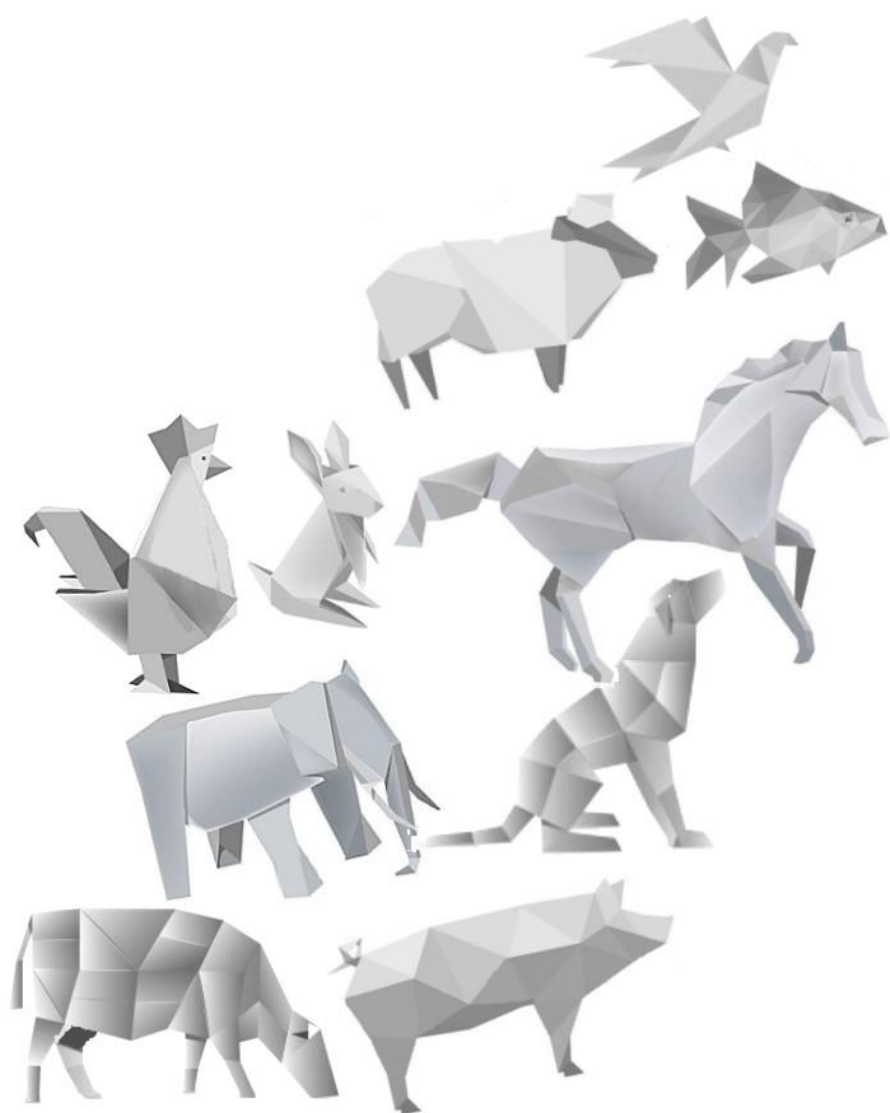


Revista Portuguesa de Zootecnia



Ficha Técnica

Director:

Ana Sofia Santos

Editor:

Ana Sofia Santos

Editor adjunto:

Mariana Almeida

Propriedade:

Associação Portuguesa de Engenharia
Zototécnica (APEZ)

Apartado 60, 5001-909 Vila Real

Composição e Montagem:

Telma G. Pinto

Design Gráfico:

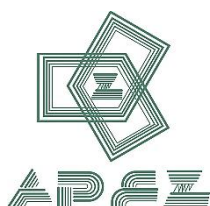
Mariana Almeida e Telma G. Pinto

Contactos:

Apartado 60,
5001-909 Vila Real

rpz@apez.pt

912 239 527



A publicação deste número foi possível graças ao apoio da Comissão Científica do INSECTA'19 – II Congresso Internacional sobre Produção e Utilização de Insectos.

Índice

PREFÁCIO.....	4
PERFIL DA MICROBIOTA DE TRÊS ESPÉCIES DE INSETOS EDÍVEIS FRESCOS, CONGELADOS E ULTRACONGELADOS	5
EFEITO DE DIFERENTES MÉTODOS DE DESIDRATAÇÃO NA MICROBIOTA DE <i>ACHETA DOMESTICUS</i> , <i>TENEBRIO MOLITOR</i> E <i>ZOPHOBAS MORIO</i>	11
CONHECIMENTOS E PERCEÇÕES DO CONSUMIDOR PORTUGUÊS EM RELAÇÃO À ENTOMOFAGIA.....	16
EFFECT OF SUBSTRATE COMPOSITION ON GROWTH PERFORMANCE AND BODY COMPOSITION OF <i>TENEBRIO MOLITOR</i> LARVAE.....	21
ESTIMATIVA DA MASSA (MG) DAS LARVAS DE <i>TENEBRIO MOLITOR</i> (COLEÓPTERA, TENEBRIONIDAE): EFEITO DA VARIAÇÃO DA DIETA	26
EFEITO DA DIETA SOBRE OS RESULTADOS BIOMÉTRICOS DOS ESCARAVELHOS DE <i>TENEBRIO MOLITOR</i> (COLEÓPTERA, TENEBRIONIDAE).....	31
EFEITO DA DIETA SOBRE OS RESULTADOS BIOMÉTRICOS DAS PUPAS DE <i>TENEBRIO MOLITOR</i> (COLEÓPTERA, TENEBRIONIDAE)	36
ESTIMATIVA DA MASSA DAS LARVAS DE <i>ZOPHOBAS MORIO</i> (COLEÓPTERA, TENEBRIONIDAE): EFEITO DA VARIAÇÃO DA DIETA	41
EFEITO DA ALIMENTAÇÃO NA PRODUTIVIDADE DE <i>TENEBRIO MOLITOR</i> : RESULTADOS PRELIMINARES.....	46



PREFÁCIO

A Associação Portuguesa de Engenharia Zootécnica (APEZ) publica, pela primeira vez, um número especial da revista Portuguesa de Zootecnia, inteiramente dedicado à produção e utilização de insectos. A APEZ foi pioneira na promoção e divulgação desta área da zootecnia, tendo realizado em 2018 a primeira reunião técnica e científica nesta área. Em 2019, realizou o segundo Congresso Internacional de Produção e Utilização de Insectos – INSECTA'19, do qual resulta este número especial da RPZ.

Durante os últimos dez anos, o interesse mundial no uso de insectos como alimento para Humanos e animais aumentou. A investigação em torno desta área tem crescido exponencialmente. Os benefícios ambientais do uso de insectos como alimento são frequentemente destacados, e as autoridades nacionais e internacionais mostram-se cada vez menos resistentes ao desenvolvimento deste novo setor agrícola. Os insectos já fazem parte da dieta básica de cerca de 2,5 bilhões de pessoas em todo o mundo. Vários indicadores mostram que os insectos podem, em breve, ser um alimento amplamente aceite nas dietas das sociedades ocidentais, incluindo a Europa. Do ponto de vista nutricional, as espécies de insectos comestíveis apresentam um perfil de nutrientes bastante equilibrado para responder às necessidades alimentares do ser humano.

Os insectos são um componente natural das dietas de vários animais, tais como peixes carnívoros, aves e suínos, contribuindo com um elevado teor em proteína. A utilização de insectos é já permitida como ingrediente na alimentação em petfood e em aquacultura. Será expectável que a legislação europeia se adapte e permita, dentro em breve, a sua utilização na alimentação de outras espécies animais (aves e suínos).

