e conter produtos químicos para estimular e manter o desenvolvimento, apresentar nutrientes essenciais e não essenciais em proporções balanceadas para um ótimo crescimento e completo ciclo do inseto e ser livre de microrganismos contaminantes (Parra, 2001).

Os seres vivos, em geral, são reflexo daquilo que consomem, demonstrando assim a importância dos alimentos para os organismos. No caso dos insetos, muitos aspetos da sua biologia, incluindo o comportamento, a fisiologia e a ecologia, estão de uma ou outra maneira inseridos dentro de um determinado contexto alimentar. Além da quantidade, a qualidade e a proporção de nutrientes presentes no alimento e a presença de compostos aleloquímicos causam impacto variável na biologia dos insetos, determinando a sua capacidade de contribuição reprodutiva para a geração seguinte (Panizzi & Parra, 1991).

Posto isto, pode dizer-se que a nutrição dos insetos estuda os requisitos nutricionais qualitativos e quantitativos. A nutrição qualitativa envolve exigências nutricionais sob o ponto de vista químico, enquanto a nutrição quantitativa considera importantes não somente as exigências básicas, mas a proporção do alimento ingerido, digerido, assimilado e convertido em tecidos de crescimento (Panizzi & Parra, 1991).

A alimentação de um inseto não é somente a ingestão de um substrato alimentar. O material deve ser digerido e convertido em energia e em substâncias necessárias ao desenvolvimento e funções biológicas. A digestibilidade da dieta é um fator importante que determina a sua utilização (Beck, 1972).

2.2.1 – Constituição de uma boa dieta artificial

Uma boa dieta deve conter os diferentes grupos de nutrientes exigidos pelo inseto. Assim, um meio artificial para desenvolvimento de insetos deve conter aminoácidos e proteínas, hidratos de carbono, lípidos e água (Panizzi & Parra, 1991).

Os aminoácidos e as proteínas são utilizados principalmente para a construção de proteínas estruturais e enzimas. Geralmente são necessários para os insetos os 10 aminoácidos essenciais. As fontes mais comuns de proteínas usadas na formulação das dietas artificiais são o gérmen de trigo e as leveduras (Bortoli & Viana, 2000).

Os hidratos de carbono são utilizados como fonte de energia, têm também função estrutural (síntese de quitina). Os açúcares são os hidratos de carbono mais utilizados (Bortoli & Viana, 2000).

Os lípidos são a principal fonte de energia armazenada pelo inseto, sendo também muito importantes na impermeabilização da cutícula. As principais fontes de lípidos para as dietas artificiais são os ácidos gordos (Bortoli & Viana, 2000).

A água é muito importante, uma vez que é o solvente da maioria dos compostos. A média de humidade relativa exigida para os insetos terrestres é de 70% de humidade atmosférica, sendo que algumas espécies vivem com apenas 1 a 2% de humidade no alimento. Os insetos podem obter água de três maneiras no alimento, no ambiente e por meio da produção de água metabólica. De modo geral quanto maior o teor de água no alimento maior a sua eficiência de conversão (Bortoli & Viana, 2000).

Uma dieta artificial deve ser balanceada tendo todos os componentes em dose certa (Singh, 1983)

2.2.2-Critérios para avaliar dietas artificiais para insetos

Os critérios utilizados para avaliar a dieta podem ser: morfológicos, biométricos e nutricionais. Estes, têm como princípio básico mostrar se a dieta está adequada ao desenvolvimento do inseto, caso contrário, o mesmo apresentará irregularidades no seu ciclo biológico (Parra J. , 2009).

Os critérios morfológicos avaliam-se através da observação do aparecimento de anomalias morfológicas nas diferentes fases do inseto. Estas deformações podem estar associadas às condições inadequadas da dieta (Rodrigues Filho, 1985).

As avaliações dos critérios biométricos baseiam-se na observação e cálculos de alguns índices durante as fases de ovo, larva, pupa e adulto (Bortoli & Viana, 2000).

Na fase de ovo avalia-se o período embrionário e a viabilidade de eclosão. Para a fase larvar observa-se o número de instares, a duração de cada instar, período larvar, viabilidade ou mortalidade das larvas, em função do número de insetos que foram colocados na dieta e o que chegou à fase de pupa. No caso da fase de pupa, pode-se também determinar período, peso, deformações e viabilidade. A fase adulta permite determinar a fecundidade, fertilidade, aspetos dos órgãos reprodutivos, longevidade de adultos e a razão sexual (Bortoli & Viana, 2000).

Os critérios nutricionais baseiam-se nos índices de consumo e utilização do alimento pelos insetos. Os índices utilizados na avaliação da dieta com base na nutrição dos insetos são (Parra J. , 2009):

1. Taxa de Consumo Relativo (TCR):

$$RCR = \frac{I}{P \times T}$$

2. Taxa Metabólica Relativa (TMR):

$$TMR = \frac{M}{P \times T}$$

3. Taxa de Crescimento Relativo (TCrR)

$$TCrR = \frac{B}{P \times T}$$

4. Eficiência de Conversão do Alimento Ingerido (ECI):

$$ECI = \frac{B}{I}$$

5. Eficiência de Conversão do Alimento Digerido (ECD):

$$ECD = \frac{B}{I - F}$$

6. Digestibilidade Aproximada (AD ou DA):

$$AD = \frac{I - F}{I} \times 100$$

7. Custo metabólico:

$$100 - ECD$$

As variáveis das fórmulas anteriores apresentam o seguinte significado:

T = tempo de duração do período de alimentação em dias;

I = alimento consumido durante T em mg;

B = alimento utilizado durante T ($B = (I - F) - M$) em mg ;

F = alimento não digerido + produtos de excreção em mg;

M = $(I - F) - B$ alimento metabolizado durante T (parte do alimento assimilado, que foi utilizado na forma de energia para o metabolismo) em mg;

I - F = alimento assimilado durante T (representa a parcela de I que foi utilizada pelo inseto para conversão de biomassa e para o metabolismo) em mg;

P = peso médio das larvas durante T em mg.

A interpretação dos resultados dos índices nutricionais baseia-se nos maiores valores alcançados. Assim, a dieta que proporcionar estes valores tem melhor adequação nutricional em relação às demais avaliadas para a nutrição do inseto (Panizzi & Parra, 1991)

3 – Análises Bromatológicas

As análises bromatológicas têm como principal objetivo a obtenção da composição química dos alimentos, ou seja, a determinação das frações nutritivas de um alimento (Miranda & Soares, 2000).

O conjunto de propriedades apresentadas por um alimento relaciona-se diretamente com a qualidade e quantidade dos constituintes químicos presentes no mesmo. Nos alimentos de um modo geral, os constituintes químicos podem ser agrupados em duas categorias (Maciel, 2000):

Constituintes básicos ou nutritivos:

- Água;
- Hidratos de Carbono;
- Gorduras;
- Proteínas;
- Minerais;
- Vitaminas.

Constituintes secundários:

- Enzimas;
- Ácidos orgânicos;
- Compostos voláteis;
- Pigmentos;
- Pectinas;
- Substâncias aromáticas.

Essas substâncias são responsáveis pelas características nutritivas e/ou sensoriais dos alimentos, atuando de modo diverso, como pode ser visualizado na tabela abaixo (Maciel, 2000).

Tabela 4 – Características dos alimentos e constituintes químicos responsáveis;

Caraterísticas dos alimentos	Constituintes químicos responsáveis
Valor nutritivo	Proteínas, minerais, açúcares, vitaminas, etc.
Cor	Enzimas, pigmentos, etc.
Sabor	Ácidos orgânicos, açúcares, etc.
Odor	Óleos essenciais, compostos voláteis, etc.
Textura	Pectinas, gomas, proteínas, etc.

Fonte: (Maciel, 2000)

3.1- Constituição Nutricional dos Insetos

Os insetos constituem um recurso alimentar natural renovável e são consumidos como suplemento alimentar ou como constituinte principal da dieta de diferentes povos em muitas regiões do mundo. Diversos estudos têm mostrado que a “carne” dos insetos é composta das mesmas substâncias encontradas na carne dos animais vertebrados, como o boi, o porco, a galinha e o peixe (Defoliart, 1988).

Uma das principais diferenças está no valor quantitativo: um inseto, como a formiga da espécie *Attacephalotes* L., por exemplo, possui 42,59% de proteínas contra 23% no frango e 20% na carne bovina (Conconi & Rodriguez, 1977).

Quanto à quantidade de gordura e energia, os insetos são altamente nutritivos, com valores comparáveis à carne de porco (Cinta Quirce, 2013).