Os insectos tornar-se-ão uma fonte proteica de elevado valor nutritivo e reduzida pegada ecológica, sobretudo, à sua facilidade de produção, capacidade de adaptação, elevada eficiência e ainda à possibilidade de utilizarem e valorizarem resíduos agro-industriais.

Existem ainda, no entanto, muitos desafios, que o sector trabalha para enfrentar.

Este número especial da RPZ compila os trabalhos inovadores que estão a ser realizados em Portugal nesta área. A APEZ contribui assim, de forma única e inovadora, para a promoção e disseminação desta que é uma área chave da zootecnia nacional e internacional.

É uma honra poder contribuir para a promoção da discussão técnica e científica e para a transferência de conhecimento neste que é um dos desafios que a Zootecnia tem actualmente.

Ana Sofia Santos

(Directora da RPZ)

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

Melo, F.¹, Patarata, L.^{1,2*}, Borges, P.³

¹Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD),

²Centro de Ciência animal e Veterinária (CECAV)

³Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar - IPLeiria

*UTAD, Blocos Laboratoriais, 5001-801 Vila Real, Portugal; lpatarat@utad.pt

INTRODUÇÃO

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

MATERIAL E MÉTODOS

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

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

A contagem de microrganismos foi realizada a partir da diluição de 5 g de amostra em 45 ml de água peptonada tamponada (APT) e a partir da solução obtida foram efetuadas diluições sucessivas em 9 ml da mesma solução. Para apuramento de microrganismos totais mesófilos (MTM), foi efetuada sementeira por incorporação de 1 ml das diluições pertinentes em meio de cultura *plate count agar* (PCA) seguida de incubação a 30 °C durante 72 horas (ISO 4833 de 1991). A contagem de Enterobacteriaceae, foi efetuada sementeira por incorporação de 1 ml das diluições pertinentes em meio de cultura *violet red bile glucose agar* (VRBG) por dupla camada. Incubação a 37 °C, 24 horas (ISO 21528-2 de 2004). A contagem de *Pseudomonas* spp. foi feita de acordo com a ISO 13720 (2010) por sementeira em superfície de meio de cultura *cephaloridin fucidine citrimide agar* (CFC); incubação a 30 °C durante 48 horas. Para as bactérias do ácido láctico (BAL), foi efetuada sementeira por incorporação de 1 ml das diluições pertinentes em meio de cultura *man rogosa sharpe agar* (MRS) por dupla camada. As placas foram incubadas a 30 °C durante 72 horas (ISO 15214, 1998). Para a pesquisa de esporos de clostrídios sulfito-redutores, procedeu-se à inativação das diluições por choque térmico num banho de água a 80 °C durante 10 minutos. Posteriormente, foi efetuada sementeira por incorporação de 1 ml das diluições pertinentes no meio de cultura *iron sulfite agar* (ISA) seguindo-se incubação a 37 °C em anaerobiose durante 5 dias. Todos os resultados das contagens foram expressos em log ufc/g. O efeito do método de conservação na contagem de microrganismos foi feito por análise de variância unidirecional, recorrendo-se ao teste de Tukey, realizado com o programa SPSS 25.0 (SPSS Inc., Chicago). Considerou-se $p < 0,05$ como estatisticamente significativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

Esta microbiota encontrada em insetos é superior à encontrada em carne e pescado frescos, podendo atingir-se contagem daquela ordem de grandeza já no fim da validade (Adams e Moss, 2000). O teor em Enterobacteriaceae, que na carne e outros alimentos é muito utilizado como indicador de higiene, apresenta nos insetos, particularmente em *Acheta domesticus* e em *Zophobas morio* teores que seriam considerados elevados. Comparando os valores do presente trabalho com os referidos no Regulamento CE 1441 de 2007 para critérios de higiene dos processos para carne e produtos derivados – tomando por exemplo as exigências para preparados de carne – só é permitido, de uma amostragem de cinco amostras, ter duas amostras com a contagem de Enterobacteriaceae entre 2,7 e 3,7 log ufc/g, e nenhuma pode ultrapassar aquele limite máximo, sugerindo que os resultados obtidos estão muito longe de poder cumprir estes critérios de higiene. Como possível justificação, pode indicar-se a ausência de evisceração dos insetos que apesar do jejum a que foram submetidos previamente à análise, a amostra incluía conteúdos intestinais, componentes do animal mais contaminadas.

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

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

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

Os resultados do presente trabalho são basicamente confirmatórios do conhecimento já existente sobre microbiota de insetos edíveis, tendo-se observado uma carga microbiana elevada em *Acheta domesticus*, *Tenebrio moloitor* e *Zoophobas morio*. Observou-se que a conservação em congelação, como era esperado, tem uma influência somente muito ligeira viabilidade da microbiota.

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

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, MR & Moss, MO, 2000. Food Microbiology. 2nd Edition. The Royal Society of Chemistry. Cambridge.
- Augusto, PE, Soares, BM, Castanha, N, 2018. Conventional Technologies of Food Preservation. Em F. Barba, A. S. Sant'Ana, V. Orlien, & M. Koubaa, Innovative Technologies for Food Preservation: Inactivation of Spoilage and Pathogenic Microorganisms (pp. 3-23). Oxford, United Kingdom: Elsevier Inc.

- Boziaris, IS & Adams, MR, 2001. Temperature shock, injury and transiente sensitivity to nisin in Gram negatives. *Journal of Applied Microbiology*. 91: 714-724.
- Costa-Neto, EM, 2013. Insects as human food: An overview. *Amazôn. Ver. Antropol.*, 5(3): 562-582.
- EFSA Scientific Committee, 2015. Scientific Opinion on a risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. *EFSA Journal*, 13(10): 4457.
- FAO, 2013. *Edible Insects: future prospects for food and feed security*. Rome, Italy.
- Fraqueza, MJ & Patarata, LA, 2017. Contraints of HACCP Application on Edible Insect for Food and Feed. Em H. Mikkola, *Future Foods* (pp. 89-113). IntechOpen.
- Grabowski, NT & Klein, G, 2017. Bacteria encountered in raw insect, spider, scorpion, and centipede taxa including edible species, and their significance from the food hygiene point of view. *Trends in Food Science & Technology*, 63(80): 90.
- Kwon, YW, Bae, JH, Kim, SA, Han, NS, 2018. Development of freeze-thaw tolerant lactobacillus rhamnosus gg by adaptive laboratory evolution. *Frontiers in Microbiology*, 9: 1-10.
- Stoops, J, Crauwels, S, Waud, M, Claes, J, Lievens, B, Van Campenhout, L, 2016. Microbial community assessment of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) and grasshoppers (*Locusta migratoria migratorioides*) sold for human consumption. *Food Microbiology*.
- Sun-Waterhouse, D, Waterhouse, GIN, You, L, Zhang, J, Liu, Y, Ma, L, 2016. Transforming insect biomass into consumer wellness foods: A review. *FRIN*, 89:129–151.
- van der Fels-Klerx, HJ, Camenzuli, L, Belluco, S, Meijer, N, Ricci, A, 2018. Food Safety Issues Related to Uses of Insects for Feeds and Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(5): 1172-1183

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

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

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

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

ABSTRACT

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

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

KEYWORDS: edible insects; microbiota; freezing

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

Melo, F.¹, Patarata, L.^{1,2*}, Borges, P.³

¹Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD),

²Centro de Ciência animal e Veterinária (CECAV)

³Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – IPLeiria

*UTAD, Blocos Laboratoriais, 5001-801 Vila Real, Portugal; lpatarat@utad.pt

INTRODUÇÃO

Os insetos desempenham um papel fundamental na natureza e na história da nutrição humana, tendo, dessa forma, o potencial de contribuir positivamente para a subsistência e para reduzir a desnutrição numa população global em expansão (Dobermann *et al.*, 2017). Segundo a FAO (2013), são uma fonte de alimento rica em aminoácidos, vitaminas, fibras e minerais, que fornece as quantidades necessárias de energia e proteína. Contudo, de acordo com os valores reportados de pH, humidade e atividade de água (aw), os insetos apresentam um ambiente favorável à sobrevivência e crescimento de microrganismos e, por essa razão, a segurança microbiana deve ser levada em consideração (Fraqueza & Patarata, 2017). As várias formas de deterioração microbiológica são, na grande maioria, evitáveis por meio de uma ampla gama de técnicas de conservação, tradicionalmente aplicadas para inibir ou inativar o crescimento microbiano e prolongar assim, a vida útil de produtos alimentares (Gould, 1996). Entre os métodos de conservação, a secagem ao sol é conhecida por ser um método muito popular na preservação de insetos (Fombong *et al.*, 2017). Durante a operação de secagem, a água dos insetos é removida por evaporação e ocorre uma significativa redução na microbiota por meio de uma diminuição da atividade de água (aw) (Fellows, 2000). Quanto mais elevada a temperatura do processo, maior a redução (Grabowski & Klein, 2017).

Para que os insetos possam contribuir, num futuro próximo, para uma evolução mais sustentável é necessário testar processos de preparação e transformação, provando para diferentes espécies de insetos que esses métodos, assim como os produtos finais são seguros para o consumo humano. Deste modo, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes métodos de desidratação sobre a microbiota natural, não patogénica, nas espécies de inseto *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio*.

MATERIAL E MÉTODOS

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

Foram realizados tratamentos por desidratação em estufa e em forno e liofilização. Na desidratação em estufa as amostras foram dispostas uniformemente em bandejas e colocadas a 25 °C durante 24 horas, utilizando uma estufa de laboratório. Após este período, as amostras foram seladas hermeticamente em sacos de polietileno e armazenadas em temperatura ambiente. Na desidratação em forno as amostras foram dispostas uniformemente em bandejas e colocadas a 60 °C durante 4 horas, utilizando um forno convetor.

Após este período, as amostras foram igualmente seladas e armazenadas em temperatura ambiente. Na liofilização as amostras foram colocadas em tubos falcon e congeladas num ultracongelador a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas e posteriormente liofilizadas em vácuo, a uma temperatura de $-46\text{ }^{\circ}\text{C}$ e pressão 0 bar durante 72 horas.

A contagem de microrganismos foi realizada a partir da diluição de 5 g de amostra em 45 ml de APT (água peptonada tamponada) e a partir da solução obtida foram efetuadas diluições sucessivas em 9 ml da mesma solução. A contagem de microrganismos totais mesófilos (MTM), foi efetuada sementeira por incorporação de 1 ml das diluições pertinentes em meio de cultura PCA (plate count agar) seguida de incubação a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 72 horas (ISO 4833 de 1991). A contagem de *Enterobacteriaceae*, foi efetuada sementeira por incorporação de 1 ml das diluições pertinentes em meio de cultura VRBG (violet red bile glucose agar) por dupla camada. Incubação a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 24h (ISO 21528-2 de 2004). A contagem de *Pseudomonas* spp. foi feita de acordo com a ISO 13720 (2010) por sementeira em superfície de meio e cultura CFC; incubação a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas. A contagem de bactérias do ácido láctico (BAL), foi efetuada sementeira por incorporação de 1 ml das diluições pertinentes em meio de cultura MRS (Man Rogosa Sharpe agar) por dupla camada. As placas foram incubadas a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 72 horas (ISO 15214, 1998). Para a contagem de esporos de clostrídios sulfito-redutores, procedeu-se à inativação das diluições por choque térmico num banho de água a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 10 minutos. Posteriormente, foi efetuada sementeira por incorporação de 1 ml das diluições pertinentes no meio de cultura ISA (Iron Sulfite Agar) seguindo-se incubação a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ em anaerobiose durante 5 dias. Todos os resultados das contagens foram expressos em log ufc/g. O efeito da desidratação na contagem de microrganismos foi feita por análise de variância unidirecional realizada com o programa SPSS 25.0 (SPSS Inc., Chicago), considerando $p < 0,05$ como estatisticamente significativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A desidratação é um processo de conservação que se baseia na redução da atividade da água do alimento. Essa redução tem um efeito essencialmente bacteriostático, podendo ter um efeito bactericida residual. No entanto, se a temperatura usada durante a desidratação for suficientemente elevada, poderá haver uma redução significativa da microbiota por ação do calor. Os resultados do presente trabalho (Quadro 1) apontam nesse sentido, já que a desidratação em forno, como foi realizada a 60°C , contribuiu para a redução da contagem de microrganismos pela ação do calor, dado que essa temperatura já tem um efeito letal assinalável, e para redução da atividade da água. Na desidratação em estufa, realizada a 25°C , não há nenhum efeito direto da temperatura, mas sim da reduzida atividade da água.

Os resultados apontam para um efeito mais letal mais acentuado sobre as bactérias Gram negativas, que são mais sensíveis à reduzida atividade da água (Adams & Moss, 2000). A liofilização foi o processo que melhor preservou os microrganismos. A associação entre a congelação rápida e a sublimação do gelo é uma combinação que protege as células de muitos dos danos que, quer a congelação, quer a desidratação isoladamente inferem às células microbianas (Costa & Ferreira, 1991).

A contaminação inicial da ordem do 7 log ufc/g observada no presente trabalho com *Acheta domesticus* é semelhante à observada por Vandeweyer et al. (2018) com MTM, *Enterobacteriaceae* e BAL. Estes autores

também observaram uma redução considerável da contagem durante a desidratação. Osimani et al. (2018) observaram em larvas de *Tenebrio molitor* criadas em laboratório contagens similares às observadas no presente trabalho no produto fresco.

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

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

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, M.R., Moss, M.O. (2000). Food Microbiology. 2nd Edition. The Royal Society of Chemistry. Cambridge.
- Costa, C. P., Ferreira, M. C. (1991). Preservation of microorganisms – A review. *Revista de Microbiologia*, 22: 263-268
- Dobermann, D., Swift, J. A., Field, L. M. (2017). Opportunities and hurdles of edible insects for food and feed. *Nutrition Bulletin*, 42(4): 293-308
- FAO (2013). Edible Insects: future prospects for food and feed security. Rome, Italy
- Fellows, P. J. (2000). Food processing technology: Principles and practice - Second Edition. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited.
- Fombong, F. T., van der Borght, M., & Broeck, J. V. (2017). Influence of Freeze-Drying and Oven-Drying Post Blanching on the Nutrient Composition of the Edible Insect *Ruspolia differens*. *Insects*, 8(3): 102.
- Fraqueza, M. J., & Patarata, L. A. (2017). Constraints of HACCP Application on Edible Insect for Food and Feed. Em H. Mikkola, *Future Foods* (pp. 89-113). IntechOpen.
- Gould, G. W. (1996). Methods for preservation and extension of shelf life. *Int. J. Food Microbiology*, 33(1): 51-64
- Grabowski, N. T., & Klein, G. (2017a). Bacteria encountered in raw insect, spider, scorpion, and centipede taxa including edible species, and their significance from the food hygiene point of view. *Trends in Food Science & Technology*, 63: 80-90.
- Osimani, A., Milanovic, V., Cardinali, F., Garofalo, C., Clementi, F., Pasquini, M., . . . Aquilanti, L. (2018). The bacterial biota of laboratory-reared edible mealworms (*Tenebrio molitor* L.): From feed to frass. *International Journal of Food Microbiology*, 272: 49-60.
- Vandeweyer, D., Wynants, E., Crauwels, S., Verreth, C., Viaene, N., Claes, J., . . . Van Campenhout, L. (2018). Microbial Dynamics during Industrial Rearing, Processing, and Storage of Tropical House

Crickets (*Grylloides sigillatus*) for Human Consumption. Applied and Environmental Microbiology, 84(12): e00255-18

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

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

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

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

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

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

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

KEYWORDS: edible insects; microbiota; dehydration

CONHECIMENTOS E PERCEÇÕES DO CONSUMIDOR PORTUGUÊS EM RELAÇÃO À ENTOMOFAGIA

Melo, F.¹, Borges, P.³, Patarata, L.^{1,2*}

¹Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD),

²Centro de Ciência animal e Veterinária (CECAV)

³Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar - IPLeiria

*UTAD, Blocos Laboratoriais, 5001-801 Vila Real, Portugal; lpatarat@utad.pt

INTRODUÇÃO

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

O maior obstáculo ao consumo de insetos incide na questão cultural, hábito naturalmente adquirido ao longo das gerações. A cultura, sob a influência do ambiente, da história, da estrutura familiar e crenças religiosas, dos sistemas políticos e económicos, conjuntamente com o esforço humano, define as regras em relação ao que é ou não comestível (Mela, 1999). O objetivo do presente trabalho foi avaliar o conhecimento do consumidor sobre a entomofagia e os seus potenciais benefícios para a saúde e para o ambiente e aferir a sua predisposição para consumir futuramente insetos.

MATERIAL E MÉTODOS

Para avaliar os conhecimentos e percepções do consumidor português face à entomofagia, realizou-se um questionário online, recorrendo à plataforma online (Google Docs) entre 10 e 14 de maio de 2019. Foram recolhidas 419 respostas de consumidores do território nacional (continente e ilhas). O inquérito teve como base os trabalhos de Hartmann et al. (2015), Hartmann & Siegrist (2016), House (2016) e Shelomi (2015) e apresentava 18 questões que incluíam hábitos de consumo de insetos ou de alimentos com insetos como ingrediente, conhecimento genérico sobre aspetos nutricionais e ambientais relacionados com insetos e a atitude dos consumidores face aos benefícios do seu consumo. As questões relativas à intenção e experiência de consumo tinham resposta dicotómica (sim/não) e as inerentes ao conhecimento e atitude face ao consumo resposta numa escala de Likert de 5 pontos, variando entre o “discordo completamente” e o “concordo completamente” ou entre o “nunca consumiria” e o “certamente consumiria”.

A amostra de consumidores, foi composta por 67,5% de mulheres, com uma idade média de $33,7 \pm 12,4$ anos, variando entre os 18 e os 85 anos. A proporção de estudantes universitários na amostra foi de 23,2%. A consistência interna do questionário foi avaliada através do alfa de Chronbach e a sua estrutura interna avaliada por análise fatorial. Foram identificadas duas perguntas com padrão de resposta que foge à estrutura da escala revelados pelo seu contributo individual para o indicador de confiabilidade e pela sua ausência de relação com as duas componentes da escala definidas, revelada por pesos fatoriais da ordem dos 0,1 ou menores. Assim, após a retirada daqueles dois itens a escala apresentou um alfa de Cronbach de 0,91, considerado excelente. A estrutura da escala ficou definida com as duas dimensões utilizadas no planeamento uma relacionada com o conhecimento consumidor, e outra com a atitude face ao consumidor, sabendo qual o benefício nutritivo ou ambiental. A análise de dados foi realizada com o programa SPSS 25.0, recorrendo-se ao teste de Tukey (SPSS Inc., Chicago). Considerou-se $p < 0,05$ como estatisticamente significativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

Os motivos apontados para a reduzida predisposição para consumir foram essencialmente “Tenho nojo/repugnância” (75,9%) e “Tenho medo de transmissão de doenças” (27%). Os conhecimentos do consumidor são medianos, como se observa pelos valores médios de resposta ligeiramente superiores ao centro da escala (Quadro 1). Há, porém, um grande desvio, indicando que há no consumidor uma grande variabilidade de conhecimentos. Para além do facto de haver consumidores que não sabem que a entomofagia é uma prática alimentar com tendência a aumentar, observou-se que os conhecimentos sobre o valor nutritivo e sobre a pegada ecológica da produção de insetos eram variáveis, havendo consumidores que não estavam minimamente sensibilizados para esses aspetos. Dada a associação que na

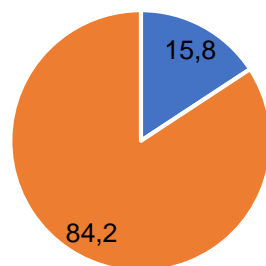
cultura ocidental se faz entre insetos e sujidade, alguns consumidores acreditam que os insetos podem ser menos seguros para a saúde que a carne.

Quando se perguntou ao consumidor se estaria disposto a consumir insetos tendo em consideração algumas vantagens do seu consumo, quer nutritivas quer ambientais, o padrão de respostas foi semelhante ao observado com o conhecimento, mas havendo desvios maiores, que refletem a atitude dos consumidores que, independentemente das vantagens não estão dispostos a consumir insetos ou produtos em que sejam usados como ingrediente.

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

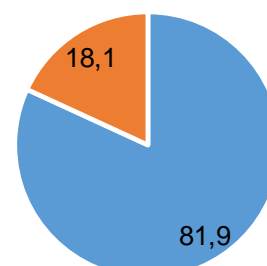
Quando se observa a resposta dos consumidores relativa à intenção e consumo de um produto apresentado em fotografia, revela-se a importância da repugnância do consumidor face ao inseto em si, pois a disposição para consumir “*Acheta domesticus* (na fotografia)” foi somente $2,6 \pm 2,4$, enquanto para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

Conhece "entomofagia"



■ Não ■ Sim

Já comeu insetos ou produtos com insetos"



■ Não ■ Sim

FIGURAS 1. Proporção de consumidores com conhecimento prévio de entomofagia e que já experimentaram insetos

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

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

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

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Costa-Neto, EM, 2013. Insects as human food: An overview. *Amazôn. Rev. Antropol.*, 5(3): 562-582
- Dobermann, D, Swift, JA, Field, LM, 2017. Opportunities and hurdles of edible insects for food and feed. *Nutrition Bulletin*, 42(4): 293-308
- FAO, 2010. *Edible Forest Insects: humans bite back*. Bangkok, Thailand
- FAO, 2013. *Edible Insects: future prospects for food and feed security*. Rome, Italy
- Gmuer, A, Guth, JN, Hartmann, C, Siegrist, M, 2016. Effects of the degree of processing of insect ingredients in snacks on expected emotional experiences and willingness to eat. *Food Quality and Preference*, 54, 117–127.
- Hartmann, C, & Siegrist, M, 2016. Becoming an insectivore: Results of an experiment. *Food Quality and Preference*, 51: 118-122.