São também fonte de fibras, devido ao exoesqueleto composto por quitina, com valores idênticos aos cereais (9,5 g / 100 g), enquanto a carne tradicional não tem fibra (Cinta Quirce, 2013).

Os insetos comestíveis são também uma boa fonte de ferro e a sua inclusão na dieta diária pode melhorar os níveis deste micronutriente ajudando a prevenir a anemia em países em desenvolvimento (FAO, 2013).

Todas estas propriedades nutricionais variam muito entre ordens, estando provavelmente relacionada com a dieta desses insetos na natureza (Cinta Quirce, 2013).

III - Materiais e Métodos

1. Criação de *Galleria mellonella* L. em escala piloto

1.1 - Obtenção de material biológico

A criação da *Galleria mellonella* L. ocorreu entre agosto de 2014 e julho de 2015 no laboratório 11 do pólo de Vairão.

Os indivíduos iniciais foram fornecidos por um apicultor da zona de Gondomar. Este apicultor forneceu-nos alguns quadros atacados pela *Galleria mellonella* L. (Figura 9) que foram minuciosamente inspecionados a fim de se retirar insetos para o início da criação.



Figura 9 – Quadro atacado por *Galleria mellonella* L. onde foram retirados os primeiros indivíduos para início da criação em laboratório;

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

1.2 – Primeiro método de criação

Iniciou-se a criação numa câmara fitoclimática do modelo Fitoclima S600 da marca Aralab (Figura 10) a uma temperatura de 27°C, 60% de humidade relativa e em constante escuridão. Os adultos foram colocados dentro de colmeias, de forma a aproximar esta criação o mais possível da natureza, e as larvas colocadas em gobelés com uma dieta artificial.



Figura10– Câmara fitoclimática onde se iniciou a criação de *Galleria mellonella* L.;

A dieta artificial, adaptada de (Marston, Campbel, & Boldt, 1975), consistiu numa mistura de 260g de farelo, 65g de açúcar e mel, 162g de farinha de trigo, 162g de farinha de milho, 193g de glicerina e 158g de água. Quando se observavam pupas estas eram transferidas para o interior das colmeias de forma a lá emergirem (Figura 11).

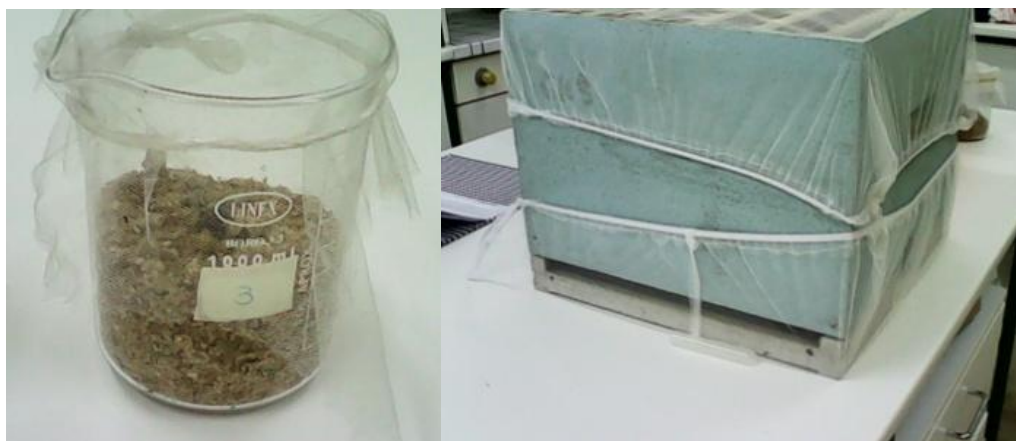


Figura 11 –Gobelé com dieta artificial à esquerda e colmeia onde se inseriram os adultos à direita;

1.3 – Segundo método de criação

Este método foi indicado pela investigadora Vera Valadas e consistiu na criação deste inseto num lugar escuro e aquecido através de aquecedores de forma a manter a temperatura entre os 27°C e os 30°C.

O local escolhido para a criação foi a hotte do laboratório. A janela desta foi forrada a alumínio de forma a tornar o seu interior escuro (Figura 12) e foi colocado um aquecedor e um recipiente com água de forma a regular a humidade. O controlo climático foi realizado com um termómetro e um higrómetro colocados no interior da hotte.



Figura 12 – Hotte do laboratório 11 do pólo de Vairão com a sua janela forrada de alumínio de forma a tornar o seu interior escuro;

Os adultos que sobreviveram foram colocados em garrafões de plástico cobertos com tule e com um papel de forma a servir de local de oviposição (Figura 13). A dieta também foi alterada para pólen granulado e cera.



Figura 13 – Garrafão com adultos de *Galleria mellonella* L. onde é possível observar-se os papéis de oviposição;

1.4 - Ensaio Comparativo de dietas

A dieta de pólen e cera é baseada na dieta natural deste inseto no entanto, esta é bastante dispendiosa pois o pólen granulado sendo um produto vendido para complemento de dietas especiais é caro (uma embalagem de 250g custa entre 6 e 8 euros). A fim de se encontrar uma dieta barata e ao mesmo tempo nutricionalmente completa, realizaram-se dois ensaios onde foram testadas dietas obtidas na bibliografia ou aconselhadas por investigadores experientes na criação de *Galleria mellonella* L..

1.4.1 – Ensaio I

Após alguma pesquisa e contactos encontraram-se quatro possíveis dietas com ingredientes alternativos ao pólen. Resolveu-se assim, efetuar um ensaio comparativo destas dietas.

As dietas utilizadas neste ensaio foram as seguintes:

Dieta 1 (Aconselhada pela Doutora Vera Valadas da Universidade de Évora) – Pólen e Cera;

Dieta 2 (Adaptada de (Marston, Campbel, & Boldt, 1975)) – 260g de farelo, 65 g de leite em pó, 162g de farinha de trigo, 162g de farinha de milho, 193g de glicerina e 158g de água;

Dieta 3 (Aconselhada pelo investigador Arie van der Meijden do CIBIO-UP) - 500g gérmen de trigo, 150g de mel, 100 ml glicerina, ½ saco fermento de padeiro;

Dieta 4 (Coskun, 2006)- 500g farelo, 300 ml glicerina, 200g favo, 150 ml água e 150 ml mel;

Dieta 5 (Aconselhada pelo investigador Trevisan da UFRRJ, Brasil) - 192g farinha de milho, 80g farinha de soja, 95g levedura de cerveja, 47g leite em pó, 208g glicerina e 239g mel;

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

Para cada uma das dietas foram preparadas 100g que foram posteriormente armazenados em frascos de vidro (Figura 14).



Figura 14 – Frascos de vidro com cerca de 100g de cada uma das dietas;

O ensaio teve início a 10 de Fevereiro de 2015. Para este, foram selecionadas massas de ovos idênticas em tamanho e idade. Estas massas foram colocadas em caixas de petri com 10g de dieta (Figura 15). Esta quantidade de dieta foi pesada numa balança de precisão.

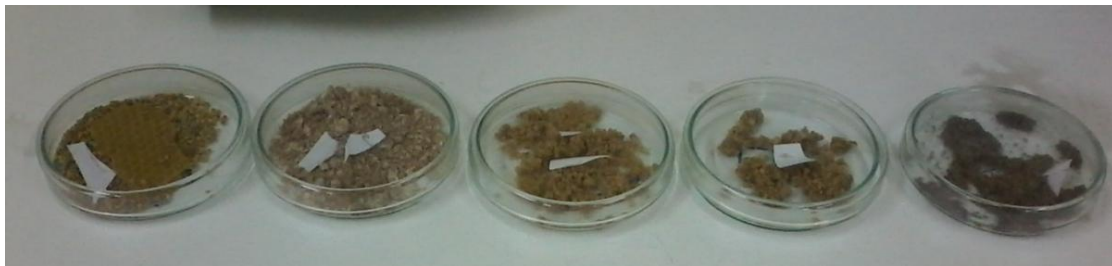


Figura 15– Caixas de petri com 10 g de cada uma das dietas e papéis com massas de ovos;

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana:
ensaios para otimização da produção e caracterização da composição
nutricional

Para cada dieta foram realizadas duas repetições que foram colocadas no interior da hotte com aquecimento e em constante escuridão (Figura 16).



Figura 16 – Interior da hotte com as caixas de petri do ensaio I;

Todas as semanas foram realizados registos fotográficos do desenvolvimento destas massas de ovos e toda a dieta fornecida pesada e registada.

Quando as larvas já estavam bastante desenvolvidas foram retiradas 10 de cada dieta de forma a fazerem-se registos dos seus pesos. Estas larvas foram depois isoladas em novas caixas de petri com a dieta correspondente de forma a serem monitorizadas.

Após se transformarem em pupa, foram colocados em garrafões com pupas da mesma dieta não havendo qualquer tipo de mistura com a restante criação de forma a ser possível avaliar possíveis efeitos no desenvolvimento causados pelas dietas.

1.4.2 – Ensaio II

No dia 20 de Abril de 2015 iniciou-se um novo ensaio comparativo de dietas. Neste, além das 5 dietas utilizadas no ensaio anterior testamos mais 3 dietas obtidas em bibliografia.

As dietas utilizadas neste novo ensaio foram:

Dieta 1 (Aconselhada pela Doutora Vera Valadas da Universidade de Évora) – Pólen e Cera;

Dieta 2 (Adaptada de(Marston, Campbel, & Boldt, 1975)) – 260g de farelo, 65 g de leite em pó, 162g de farinha de trigo, 162g de farinha de milho, 193g de glicerina e 158g de água;

Dieta 3 (Aconselhada pelo investigador Arie van der Meijendo CIBIO-UP) - 500g gérmen de trigo, 150g de mel, 100 ml glicerina, ½ saco fermento de padeiro;

Dieta 4 (Coskun, 2006)- 500g farelo, 300 ml glicerina, 200g favo, 150 ml água e 150 ml mel;

Dieta 5 (Aconselhada pelo investigador Trevisan da UFRRJ, Brasil) - 192g farinha de milho, 80g farinha de soja, 95g levedura de cerveja, 47g leite em pó, 208g glicerina e 239g mel;

Dieta 6 (Ellis, 2013)– 7 partes de ração de cão, 1parte de água e 2 partes de mel;

Dieta 7(Realpe F., 2007)– 464g de farelo de trigo, 69g de levedura de cerveja, 67g de cera derretida, 207g de glicerina e 193g de mel;

Dieta 8 (Nomura, Chaud-Netto, & Gobbi., 2006) – 192,6g de farinha de milho, 94g de levedura de cerveja, 80,2g de farinha de soja, 48,2g de leite em pó, 47g de favo, 236g mel e 208g de glicerina;



Figura 17 –Fracos de vidro com cerca de 100g das diferentes dietas;

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

Os métodos utilizados neste novo ensaio foram idênticos aos utilizados no primeiro ensaio comparativo de dietas. No entanto, fez-se algumas melhorias como a colocação de maiores massas de ovos e mudança do local do ensaio.

A colocação de massas de ovos maiores surgiu na tentativa de aumentar a probabilidade de sucesso de eclosão dos ovos e a mudança do local do ensaio de forma a ser possível um maior controlo de temperatura e humidade.

Este novo ensaio ocorreu num compartimento isolado da restante criação onde foi colocado um aquecedor de forma a atingir as temperaturas aconselhadas (Figura 18).



Figura 18 – Compartimento onde se realizou o ensaio II;

À medida que as larvas atingiam um tamanho considerável que permitisse o seu manuseamento foram separadas 10 de cada repetição e colocadas numa caixa de petri com 5g da respetiva dieta. As larvas foram pesadas individualmente 2 vezes por semana até se tornarem pupas e toda a dieta fornecida pesada e registada assim como a dieta sobranete após a retirada de todas as pupas.

1.5 – Determinação dos ciclos de vida

Durante os ensaios acima descritos, foram feitos registos das datas em que se observou a primeira larva eclodida, a primeira pupa e o surgimento do primeiro adulto de forma a calcular-se o ciclo de vida de cada ensaio.

2- Realização das análises Bromatológicas

De forma a perceber-se se a dieta influencia significativamente a composição nutricional do animal procedeu-se à realização de análises bromatológicas. Estas análises decorreram na Faculdade de Farmácia da Universidade sob a supervisão da Doutora Joana Santos. Nestas análises comparou-se os valores nutricionais de larvas alimentadas com a dieta 1 (pólen e cera) a larvas alimentadas com a dieta 4 (farelo, glicerina, favo e mel).

A escolha das dietas para comparação recaiu sobre a dieta 1 pois esta é a mais próxima da dieta natural da larva quando no ambiente natural (a colmeia) e na dieta 4 por ter sido a dieta da qual se tinha obtido maior número de larvas no ensaio das dietas (ensaio I).

2.1- Preparação de amostras

Foram recolhidas cerca de 50g de larvas da criação alimentada com a dieta 1 e 50g de larvas alimentadas com dieta 4. Após a recolha, foram colocadas numa arca a -20°C até ao dia da realização das análises.

No dia do início da realização das análises procedeu-se à trituração das larvas numa picadora (Figura 19). Após a trituração as amostras foram colocadas em tubos identificados com os códigos GN para as larvas alimentadas com pólen e GA para as larvas alimentadas com a dieta 4 (Figura 19).



Figura 19 – Picadora onde se efetuou a trituração das larvas à esquerda e larvas trituradas num frasco de amostra à direita;

2.2 - Determinação de cinzas

O procedimento para a determinação das cinzas baseou-se no método AOAC 942.05 de 2000(AOAC, 2000).

Começou-se por pesar os cadinhos que iriam levar as amostras até à mufla. Seguidamente pesou-se, aproximadamente, 2g de cada uma das amostras em triplicado e colocaram-se os cadinhos com as amostras na mufla a 550°C (Figura 20).



Figura 20 – Mufla com cadinhos no seu interior;

Quando a amostra estava totalmente em cinza de cor branca (Figura 21) pesaram-se os cadinhos.



Figura 21- Cadinhos com cinza de cor branca;

A percentagem de cinzas foi calculada através da seguinte equação:

$$\text{teor cinzas (\%)} = \frac{mc}{mh} \times 100$$

Na qual,

mc = resíduo de cinza (g)

mh = massa da amostra (g)

2.3.- Determinação do teor de água

O procedimento para a determinação do teor de água baseou-se no método AOAC 934.01 de 2000(AOAC, 2000).

A determinação da percentagem de humidade foi realizada numa balança de humidade (Figura 22). Para este processo pesou-se 1g de cada amostra para um prato de alumínio colocado na balança. Após o processo, recolheu-se o valor determinado pela balança. Para cada amostra foram feitas medições triplicadas, sendo a percentagem de humidade das amostras calculada através da média aritmética dos valores obtidos.

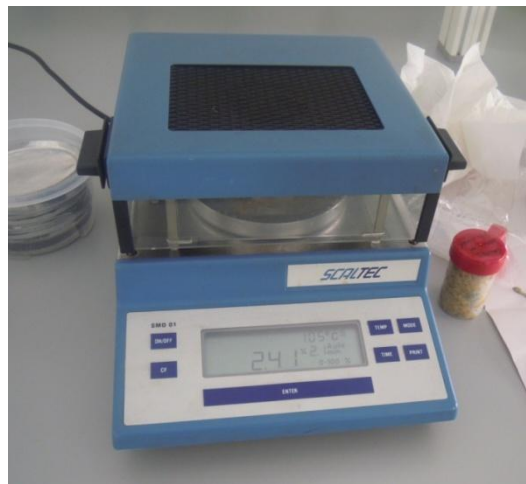


Figura 22 – Balança de humidade onde foi determinado o teor de água das amostras;

2.4 - Determinação de gordura

O procedimento para a determinação da gordura baseou-se no método AOAC 920.39 de 2000 conhecido por extração em Soxhlet (AOAC, 2000).

Para esta determinação começou-se por colocar 6 balões na estufa a 100°C, durante 4 horas. Deixaram-se arrefecer num exsiccador fez-se o registo dos pesos destes e marcou-se os balões.

Para preparação das cartuchas, pesaram-se 5 g de amostra para os copos de porcelana onde se adicionou sulfato de sódio anidro misturando-se bem com uma espátula até ficar um pó bem solto. De seguida, adicionou-se areia para dispersar a amostra (Figura 23).



Figura 23 – Amostra em pó após a adição de sulfato sódico anidro e areia;

Com um funil de pó, passou-se a amostra para a cartucha. Embebeu-se um pouco de algodão em éter de petróleo e passou-se na cápsula de porcelana, na espátula e no funil para retirar toda a amostra. Colocou-se o algodão no topo da cartucha pressionando bem. Foram feitas 3 cartuchas para cada uma das amostras (Figura 24).



Figura 24 – Cartuchas com as amostras no interior;

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

De seguida, ligou-se o aparelho de extração Soxhlet, encheram-se os copos com solvente(éter de petróleo) até cima, colocaram-se as cartuchas no sistema e ligaram-se as mantas de aquecimento (Figura 25).