- Hartmann, C, Shi, J, Giusto, A, Siegrist, M, 2015. The psychology of eating insects: A cross-cultural comparison between Germany and China. *Food Quality and Preference*, 44: 148-156.
- House, J, 2016. Consumer acceptance of insect-based foods in the Netherlands: Academic and commercial implications. *Appetite*, 107: 47-58.
- Mela, DJ, 1999. Food choice and intake: the human factor. *Proc. Nutr. Soc.*, 58: 53-521
- Raheem, D, Carrascosa, C, Oluwole, OB, Nieuwland, M, Saraiva, A, Millán, R, Raposo, A, 2018. Traditional consumption of and rearing edible insects in Africa, Asia and Europe. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*
- Shelomi, M, 2015. Why we still don't eat insects: Assessing entomophagy promotion through a diffusion of innovations framework. *Trends in Food Science & Technology*, 34(2): 311-318.
- Tao, J & Li, YO, 2018). Edible Insects as a means to address global malnutrition and food insecurity issues. *Food Quality and Safety*, 2(1): 17-26
- Tommila, S & Ziehensack, J, 2017. Bug Appétit! (Master's Thesis). Jönköping University

KNOWLEDGE AND PERCEPTIONS OF THE PORTUGUESE CONSUMER IN RELATION TO ENTOMOPHAGY

ABSTRACT

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

KEYWORDS: entomophagy; neophobia; consumers

EFFECT OF SUBSTRATE COMPOSITION ON GROWTH PERFORMANCE AND BODY COMPOSITION OF TENEBRIO MOLITOR LARVAE

Barbarroxa, R.^{2,*}, Lourenço, A.^{1,2}

¹ Centre of Animal and Veterinary Science (CECAV)

² Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal

*rb.zootecnica@gmail.com

INTRODUCTION

The *Tenebrio molitor* larvae has high potential as a sustainable alternative to the current feed and food products. It has a feed conversion efficiency comparable to poultry and pigs (van Broekhoven et al., 2015). It is 100% edible (van Broekhoven et al., 2015). Its production has low global warming potential, reduced land use (Oonincx & De Boer, 2012) and low water footprint (Miglietta et al., 2015). It can use organic wastes as feed and it can convert feed protein and fat with a two-fold and a five- to six-fold increase (Ramos-Elorduy et al., 2002). Furthermore, recent studies show *T. molitor* can degrade plastics (polystyrene, polyvinyl chloride, polylactide, polyurethane, and polyethylene) due to its gut microbiome (Yang et al., 2015a, 2015b; Božek et al., 2017; Chen, 2017; Ho et al., 2017; Leluk et al., 2017; Yang et al., 2017).

This study aimed to evaluate the growth performance and final body composition of *T. molitor* larvae produced with different substrates: wheat bran, soy hulls, guar churi, and polystyrene.

MATERIAL AND METHODS

The larvae of *T. molitor* were produced from egg till the 67th day with wheat bran as sole substrate. These larvae were then divided in 24 groups of $2.4\text{g} \pm 0.01\text{g}$ and randomly distributed over 24 plastic trays of $2,430\text{ cm}^3$ (27 x 15 x 6 cm) with four different substrates: wheat bran, soy hulls, guar churi, and polystyrene (6 experimental units each). The larvae were incubated (FitoClima S 600 PLH) with no light, an average temperature of 26.9°C and a relative humidity of 70.1%.

This study ended when the larvae started moulting into pupae, at the 59th day. At the end of the study the larvae were separated from the substrates by sieving with 2.36mm, 1.18mm, 600µm, 500µm, and 300µm sieves. Then, the larvae were weighed on a precision scale (ABT 220-4M, Kern) per experimental unit, as a group.

The substrates and final larvae crude protein, crude fat, crude fibre and ash were determined following standard methods (AOAC, 1990). However, the final larvae crude protein and crude fibre composition were determined from previously defatted samples, and the crude fat analysis was performed with an average of 3.0 g for wheat bran and soy hulls treatment, with an average of 1.5 g for polystyrene treatment and an average of 0.6 g for guar churi treatment, according to the amount (g) of larvae available per treatment.

The effect of the substrates in the final larvae weight and chemical composition values were tested with analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey test at a significance level of 5%, executed with data analysis software JMP®, version 7.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

The carbohydrate concentration of the substrates above 50% (Table 1) did fulfil the recommendations of Martin & Hare (1942) but was much lower than the 80% recommended by Fraenkel (1950).

The crude protein concentration of the substrates was within the recommended values of 15 - 25%, except the guar churi that surpassed the upper limit (Table 1). Martin & Hare (1942) didn't refer a benefit of a higher concentration of protein for the larval growth and development, furthermore it's important to notice that it was identified a contamination of the guar churi with *Aeromonas sp.* and as so the bacteria might have contributed to the high protein content of this substrate.

The fat content recommendation was only fulfilled by the wheat bran substrate at the limit of the 3% (Table 1), whereas soy hulls and guar churi surpassed the 3%, and so some growth inhibition might have occurred according with Martin & Hare (1942).

There were no significant differences between the weight of the larvae used to colonize the substrates, but the larvae weight obtained at the end of this study was significantly different among treatments ($P < 0.001$, Table 2). The wheat bran treatment resulted in faster larval growth. The wheat bran was the substrate that more closely fulfilled the recommendations. However, the differences among substrates in the chemical composition analysed do not fully explain the differences in larval weight. Thus, a more detailed analysis would be required to assess the amino acids, fatty acids, vitamins, and minerals profile, in order to identify the nature of the growth factors. An α -amylase inhibitor and a β -amylase naturally present in the wheat bran were suggested to have a major role on the suitability of this bran for the *T. molitor* production (Applebaum, 1964), thus these factors should be specifically analysed in all substrates.

The differences in larvae maturation might explain their water, protein and fat content differences among substrates. All larvae had the same age, but development and growth are influenced by the diet composition (Martin & Hare, 1942). In mammals, younger animals present higher water and protein content, and a lower fat content and the proportion reverses as the animals grow older. Thus, the larvae from different substrates could be at different development stages. Since wheat bran larvae presented lower water and protein content and higher fat content (Table 3), by analogy this would imply a higher level of maturation. On the contrary, soy hulls, guar churi and polystyrene larvae had higher water and protein content, and lower fat content (Table 3), showing the same profile as mammals at younger age.

For further investigations, it would be interesting to study the tissue deposition along the larvae development to establish a growth and development curve, similar to what exists for other species, such as mammals.

REFERENCES

- AOAC, 1990. Washington, DC, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- Applebaum, S. W. (1964). *J Insect Physiol*, 10(6), 897-906
- Božek, M., Hanus-Lorenz, B., & Rybak, J. (2017). Paper presented at the E3S Web of Conferences.
- Chen, J. (2017). *J Environ Sci Ecol Design*, 1(1), 10-10.
- Fraenkel, G. (1950). *Physiol Zool*, 23(2), 92-108.
- Ho, B. T., Roberts, T. K., & Lucas, S. (2017). *Critical Reviews in Biotechnology*, 1-13.
- Leluk, K., Hanus-Lorenz, B., Rybak, J., & Božek, M. (2017). Paper presented at the E3S Web of Conferences.
- Martin, H. E., & Hare, L. (1942). *The Biological Bulletin*, 83(3), 428-437.
- Miglietta, P. P., De Leo, F., Ruberti, M., & Massari, S. (2015). *Water*, 7(11), 6190-6203.
- Oonincx, D., & De Boer, I. J. (2012). *PLoS One*, 7(12), e51145.
- Ramos-Elorduy, J., González, E. A., Hernández, A. R., & Pino, J. M. (2002). *J Econ Entomol*, 95(1), 214-220.
- van Broekhoven, S., Oonincx, D. G., van Huis, A., & van Loon, J. J. (2015). *J Insect Physiol*, 73, 1-10.
- Yang, S.-S., Brandon, A. M., Flanagan, J. C. A., Yang, J., Ning, D., Cai, S.-Y., Fan, H.-Q., Wang, Z.-Y., Ren, J., & Benbow, E. (2017). *Chemosphere*.
- Yang, Y., Yang, J., Wu, W. M., Zhao, J., Song, Y., Gao, L., Yang, R., & Jiang, L. (2015a). *Environ Sci Technol*, 49(20), 12080-12086.
- Yang, Y., Yang, J., Wu, W. M., Zhao, J., Song, Y., Gao, L., Yang, R., & Jiang, L. (2015b). *Environ Sci Technol*, 49(20), 12087-12093.

Table 1

By-products substrate chemical composition (on as is basis) and recommendations for optimum larval growth (Martin & Hare, 1942, Fraenkel, 1950).