Figura 25 –Aparelho de extração de Soxhlet em funcionamento;

A extração demorou cerca de 6 horas. No final, recuperou-se o solvente e colocaram-se os balões no exsiccador a arrefecer.

Quando os balões já estavam frios foram colocados na estufa a 100°C durante 1 hora. Terminado este tempo transferiu-se os balões para o exsiccador onde ficaram a arrefecer durante 1 hora.

Os balões arrefecidos foram depois pesados e colocados novamente na estufa. Passados 30 minutos retiraram-se para o exsiccador deixou-se arrefecer e pesou-se. Este passo foi repetido até haver um aumento de peso entre pesagens devido à oxidação da gordura.

A quantidade de gordura é calculada através da diferença entre a massa do balão e conteúdo após a oxidação e a massa do balão vazio.

2.5- Determinação de proteína

Os métodos utilizados para a determinação da proteína foram baseados no método AOAC 920.54 de 2000 conhecido por método de Kjeldahl (AOAC, 2000). Este método é composto por três etapas: a digestão ácida de proteínas, a destilação automática e a titulação.

Para a digestão ácida das proteínas pesaram-se 1g, em triplicado, de cada amostra GN e GA para papéis isentos de azoto identificando a lápis o código da amostra. Embrulharam-se bem de forma a não haver fuga de amostra e colocaram-se nos tubos de Kjeldahl com 20ml de ácido sulfúrico concentrado a 96% e 2 pastilhas de catalisador.

Ligaram-se as resistências e o Scrubber e colocaram-se as amostras nas resistências cerca de 2 horas até o líquido se tornar verde límpido (Figura 26).



Figura 26 – Amostras colocadas nas resistências;

No final das duas horas desligaram-se as resistências e retiraram-se os frascos para fora destas de forma a arrefecerem.

Quando os frascos já estavam frios ligou-se o aparelho de destilação automática. Neste aparelho começou-se por identificar as amostras e fazer o branco colocando 3 gotas de indicador numa matraz, procedendo de seguida à sua destilação.

Após, a destilação do branco fez-se a destilação das amostras (Figura 27).



Figura 27 – Aspeto da amostra após destilação automática;

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

O passo seguinte foi a titulação com H₂SO₄ (0.5mol/L) até ficar cor-de-rosa (Figura 28).

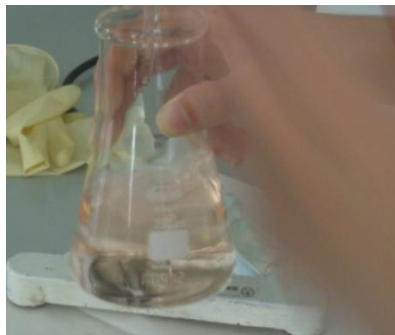


Figura 28- Mudança de cor durante a titulação;

Para o cálculo da percentagem de proteína na amostra utilizam-se as seguintes fórmulas:

$$N = \frac{(VH_{2}SO_{4} - VH_{2}SO_{4} \text{ branco}) * z * c * f * M(n)}{m(\text{amostra}) * 1000}$$

$$\% \text{ Proteína bruta} = N * 6.25 * 100$$

Em que:

VH₂SO₄ – volume de H₂SO₄ utilizado durante a titulação

VH₂SO₄ branco – volume de H₂SO₄ utilizado durante a titulação do branco

z – Factor molar (no caso do ácido sulfúrico é 2)

c – concentração do titulador (0,5 mol/L)

f – factor do titulador (para soluções comerciais é 1)

M (n) – peso molecular do azoto (14,0067g/mol)

m – massa da toma

IV - Resultados e Discussão

1 – Criação

1.1 – Primeiro método de criação

Esta forma de criação não se mostrou nada prática pois, sendo as colmeias completamente opacas não se conseguia acompanhar a criação no seu interior e, quando era necessário proceder a observações ou maneiho havia o risco de fuga de adultos. A dieta e a forma como foi administrada (em gobelés) não se mostraram eficazes pois verificou-se elevada mortalidade das larvas.

Por estas razões este método foi abandonado e, após nova revisão da bibliografia e discussão com investigadores com experiência na criação de *G. mellonella* L. (Meijen, 2014) (Valadas V. , 2014) (Trevisan, 2014) foi delineado um segundo método de criação.

1.2- Segundo método de criação

Os recipientes de plástico mostraram-se pouco resistentes pois as larvas acabaram por fazer cavidades nestes acabando mesmo por fugir. Este problema foi resolvido pois passou-se a realizar a criação de larvas em caixas de petri em vidro (Figura 29).



Figura 29 – Criação de *Galleria mellonella* L. em caixas de petri em vidro;

Apesar de as caixas de petri estarem preparadas para proporcionar um pequeno arejamento por vezes, nomeadamente quando a havia uma grande densidade de insetos, era necessário remexer a dieta e até mesmo transferir insetos para outras caixas de forma a não haver demasiada condensação no interior da caixa.

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana:
ensaios para otimização da produção e caracterização da composição
nutricional

Esta condensação levou à frequente ocorrência de fungos em algumas caixas da criação.

O revestimento superior dos garrafões de plástico utilizados para criar a fase adulta deste inseto também foi um aspeto que mereceu especial atenção.

Inicialmente, colocou-se tule branco com malha larga no entanto, este tipo de tecido acumulava e deixava passar para o exterior uma grande quantidade de pó das asas dos adultos o que, além de causar maus cheiros provocava incomodo para as pessoas aquando o seu manuseamento. Posto isto, resolvemos experimentar outros tipos de revestimento que de alguma forma melhorassem os problemas acima referidos.

A escolha recaiu sobre o revestimento com plástico (sacas plásticas de congelação abertas lateralmente) com pequenas perfurações para permitir a entrada de ar e evitar o excesso de humidade no garrafão. O pó das asas ficava aderente ao plástico sendo facilmente eliminado com a substituição deste. Com este novo revestimento o manuseamento dos adultos foi facilitado.

Após todas estas experiências foi possível constatar que durante a fase larval deve ter-se especial atenção ao material dos recipientes de criação que deverão ser bastante resistentes assim como proporcionar um eficiente arejamento de forma a diminuir os ataques de fungos. Durante a fase de adulto a criação em garrafões de 5 l cobertos com plástico perfurado com papel para suporte de oviposição demonstrou-se um método bastante eficiente.

1.3 -Ensaio comparativo de dietas I

Desde o início do ensaio monitorizou-se regularmente e registou-se todo o desenvolvimento das larvas nas respetivas dietas assim como temperatura e humidade do ambiente.

A única dieta que conclui um ciclo de vida foi a dieta 4, nas restantes não se observou quaisquer vestígios de atividade larval.

O resultado deste ensaio suscitou variadas dúvidas nomeadamente a ausência de larvas na dieta 1 (cera+ pólen) que era a dieta utilizada na criação e que tinha até então dado bons resultados.

Ao observar a tabela 5 pode-se constatar que na primeira semana do ensaio, quando a maior parte dos ovos ainda não tinha eclodido, a temperatura esteve elevada (34°C) estando acima dos valores considerados ótimos na bibliografia. Este pico de temperatura terá conduzido à desidratação dos ovos e conseqüentemente à sua inviabilidade.

Tabela 5 - Registos das temperaturas mínimas e máximas assim como da humidade relativa durante o ensaio I;

Data	Temperatura mínima (°C)	Temperatura máxima (°C)	Humidade relativa (%)
13-02-2015	22	30	59
16-02-2015	22	34	60
23-02-2015	22	32	60
26-02-2015	25	31	62
02-03-2015	25	31	63

Após estas constatações tentou-se compreender o que é que a dieta 4 continha que terá permitido a eclosão dos ovos. O único ingrediente que a dieta 4 contém e que as restantes dietas não é o favo.

O favo como contém uma grande percentagem de humidade evitou que os ovos desidratassem devido às elevadas temperaturas, funcionando como um protetor dos ovos que assim se mantiveram viáveis.

O interior das colmeias está sempre a uma temperatura constante mantida pelas abelhas que têm mecanismos de aquecimento ou arrefecimento da colmeia(Embrapa, 2002). Na criação em laboratório ou em fábrica, em sistemas de baixa tecnologia sem regulação da temperatura, a utilização de uma dieta com favos

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

pode evitar elevadas taxas de mortalidade em situações de picos de temperatura não controlados.

No dia 2 de março de 2015 procedeu-se à pesagem de todas as larvas separadas para as caixas 4 e 4' (Tabela 6).

Tabela 6 – Pesagem das larvas das caixas 4 e 4' no dia 2 de março de 2015;

Caixa	Peso larva (g)	Caixa	Peso larva (g)
4	0.1075	4'	0.0357
	0.0447		0.0476
	0.0580		0.0403
	0.0659		0.0310
	0.0572		0.0305
	0.0945		0.0239
	0.0619		0.0205
	0.0685		0.0373
	0.0837		0.0427
	0.0744		0.0398

No entanto, após a pesagem todas as larvas entraram em pupa o que impediu que se obtivesse dados suficientes para um estudo mais aprofundado.

1.4- Ciclos de vida observados no ensaio comparativo I

A dieta 4 conclui o ciclo de vida em 41 dias. Comparando o ciclo de vida obtido com alguns tempos de ciclo já publicados, pode-se constatar que se conseguiu obter um ciclo de vida menor (Figura 30) principalmente devido ao encurtamento da fase larval.

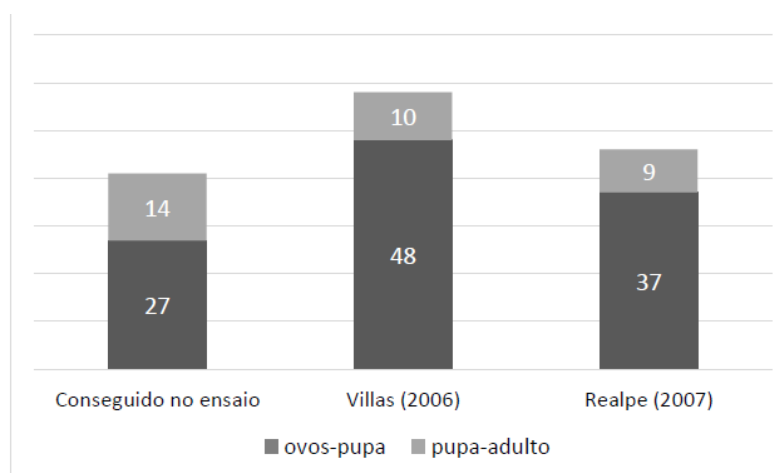


Figura 30 - Comparação entre a duração do ciclo de vida obtido no ensaio com a referida noutrostrabalhos;
Fonte:(Silva., 2015)

1.5. – Ensaio comparativo de dietas II

No ensaio comparativo com 8 dietas, as pesagens das larvas iniciaram-se no dia 19 de maio quando as larvas em algumas dietas já tinham dimensão suficiente para poderem ser manuseadas.

Foram separadas 20 larvas de cada dieta com tamanhos idênticos que foram colocadas em duas caixas com 10 larvas de forma a iniciar-se a sua monitorização.

O número de larvas e peso médio por dieta por pesagem apresenta-se calculado na tabela 7.

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

Tabela 7 – Número de larvas e peso médio (em gramas) em cada caixa nos dias de pesagem;

Data/Caixa	1	1'	2	2'	3	3'	4	4'	5	5'	6	6'	7	7'	8	8'
19/05/2015	-	-	-	-	-	-	6 (0,02)	10 (0,09)	10 (0,12)	10 (0,09)	-	-	-	-	10 (0,12)	10 (0,15)
22/05/2015	-	-	-	-	-	-	-	6 (0,08)	10 (0,20)	10 (0,14)	-	-	-	-	10 (0,16)	8 (0,17)
25/05/2015	10 (0,09)	10 (0,06)	-	-	-	-	-	1 (0,07)	10 (0,22)	10 (0,16)	-	-	-	-	5 (0,16)	8 (0,27)
29/05/2015	10 (0,16)	10 (0,13)	-	-	-	-	-	-	6 (0,23)	8 (0,19)	10 (0,21)	10 (0,14)	10 (0,10)	10 (0,07)	1 (0,08)	-
01/06/2015	7 (0,19)	6 (0,16)	-	-	-	-	-	-	4 (0,23)	6 (0,19)	4 (0,24)	8 (0,14)	1 (0,12)	8 (0,08)	-	-
05/06/2015	2 (0,21)	-	-	-	-	-	-	-	4 (0,22)	6 (0,19)	1 (0,19)	1 (0,09)	-	2 (0,08)	-	-
09/06/2015	1 (0,20)	-	-	-	-	-	-	-	4 (0,21)	4 (0,16)	1 (0,16)	-	-	-	-	-
12/06/2015	3 (0,20)	-	-	-	-	-	-	-	4 (0,21)	1 (0,16)	1 (0,15)	-	-	-	-	-
15/06/2015	1 (0,18)	-	-	-	-	-	-	-	3 (0,26)	1 (0,15)	1 (0,13)	-	-	-	-	-
19/06/2015	1 (0,18)	-	-	-	-	-	-	-	1 (0,24)	3 (0,12)	1 (0,11)	-	-	-	-	-
22/06/2015	1 (0,18)	-	-	-	-	-	-	-	-	3 (0,12)	-	-	-	-	-	-
26/06/2015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2 (0,10)	-	-	-	-	-	-

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

Em todas as dietas do ensaio houve ovos eclodidos. Contudo, nas dietas 2 e 3, apesar de os ovos terem eclodido, as larvas não se desenvolveram. Provavelmente, deveu-se ao facto de serem dietas bastante secas indiciando assim que não serão aptas para a criação em laboratório de *Galleria mellonella* L..

Na tabela 8 apresenta-se a quantidade de dieta adicionada a cada repetição assim como a dieta que sobrou após a retirada de todas as pupas.

Tabela 8– Registo da quantidade de alimento fornecido e sobranço durante o período de monitorização;

Repetição	Quantidade de dieta inicial	Quantidade de dieta adicionada ao longo do ensaio	Quantidade de dieta sobranço após retirada de todas as pupas
1	10g	10g	1,67g
1'	10g	10g	1,90g
4	10g	-	-
4'	10g	5g	2,84g
5	10g	15g	4,48g
5'	10g	15g	7,07g
6	10g	5g	1,57g
6'	10g	5g	2,43g
7	10g	5g	3,99g
7'	10g	5g	3,94g
8	10g	15g	8,25g
8'	10g	10g	8,07g

No entanto, uma das repetições da dieta 4 foi retirada do ensaio pois a elevada quantidade de humidade do favo aí inserido, fez com que houvesse um ataque de fungos (Figura 31), acabando por ocasionar a morte das larvas aí existentes.



Figura 31 – Aspeto da repetição 4 atacada por fungos;

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

Esta situação demonstra que, apesar de o favo ser benéfico, fornecendo a humidade suficiente para os ovos se tornarem viáveis mesmo em condições de elevadas temperaturas, pode por outro lado, em condições de temperatura ideais, promover a instalação de fungos devido à elevada humidade que fornece.

Após a entrada em pupa de todas as larvas monitorizadas procedeu-se ao tratamento dos dados no programa SPSS®.

Ao observarmos a tabela da ANOVA (Tabela 9) com os dados das caixas 1, 1', 4, 5, 5', 6, 6', 7, 7', 8 e 8' para os valores obtidos na tabela 8 concluiu-se que sendo o *P*-value aproximadamente zero pode-se afirmar que existem diferenças significativas nos pesos dos indivíduos das diferentes dietas quer a nível do peso das larvas quer a nível do peso das pupas.

Tabela 9 – Tabela de ANOVA obtida no programa SPSS para os dados obtidos durante o ensaio;

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
peso larva	Between Groups	,137	5	,027	17,035	,000
	Within Groups	,167	104	,002		
	Total	,304	109			
peso pupa	Between Groups	,355	5	,071	12,164	,000
	Within Groups	,497	85	,006		
	Total	,852	90			

O que se pretende da criação de insetos para alimentação humana é obter insetos pesados, visto estes serem vendidos ao peso. Neste parâmetro, podemos avaliar pela figura 32 que a dieta em que se obteve larvas mais pesadas foi na dieta 6.