	Chemical Composition (%)		
	Carbohydrate	Crude Protein	Crude Fat
Wheat bran	62.59	14.94	2.59
Soy hulls	66.66	12.66	3.52
Guar churi	52.03	29.43	3.61
Recommendations	50-80%	15-25%	< 3%

Table 2*Growth performance (g) of the T. molitor larvae.*

Treatment	Weight (g)	
	Total	
	Initial	Final
Wheat bran	2.44 ^a	57.44 ^a
Soy hulls	2.44 ^a	9.93 ^b
Guar churi	2.44 ^a	1.60 ^d
Polystyrene	2.43 ^a	2.77 ^c
Standard Error	0.004	0.259
Effect	NS	***
Prob > F	0.243	0.001

Levels not connected by the same letter are significantly different accordingly to Tukey test ($P > 0,05$);

** $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; NS = Not significant*

Table 3Body composition of *T. molitor* larvae per treatment; Mean \pm SME

Treatment	Chemical Composition (%)					
	Dry matter	Dry matter basis				
		Organic matter	Crude Fat	Crude Protein	Crude Fibre	Ash
Wheat bran	34.59 ^a ± 0.094	95.96 ^a ± 0.069	29.56 ^a ± 4.908	47.07 ^c ± 1.727	3.37 ^a ± 1.48	4.04 ^d ± 0.069
Soy hulls	17.27 ^c ± 0.094	92.72 ^b ± 0.069	4.26 ^a ± 4.908	64.89 ^a ± 1.727	5.43 ^a ± 1.48	7.28 ^c ± 0.069
Guar churi	17.05 ^c ± 0.133	88.09 ^c ± 0.098	6.40 ^a ± 4.908	57.61 ^{ab} ± 1.727	5.58 ^a ± 2.56	11.91 ^b ± 0.098
Polystyrene	18.77 ^b ± 0.133	86.86 ^d ± 0.098	11.63 ^a ± 4.908	54.89 ^{bc} ± 1.727	7.86 ^a ± 1.81	13.14 ^a ± 0.098
Effect	***	***	NS	**	NS	***
Prob > F	0.001	0.001	0.067	0.009	0.388	0.001

Levels not connected by the same letter are significantly different accordingly to Tukey test ($P > 0,05$);

** $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; NS = Not significant*

ABSTRACT

The *Tenebrio molitor* has potential as a sustainable alternative to the current feed and food products. Additionally, their gut microbiome can degrade plastics. The aim of the present work is to evaluate the growth performance and the final body composition of *Tenebrio molitor* larvae when produced with wheat bran, soy hulls, guar churi and polystyrene. *T. molitor* young larvae were distributed over the four different substrates (6 experimental units each) and incubated with no light, at an average temperature of 26.9°C and a relative humidity of 70.1%. The study ended after 59 days when the larvae started moulting into pupae. The wheat bran treatment resulted in a better larval growth ($P < 0.001$) and the wheat bran larvae presented higher dry matter ($P < 0.001$) and fat content ($P < 0.067$), and lower protein content ($P < 0.05$),

KEYWORDS: *Tenebrio molitor*, by-products, polystyrene, body composition

ESTIMATIVA DA MASSA (MG) DAS LARVAS DE *TENEBRIO MOLITOR* (COLEÓPTERA, TENEBRIONIDAE): EFEITO DA VARIAÇÃO DA DIETA

Sara Filipa Silva Cardoso², Teresa Letra Mateus^{2,3}, Júlio César Lopes^{1,2}

¹ CISAS - Center for Research and Development in Agrifood Systems and Sustainability, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Portugal.

² Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios do Lima, Portugal

³ EpiUnit, Unidade de Investigação em Epidemiologia, Instituto de Saúde Pública da Universidade do Porto, Porto, Portugal

INTRODUÇÃO

De acordo com o último relatório do International Platform of Insects for Food and Feed (2019), a maior parte dos componentes que fazem parte da constituição das rações utilizadas para alimentar os animais de produção são importados de países fora do espaço europeu e o mesmo relatório afirma que a procura por produtos de origem animal aumentará para mais do dobro até 2050. Para alimentar a crescente população mundial precisamos de ser mais eficientes despertando para a produção de novas fontes de proteína, que ocupem menos área, diminuam a quantidade de gases libertados com efeito de estufa, consumam menos recursos hídricos e menos recursos alimentares sendo a produção de insetos uma solução aceitável (Huis *et al.*, 2013). O *Tenebrio molitor* é um inseto que pertence à família *Tenebrionidae* da ordem *Coleoptera*. Apresenta um holometabolismo (metamorfose completa) dividido em quatro fases: fase embrião (ovos), a fase larvar, a fase de pupa e a fase adulta (escaravelho) (Spang, 2013). As suas larvas atingem aproximadamente 2,5 a 3 cm de comprimento e sensivelmente 0,2 g (Feng, 2018). Embora a dieta à base de farelo de trigo seja a mais utilizada para a sua produção alguns produtores têm usado dietas alternativas tais como rações para aves poedeiras (Menezes *et al.*, 2014). Não existem até ao momento dados relativos ao desempenho zootécnico na produção de larvas de *Tenebrio* que permitam optar por procedimentos de produção que maximizem a rentabilidade do processo pretendeu-se com o presente trabalho avaliar o efeito de diferentes dietas sobre o crescimento das larvas através de indicadores como o Ganho Médio Diário ($\text{mg}\cdot\text{dia}^{-1}$ e $\text{mm}\cdot\text{dia}^{-1}$) e Taxa de Crescimento ($\text{mg}\cdot\text{dia}^{-1}$ e $\text{mm}\cdot\text{dia}^{-1}$).

MATERIAL E MÉTODOS

Este ensaio consistiu na criação de quatro grupos compostos por 150 larvas cada um, alimentados com 4 dietas diferentes, nas mesmas condições de temperatura e humidade. Realizaram-se 3 repetições para cada dieta, sendo retirados, semanalmente, de modo aleatório 30 espécimes de cada repetição para pesagem, numa balança de precisão de 4 casas decimais e medição através de um software (*ImageJ*®). No início dos ensaios as larvas tinham 2 semanas de idade, tendo sido mantidos os ensaios até ao aparecimento da primeira pupa, sendo pesadas as larvas restantes para determinação da massa final (mg). As caixas com as larvas dos respetivos testes foram monitorizadas diariamente, de manhã e à noite, para administração de água e para detetar a mudança da fase de larva para pupa. As composições das dietas utilizadas e o respetivo valor nutricional estão apresentados no *Quadro 1*.

Para a caracterização do crescimento (massa e comprimento) das larvas de *Tenebrio* foi utilizado o modelo de ajuste de curva de crescimento ($GMD = e^{((B_0 + B_1 \cdot t))}$), incorporado no pacote estatístico SPSS® V.23 onde, B_0 significa a massa inicial ou comprimento inicial, B_1 o incremento diário de massa ou comprimento e t a idade em dias. Os parâmetros estimados para as curvas de crescimento das larvas de *Tenebrio molitor*, de acordo com a dieta, encontram-se no *Quadro 2*. Foi calculada a taxa de crescimento através da primeira derivada da equação exponencial de caracterização do crescimento. Foram correlacionados os parâmetros de comprimento e massa das larvas de acordo com a dieta utilizada. Os ensaios foram realizados no período correspondente entre 27 de junho e 15 agosto de 2018 e a temperatura e humidade relativa média registadas foram 30,8°C e 62,9% respetivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram observadas diferenças significativas na massa média inicial (mg) das larvas utilizadas neste ensaio. Contudo a massa média final (mg) variou significativamente consoante a dieta com que as larvas foram alimentadas, as larvas da dieta B apresentaram uma massa média final superior a todas as outras dietas ($143,50 \pm 10,35$ mg.larva⁻¹) e as larvas alimentadas com a dieta A apresentaram a pior massa média final ($77,83 \pm 12,71$ mg.larva⁻¹). Não foram observadas diferenças significativas na massa média final (mg) entre as dietas C e D. Em relação ao comprimento inicial existiram diferenças significativas entre as larvas da dieta D e as larvas das restantes dietas, sendo as larvas da dieta D mais compridas. Em relação ao comprimento final apenas não existiram diferenças significativas entre as larvas alimentadas com as dietas D e A existindo diferenças significativas entre todas as restantes dietas, sendo a dieta B a que apresentou larvas mais compridas ($25,20 \pm 2,23$ mm.larva⁻¹) e a dieta A a que apresentou larvas mais curtas ($19,80 \pm 3,69$ mm.larva⁻¹). Os resultados obtidos neste ensaio com larvas da dieta D, em relação ao comprimento final das larvas, revelam que foram obtidos valores superiores em relação a outros estudos já realizados com outras dietas em *Tenebrio molitor* tal como o de Park *et al.* (2014). Os melhores resultados finais foram obtidos com as larvas alimentadas com a dieta B, em massa (mg) e comprimento (mm).

O GMD (mg) das larvas alimentadas com quatro dietas variou significativamente entre as dietas A ($2,30 \pm 0,86$ mg.dia⁻¹) e B ($4,50 \pm 0,96$ mg.dia⁻¹) e entre as dietas B ($4,50 \pm 0,96$ mg.dia⁻¹) e D ($2,80 \pm 0,78$ mg.dia⁻¹). Em relação ao GMD (mm.dia⁻¹), as larvas alimentadas com a dieta B alcançaram crescimentos significativamente superiores ($0,71 \pm 0,08$ mm.dia⁻¹) às larvas alimentadas com as restantes dietas. Através do modelo para estimativa do GMD observou-se não existem diferenças significativas para o parâmetro B_0 , porém existem diferenças significativas no parâmetro B_1 entre dietas para a massa das larvas sendo que para o comprimento foram observadas diferenças significativas para o parâmetro B_0 entre a dieta B e as restantes dietas e para o parâmetro B_1 apenas não existem diferenças significativas entre as dietas C e D. Pode-se constatar também, que a dieta B conseguiu atingir melhores resultados de massa (mg) e comprimento (mm) em menos dias que as restantes dietas analisadas (*Fig.1*). Como se pode constatar no *Quadro 3*, a massa e o comprimento das larvas de *Tenebrio molitor* tem uma correlação altamente significativa em todas as dietas estudadas permitindo a construção de curvas de estimativa do crescimento (mg) das larvas através do seu comprimento (mm) (*Fig.2*).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- IPIFF; 2019. *The European Insect sector today: challenges. Opportunities and Regulatory Landscape*. IPIFF vision paper on the future of the insect sector towards 2030.
- Huis, A; Itterbeeck, J; Klunder, H, Mertens, E; Halloran, A; Muir, G; Vantomme, P.; 2013. *Edible insects*. Future prospects for food and feed security. FAO.
- Spang, B; 2013. *Insects as food: Assessing the food conversion efficiency of the mealworm (Tenebrio molitor)*. Master of Environmental Studies. The Evergreen State College.
- Menezes, C; Camilo, S; Fonseca, A; Júnior, S; Bispo, D; Soares, M; 2014. A dieta alimentar da presa *Tenebrio molitor* (Coleoptera Tenebrionidae) pode afetar o desenvolvimento do predador *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Agricultural Entomology*. V. 81. 250-256 pp.
- Park, J; Choi, W; Kim, S; Jin, H; Han, Y. Lee, Y. Kim, N, 2014. Developmental characteristics of *Tenebrio molitor* larvae () in different instars. *The Korean Society of Sericultural Sciences*. V.28. 5-9 pp

Agradecimentos: Trabalho suportado pelo projeto “Modelo técnico de produção intensiva de rã, *Rana perezi* (*Pelophylax perezi*)” - MAR2020 - MAR-02.01-FEAMP-0087- *Rana perezi*, financiado pelo Fundo Europeu dos Assuntos Marítimos e das Pescas.

Quadro 1. Composição e valor nutricional das 4 dietas utilizadas para avaliar o desenvolvimento das larvas de *Tenebrio molitor*.

Dieta	Composição	Valor Nutricional*				
		% MS				MJ/kg MS
		PB	FB	NDF	GB	EB
A	80% Trigo + 20% Soja	17,88	2,99	12,08	1,53	16,13
B	40% Cevada + 40% Milho + 20% Soja	16,46	3,85	16,46	2,53	16,46
C	40% Aveia + 40% Trigo + 20% Soja	17,36	6,97	19,73	2,84	16,65
D	40% Trigo + 40% Milho + 20% Soja	16,74	2,95	11,46	2,43	16,25

*Valores de referência. PB- Proteína Bruta, FB-Fibra Bruta, NDF-Fibra Detergente Neutra, GB-Gordura Bruta, EB- Energia Bruta.

Quadro 2. Parâmetros estimados para a curva de crescimento das larvas de *Tenebrio molitor* de acordo com a dieta.

Dieta	Massa (mg.dia ⁻¹)		Comprimento (mm.dia ⁻¹)	
	B ₀	B ₁	B ₀	B ₁
A	0,30366 ^a	0,07465 ^a	1,81481 ^a	0,02155 ^a
B	-0,79598 ^a	0,14362 ^b	1,41205 ^b	0,04599 ^b
C	0,07528 ^a	0,10447 ^c	1,63727 ^a	0,03409 ^c
D	-0,19327 ^a	0,10490 ^d	1,69883 ^a	0,02976 ^c

Letras diferentes na mesma coluna significam existirem diferenças significativas (p<0,05) entre as dietas.

Quadro 3. Correlações entre massa, comprimento e idade em função da dieta.

	C_A	C_B	C_C	C_D	I	P_A	P_B	P_C	P_D
C_A	1					0,892**			
C_B		1					,965**		
C_C			1					,946**	
C_D				1					,944**
I	0,881**	,917**	,905**	,900**	1	0,763**	,853**	,880**	,853**

C- Comprimento (mm), P- Massa (mg), I- Idade (dias). - *(p<0,05); **(p<0,01) e ***(p<0,001)

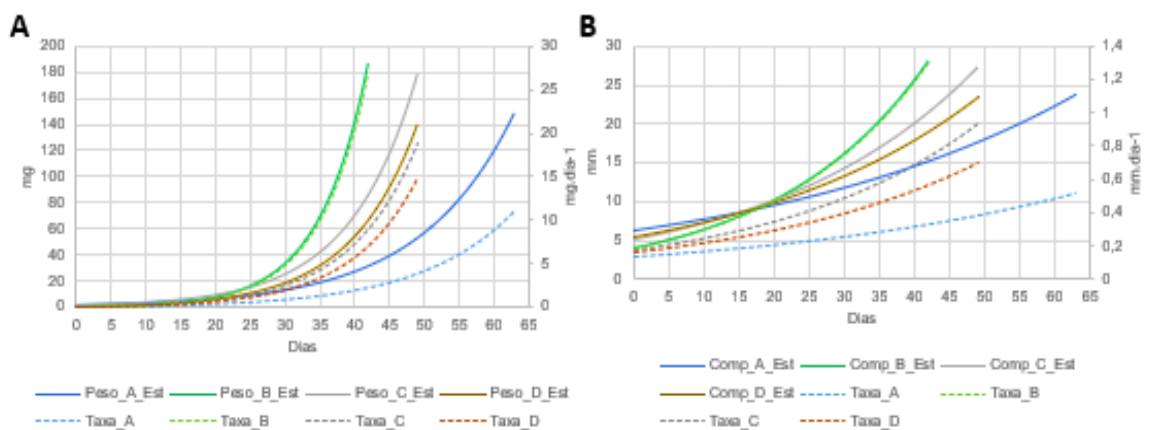


Figura 1. Evolução da massa (mg) (A) e do comprimento (mm) (B) das larvas de *Tenebrio molitor* para as quatro dietas estudadas (estimado e taxa de crescimento).