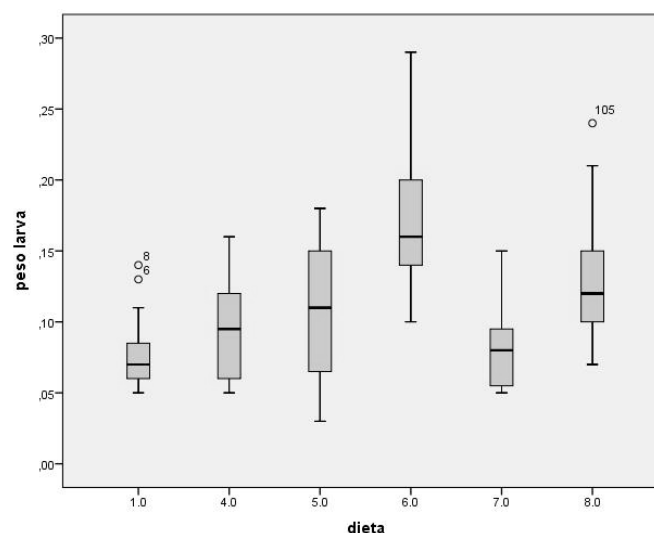


Figura 32 - Box plot para o peso das larvas obtidas nas diferentes dietas;

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

Quanto ao peso das pupas podemos constatar a partir da figura 33 que a dieta em que se obteve pupas mais pesadas foi na 5.

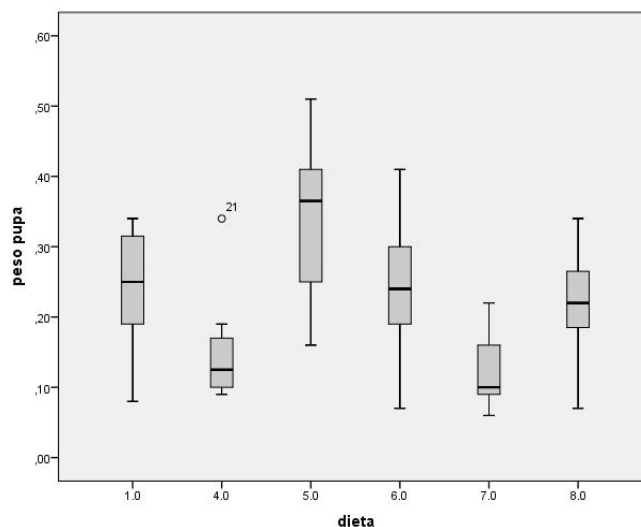


Figura 33 -Box plot para o peso das pupas obtidas nas diferentes dietas;

Nas repetições 4', 8 e 8' todas as larvas transformaram-se em pupas obtendo-se uma mortalidade de 0%. As repetições 5' e 7 foram as que obtiveram maior percentagem de mortalidade. (Tabela 11)

Tabela 10 – Taxa de mortalidade nas diferentes dietas e repetições;

Caixas	Larvas Inseridas	Pupas retiradas	Larvas Desaparecidas	Larvas Mortas	% Mortalidade
1	10	9	0	1	10%
1'	10	10	0	0	0%
4'	10	10	0	0	0%
5	10	9	1	0	0%
5'	10	3	4	3	50%
6	10	10	0	0	0%
6'	10	9	0	1	10%
7	10	4	5	1	20%
7'	10	9	0	1	10%
8	10	10	0	0	0%
8'	10	10	0	0	0%

Estas percentagens de mortalidade deveram-se sobretudo acontaminações de fungos.

Durante o ensaio houve algumas larvas que desapareceram não tendo estas sido contabilizadas para o cálculo da percentagem de mortalidade.

Segundo (Parra, 1998), para retirar-se qualquer tipo de conclusão quanto à dieta mais eficiente é necessário calcular a taxa de consumo relativo (TCR), a taxa

A traça da colmeia, *Galleria mellonella L.* para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

metabólica relativa (TMR), a taxa de crescimento relativo (CrR), a eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI), a eficiência de conversão do alimento digerido (ECD), a digestibilidade aproximada (DA) e o custo metabólico (CM).

Na tabela 11 encontram-se calculados todos os índices acima referidos para as diferentes repetições.

Tabela 11 – Índices calculados para as diferentes repetições;

		TCR	TMR	CrR	ECI	ECD	DA	CM
Repetições	1	1,15	0,63	0,03	3%	5%	57%	99,95
	1'	4,18	2,21	0,09	2%	4%	55%	99,96
	4'	6,88	1,15	0,10	1%	8%	18%	99,92
	5	0,99	0,56	0,03	3%	5%	59%	99,95
	5'	2,25	1,00	0,02	1%	2%	45%	99,98
	6	4,56	3,67	0,09	2%	2%	83%	99,98
	6'	4,46	3,29	0,07	1%	2%	75%	99,98
	7	2,82	1,81	0,04	1%	2%	66%	99,98
	7'	9,55	6,01	0,09	1%	1%	64%	99,99
	8	2,12	1,10	0,03	1%	2%	53%	99,98
8'	4,95	2,62	0,08	2%	3%	54%	99,97	

A dieta que obteve valores mais elevados para a maiorias índices foi a dieta 6 em ambas as repetições.

1.5 - Ciclo de vida observados no ensaio II

Quanto ao ciclo de vida foi possível constatar o menor ciclo foi obtido na dieta 4 e o maior ciclo nas dietas 1, 5 e 6 (Figura 34).

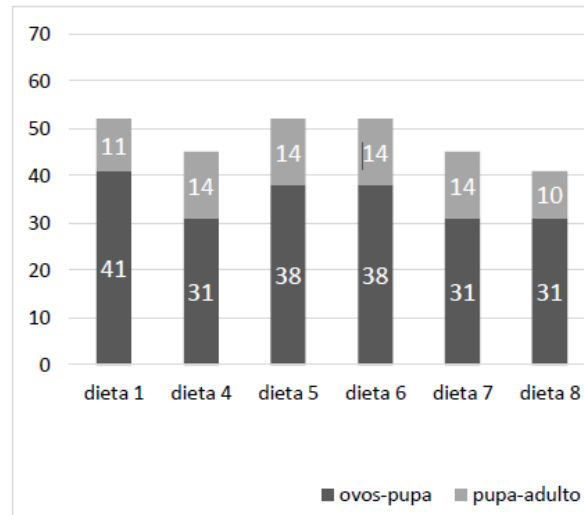


Figura 34 - Ciclos de vida, em dia, obtidos nas diferentes dietas em estudo;

Comparando os ciclos obtidos no ensaio com ciclos publicados podemos constatar, na figura 35, que obtivemos ciclos melhores que os publicados em (Villas, 2006) e idênticos aos publicados em (Realpe F., 2007).

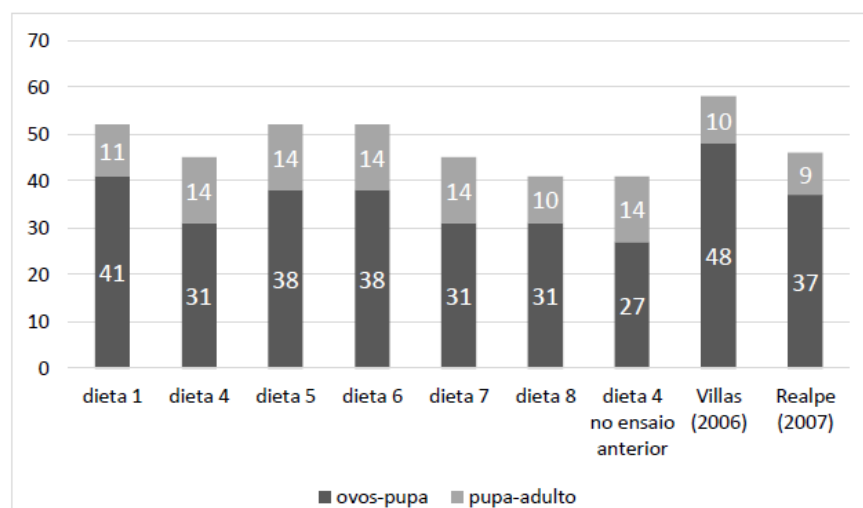


Figura 35 - Comparação dos tempos de ciclo de vida obtidos neste ensaio com tempos de ciclo publicados;

1.6 - Previsão de custos com as dietas

Os ingredientes utilizados nas 8 dietas em estudo são de fácil acesso e foram comprados nos hipermercados Continente® e Pingo Doce® à excepção do favo (aproveitado dos quadros fornecidos pelo apicultor para recolha de indivíduos) e da cera que foi comprada numa loja especializada em apicultura. Os preços por kg de cada um dos ingredientes são apresentados na tabela 12.

Tabela 12 – Preço (por kg) dos diferentes ingredientes;

Ingrediente	Preço por kg (€)
Farelo	2,23
Leite em pó	10,97
Farinha trigo	0,4
Farinha milho	1,04
Glicerina	7,14
Água	0,20
Gérmen trigo	2,98
Mel	4,22
Fermento padeiro	86,24
Favo	11,80
Soja	4,47
Levedura cerveja	23,98
Cera	14,75
Pólen granulado	28,22
Comida cão	1,12

Na tabela 13 podemos observar o preço de 1 kg de cada uma das dietas.

Tabela 13 – Preço (por kg) de cada uma das dietas;

Dieta	Preço (€/kg)
1	28,22
2	2,93
3	3,01
4	6,28
5	5,02
6	1,65
7	5,96
8	6,37

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

A partir destes valores podemos desde já constatar que a dieta mais cara é a dieta 1 e a mais barata é a dieta 6.

Mais importante do que saber qual a dieta mais barata é perceber qual o valor necessário para se obter 1Kg de larvas e o custo que isto advém. Com base no estudo esses valores encontram-se apresentados na tabela 14.

Tabela 14 – Custos para produzir 1 kg de larvas de *Galleria mellonella* L. nas diferentes dietas utilizando os dados do ensaio comparativo II;

Dietas	Peso médio das larvas (g)	Quantidade de larvas para obter 1 kg	Quantidade de dieta para produzir 1 larva (g)	Quantidade de dieta para produzir 1kg de larvas (kg)	Custo com dieta para produzir 1kg de larvas (€)
1	0,27	3703,70	2,04	7,54	212,87
1'	0,20	5000,00	1,81	9,05	255,39
4'	0,14	7142,86	1,22	8,69	54,53
5	0,81	1234,57	2,28	2,81	14,13
5'	0,26	3846,15	5,98	22,99	115,40
6	0,24	4166,67	1,34	5,60	9,23
6'	0,16	6250,00	1,40	8,73	14,40
7	0,17	5882,35	2,75	16,19	96,50
7'	0,11	9090,91	1,23	11,17	66,58
8	0,17	5882,35	1,68	9,85	62,79
8'	0,24	4166,67	1,19	4,97	31,68

As repetições 4, 5' e 7 serão excluídas devido à elevada taxa de mortalidade/fuga (100%, 50% e 20%)

Tendo em conta os valores apresentados na tabela acima, a dieta que torna possível a criação de 1Kg com menores custos é a dieta 6 (média de 11,82€/kg de larva produzido) e a que acarreta mais custos a dieta 1 (média de 234,13€/kg de larva).

Na dieta 5 houve um elevado desfasamento entre as duas repetições tanto a nível de peso médio das larvas como do custo com a dieta. Não tendo havido qualquer diferença de maneio entre as duas repetições aponta-se a variabilidade genética como a principal causa.

Foi possível constatar que os preços de venda de larvas de *Galleria mellonella* L. atingem valores de 7€ por cada 30g (lojaselva, 2015). O que leva a um preço de cerca de 233€ por cada quilograma de larvas. Ao produzir um quilograma de larvas com a dieta 6 gastou-se cerca de 11,82€ em dieta sendo este por norma o maior

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana:
ensaios para otimização da produção e caracterização da composição
nutricional

encargo em negócios de criação de animais. Podemos ver aqui que, a manterem-se estes preços, o negócio da produção de *Galleria mellonella* L. para alimentação humana pode ser um negócio bastante vantajoso.

2- Resultados das análises Bromatológicas

Após a realização das análises bromatológicas compararam-se os valores obtidos a valores publicados (Tabela 15).

Tabela 15 – Comparação dos valores obtidos nas análises bromatológicas das dietas 1 e 4 comparativamente a valores publicados;

	% Humidade	% Cinzas	% Gordura	% Proteína
Dieta 1	56,49	1,01	24,17	14,16
Dieta4	62,59	1,08	15,99	16,61
(Bernard & Allen, 1997)	65,9	2,7	46,4	42,4
(Schluter, 2003)	-	2,17	58,55	38,80
(Finke, 2004)	58,5	1,4	60,0	34,0
(Bednářová, Borkovcová, Mlček, Rop, & Zeman, 2013)	60,33	2,65	56,65	38,41

Como é possível constatar as nossas amostras apresentam valores inferiores aos publicados no teor de gordura e proteína. No teor de humidade e no teor de cinzas as diferenças são menores.

Com as técnicas de manejo usadas nesta criação obtiveram-se larvas com teores de gordura e proteína inferiores ao referido nas publicações, indicando que modificações nas técnicas de criação poderão permitir a produção de larvas com teores mais elevados de gordura e proteína.

Conclusão

Para se obter sucesso numa criação em massa de insetos é necessário um estudo prévio a fim de encontrar as melhores condições para se obter o sucesso. Os aspetos da criação a que se deve dar mais importância são as condições ambientais, os recipientes de criação e a dieta.

Na criação de *Galleria mellonella* L., assim como de todos os insetos, é necessário conhecimento das condições ambientais mais favoráveis à sua criação. No caso da *Galleria*, temperaturas que rondem os 27-30°C, uma humidade de cerca de 60-65% e total escuridão são as condições ideais pois, assemelham-se às condições climáticas das colmeias, ou seja, do seu habitat natural.

A escolha dos recipientes tem bastante importância principalmente durante a fase larvar. Devido ao forte aparelho bucal das larvas deve-se escolher materiais resistentes como é o caso dos metais ou vidro de forma a evitar a sua destruição e fuga das larvas.

A dieta é de extrema importância pois, deve possuir características tanto físicas como químicas que permitam o ótimo desenvolvimento das larvas sem comprometer gerações futuras assim como deve ser elaborada a partir de ingredientes de fácil acesso e baratos.

Os ensaios comparativos das 8 dietas permitiu chegar à conclusão que a dieta mais eficiente é a 6 (dieta à base de ração de cão) pois obteve os melhores índices de alimentares assim como é a dieta que tem menores custos (cerca de 11,82€ por cada quilograma de larva produzido). Esta dieta permitiu a conclusão de um ciclo de vida completo em 52 dias.

Quanto às análises bromatológicas constatou-se que as amostras analisadas, larvas alimentadas com dieta 1 (pólen granulado) e dieta 4 (à base de ração de cão), tinham valores de humidade e cinzas idênticas às publicadas no entanto, os teores de gordura e proteína são bastante inferiores aos publicados constatando-se assim que modificações nas técnicas de criação são necessárias de forma a permitir a produção de larvas com teores mais elevados de gordura e proteína.

Bibliografia

- Ahamad, R. N. (1983). . *Control biologico de la pollila de la cera Achroia grisella y Galleria mellonella L. (Lep.: Pyralidae) mediante la reproducción del parasito Apanteles galleriae Wilkinson en en Pakistan*. Paquistão: Apiacta Int. Tech. Mag. Apic. Economy.
- Allotey, J. &. (2003). Utilization of useful insects as food source. *A Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development* .
- Amadi, E. O. (2005). Microbiology and nutritional composition of an edible larva (*Bunaea alcinoe* Stoll) of the Niger Delta. *Journal of Food Safety* , 298-301.
- AOAC. (2000). *Official methods of analysys*. AOAC Internacional.
- Apacame. (2015). *A traça da cera Galleria mellonella (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae) EM FAVOS DE Apis mellifera Linnaeus (1758) (Hymenoptera: Apidae) - NOÇÕES GERAIS*. Obtido de Apacame: <http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/89/artigo2.htm>
- Banjo, A. L. (2006). The nutritional value of fourteen species of edible insects in southwestern Nigeria. *African Journal of Biotechnology* , 298-301.
- Beck, S. (1972). *Nutrition, adaptation and environment*. Holanda, Amesterdão, Holanda.
- Bednářová, M., Borkovcová, M., Mlček, J., Rop, O., & Zeman, L. (2013). Edible Insects – species suitable for enthomophagy under condition of Czech Republic. *Acta Universatis Agriculturae et Silviculturae Mendeliane Brunensis* .
- Bernard, J. B., & Allen, M. E. (1997). *Feeding Captive Insectivorous animals: Nutritional Aspects of Insects as Food*. USA, USA.
- Bortoli, S. A., & Viana, C. L. (2000). *Criação de insetos: Da base á Biofabrica*.
- Cardoso, A., M, Furlong, J., & Prezoto, F. (2007). Exigencias térmicas de estadios inmaduros de *Galleria mellonella* L. (Lepidóptera : Pyralidae). *Ecology, Behavior and Bionomics* .
- Cinta Quirce, V. F. (2013). La utilización de los insectos. *Cuadernos de Biodiversidad* 43 .
- Conconi, & Rodriguez. (1977). *Valor nutritivo de ciertos insectos comestibles de México y lista de algunos insectos comestibles del mundo*. Mexico: Anales del Instituto de Biología de la UNAM.
- Coskun, M. K. (2006). Effects of different honeycomb and sucrose levels on the development of greater wax moth *Galleria mellonella* Larvae. *International Journal of Agriculture & Biology, Vol. 8* .
- Defoliart, G. (1988). Insects as fod in indigenous populations. *Proceeding of the First Internacional Congressof Ethnobiology* , 145-150.

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

- Dossey, M. S. (2010). Mass production of beneficial organisms. Athens,, USA: Department of Entomology, University of Georgia.
- Ellis, J. G. (2013). Standard methods for wax moth research. *Journal of Apicultural Research* 52 .
- Elorduy, J. R. (2000). La etnoentomologia actual en Mexico en la alimentacion humana, en la medicina tradicional y en la reciclaje y alimentacion animal. 35º Congreso Nacional de Entomología, (pp. 3-46). México.
- Embrapa. (2002). *Organização e estrutura da colmeia*. Obtido em 2015, de Embrapa: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mel/SPMel/organizacao.htm>
- European Commission. (2000 - 2014). *Taxonomy*. Obtido de Fauna Europaea: http://www.faunaeur.org/full_results.php?id=442629
- FAO. (2015). *A contribuição dos insetos para a segurança alimentar, subsistência e meio ambiente*.Wagenigen, Roma, Itália: FAO.
- FAO. (2013). *Edible insects: future prospects for food and feed security*. Wageningen: FAO.
- FAO. (2006). *Honey bee diseases and pests:a practical guide*.Roma, Roma, Italia: FAO.
- FAO. (2009). *How to feed the world in 2050*.Roma, Itália: FAO.
- FAO/IAEA. (2001). *Manual on the application of the HACCP system in Mycotoxin*. FAO/IAEA.
- Finke, M. D. (2004). Nutrient Content of Insects. *Encyclopedia of Entomology* .
- Garedew, A., & Schmoltz, E. &. (2004). *Effect of the bee glue (propolis) on the calorimetrically measured metabolic rate and metamorphosis of the greater wax moth*. USA: Thermochemica Acta.
- Giaccone, V. (2005). Hygiene and health features of 'minilivestock'. In M. G. Paoletti, *Ecological implications of minilivestock: potential of insects, rodents, frogs and snails* (pp. 579-598). New Hampshire: Science Publishers.
- Gillott, C. (2005). *Entomology Third Edition*. Canada, Saskatoon: University of Saskatchewan.
- Guerra, M. (1973). *Bionomia das traças de cera Galleria mellonella e Achroia grisella*.Piracicaba: Universidade de São Paulo.
- Huis, A. v. (2013). *Edible Insects: future prospects for food and feed security*. Rome: FAO.
- IPIFF. (2014). *Food Safety First – First time Right*. IPIFF.

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

Jafari, R., Goldasteh, S., & Afrogheh, S. (2010). Control of the wax worm *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) by the male sterile technique (MST). *Arch. Biol. Science* .

Klunder, H. W.-R. (2012). Microbiological aspects of processing and storage of edible insects. *Elsevier* , 628-631.

Kuhnlein, H. E. (2009). *Indigenous peoples' food systems: the many dimensions of culture, diversity and environment for nutrition and health*. Rome: FAO.

Leppla, C., & Fisher, W. (1989). Total equality in insect mass production for insect pest management. *Journal of Applied Entomology* .

lojaselva. (2015). Obtido em Agosto de 2015, de <http://www.lojaselva.com/>

Macedo, L. P. (2000). *Fundamentos basicos de entomologia: aspectos morfológicos dos insetos*. Brasil.

Maciel, R. (2000). Análise e avaliação de alimentos.

Madeira, J. B. (2008). *Estudo comparativo dos fluxos polínicos anemófilos e entomófilos (Apismellifera spp) e respectivo contributo na produtividade agrícola e qualidade dos produtos da colmeia*. Porto: Universidade do Porto.

Marston, N., Campbel, B., & Boldt, P. E. (Agosto de 1975). Mass Producing Eggs of the Greater Wax Moth,. *Agriculture research* .

Miranda, E., & Soares, E. (2000). Avaliação Bromatológica de Rações Comerciais. *Universidade Federal de Alagoas* .

Moore, A. (2013). *Insect Orders*. Guam: University of Guam.

Neto, E. M. (2003). *Estudos etnoentomológicos no estado da Bahia, Brasil: uma homenagem aos 50 anos do campo de pesquisa*. Bahia: Universidade Estadual de Feira de Santana.

Nielsen, & Brister. (1977). *Greater wax moth: Adult behavior*. America: Ann. Entomol. Soc. American.

Nomura, E., Chaud-Netto, J., & Gobbi., N. (2006). Efeito da dieta no ciclo biológico das lagartas das traças-da-cera *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera, Pyralidae) e *Achroia grisella* (Fabricius, 1754) (Lepidoptera, Pyralidae).

Paddock, F. B. (1918). *The beemoth or waxworm*. USA, USA: Texas Agricultural Experiment Station.

Panizzi, A., & Parra, J. (1991). *Introdução à bioecologia e nutrição dos insetos como base de para o manejo integrado de pragas*.

Parra, J. (2009). *Bioecologia e nutrição de insetos- base para o manejo integrado de pragas*. Brasil, Brasília: Embrapa.

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

- Parra, J. (1998). *Criação de insetos para estudos com patogeneos*. Piracicaba: FEALQ.
- Parra, J. (1992). *Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico*. Piracicaba: FEALQ.
- Parra, J. (2001). *Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico*. Piracicaba: FEALQ.
- Posey, D. (1986). *Etnoentomologia de tribos indígenas da Amazônia*. Petrópolis: FINEP.
- R.Cerritos. (2009). *Insects as food: an ecological, social and economical approach. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*.
- Realpe F., B. A. (2007). *Optimizacion de la cria de Galleria mellonella (L.) para la Produccion de nematodos entomopatogenos*. *Cenicafé*.
- Realpe-Aranda, F. J., Bustillo-Pardey, A. E., & López-Núñez, J. C. (2007). *Optimizacion de la cria de Galleria mellonella (L.) para la produccion de nematodos entomopatogenos*.
- Rodrigues Filho, I. (1985). *Comparação de dietas artificiais para Heliothis virescens (Fabr., 1781) (Lepidoptera: Noctuidae) através de estudos biométricos e nutricionais*. PIRACICABA: ESALQ_USP.
- Schabel, H. (2010). *Forest insects as food: Humans bite back: Proceedings of a workshop on Asia-Pacific resources and their potential for development*. Thailand, Bangkok: FAO Regional Office for Asia and the Pacific.
- Schluter, B. A. (2003). *Nutritional composition and safety aspects of edible insects*. Germany, Potsdam: Leibniz Institute for Agricultural Engineering Potsdam-Bornim.
- Shimanuki, K. F. (1993). *Diseases and pests of honey bees*. Hamilton, Dadant & Sons.
- Silva., N. (2015). *Produção de traça das colmeias (Galleria mellonella) em laboratório: caracterização do ciclo de vida e ensaio de dietas*.
- Singh, P. (1983). *A general purpose laboratory diet mixture for rearing insects. Insect Science Appl.*
- Thompson, S. (1999). *Nutrition and culture of entomophagous insects. Annual Review of Entomology*.
- USP. (2015). Obtido de http://lect.futuro.usp.br/site/borboleta/quadroteorico/c_grupos.htm

A traça da colmeia, *Galleria mellonella* L. para alimentação humana: ensaios para otimização da produção e caracterização da composição nutricional

Valadas, V., Laranjo, M., Mota, M., & Oliveira, S. (2013). A survey of entomopathogenic nematode species in continental Portugal. *Journal of Helminthology* .

Vandenberg, J. D., & Shimanuki, H. (1990). Viability of *Bacillus thuringiensis* and its efficacy for larvae of the greater wax moth (Lepidoptera: Pyralidae) following storage of treated combs. *Journal of Economic* .

Villas, M. I. (2006). *El ciclo biológico de la polilla grande de la cera*. IES Escola Municipal del Treball.

Williams, J. L. (1997). *Honey bee pests, predators, and diseases*. The AI Root Company. USA, Ohio, USA: K Flottum.

Williams, J. (1976). Status of the greater wax moth, *Galleria mellonella*, in the United States beekeeping industry. *American Bee Journal* 116 .

Zacarin, G. G., Gobbi, N., & Chaud-Netto., J. (30 de junho de 2004). Capacidade reprodutiva de fêmeas de *Apanteles galleriae* (Hymenoptera, Braconidae) em lagartas de *Galleria mellonella* e *Achroia grisella* (Lepidoptera, Pyralidae) criadas com dietas diferentes. *Sér. Zoologia* .