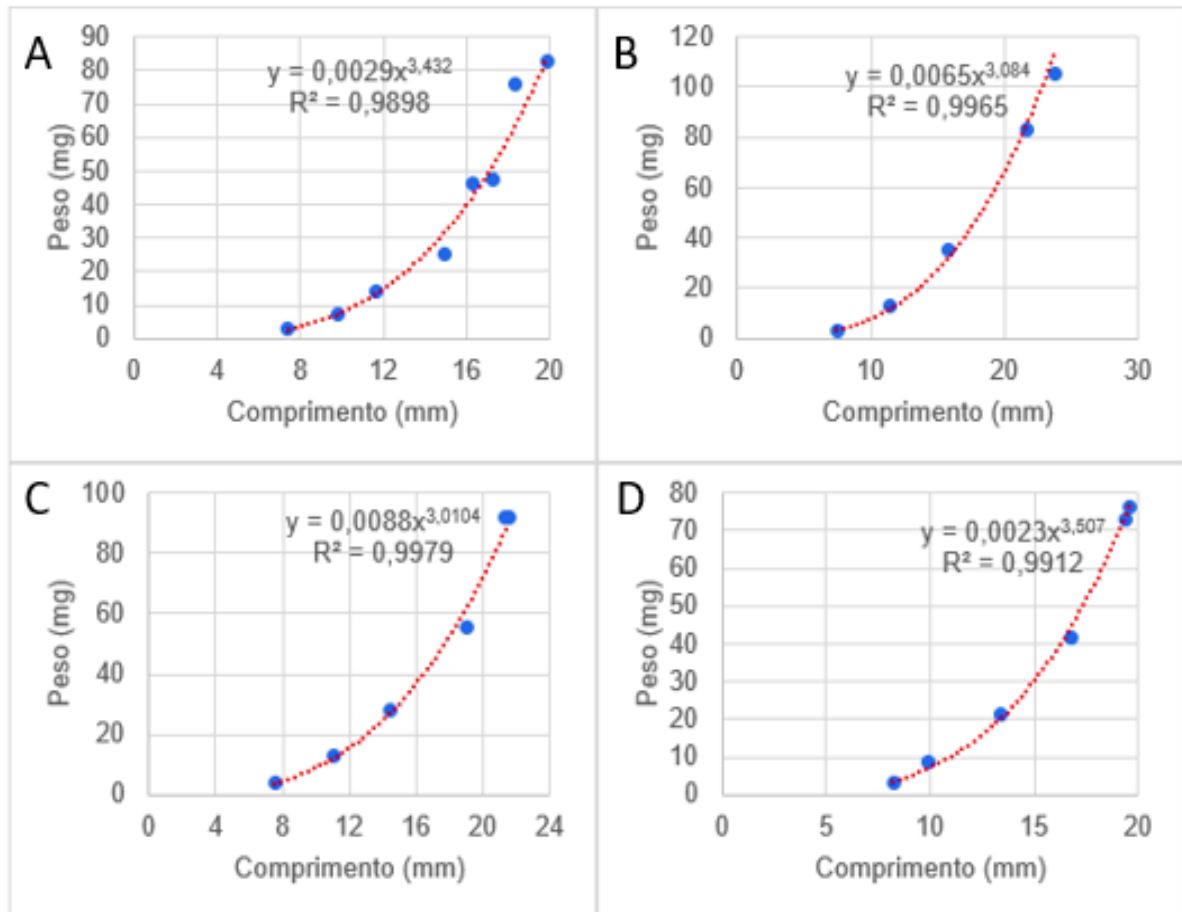


Figura 2. Correlação entre comprimento (mm) e massa (mg) das larvas de *Tenebrio molitor* para as dietas estudadas.

ABSTRACT

Insects are a possible source of protein that can be included in animal feeds. The objective of this work was to evaluate the effect of different diets on larvae growth through indicators such as Average Daily Gain ($\text{mg}\cdot\text{day}^{-1}$ and $\text{mm}\cdot\text{day}^{-1}$) and Growth Rate ($\text{mg}\cdot\text{day}^{-1}$ and $\text{mm}\cdot\text{day}^{-1}$). This work was carried out at the ESA-IPVC, in a room with controlled temperature (30.8°C) and humidity conditions (62.9%). The best results were obtained with larvae fed with diet B, in mass (mg) and length (mm), and it was also diet B that was able to reach the best results of mass (mg) and length (mm) test with the best GMD.

Keywords: diet, nutrition, larval development, yellow mealworm, *Tenebrio molitor*

EFEITO DA DIETA SOBRE OS RESULTADOS BIOMÉTRICOS DOS ESCARAVELHOS DE TENEBRIO MOLITOR (COLEÓPTERA, TENEBRIONIDAE)

Sara Filipa Silva Cardoso², Teresa Letra Mateus^{2,3}, Júlio César Lopes^{1,2}

¹ CISAS - Center for Research and Development in Agrifood Systems and Sustainability, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Portugal.

² Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios do Lima, Portugal

³ EpiUnit, Unidade de Investigação em Epidemiologia, Instituto de Saúde Pública da Universidade do Porto, Porto, Portugal

INTRODUÇÃO

As larvas de *Tenebrio* são das poucas espécies de insetos que são produzidas em massa comercialmente. Foram introduzidos no mercado dos exóticos para alimento vivo dos animais de estimação no final de 1970 (Heckmann et al. 2018). Esta espécie foi apontada como um potencial substituto para fontes de proteína animal em formulações para rações de animais (Barroso et al. 2014).

A espécie *Tenebrio molitor* apresenta um ciclo de vida dividido em quatro fases distintas: ovo, larva, pupa e escaravelho (Ghaly eAlkoaik ,2009). O escaravelho adulto eclode com uma cor esbranquiçada escurecendo gradualmente para o marrom-avermelhado e por fim para o preto e têm aproximadamente 15mm de comprimento (Spang, 2013) O acasalamento ocorre dentro de alguns dias e repete-se ao longo da vida dos adultos (Ghaly eAlkoaik, 2009). A expectativa de vida de um escaravelho é de dois a três meses (Spang,2013). O mesmo autor refere que a duração de todo o ciclo de vida da espécie *Tenebrio molitor* pode variar entre 280 a 630 dias, em função das condições de produção. O substrato padrão de desenvolvimento desta espécie é constituído por farelo de trigo ou alimento composto para aves (Menezes et al., 2014). Não existem até ao momento dados relativos ao desempenho zootécnico na produção de larvas de *Tenebrio* que permitam optar por procedimentos de produção que maximizem a rentabilidade do processo tornando-se evidente a necessidade de arranjar técnicas de produção a uma escala mais industrial por isso o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes dietas sobre o peso e as medidas biométricas dos escaravelhos da espécie *Tenebrio molitor*.

MATERIAL E MÉTODOS

Este ensaio consistiu na criação de 4 grupos compostos por 150 larvas de *Tenebrio molitor* cada um, alimentados com 4 dietas diferentes, nas mesmas condições de temperatura ($27 \pm 1^\circ\text{C}$) e humidade ($48,8 \pm 5,7\%$) e decorreram no período de 15 de outubro de 2018 a 21 de janeiro de 2019. Realizaram-se 3 repetições para cada dieta estudada. Os ensaios começaram quando as larvas tinham 2 semanas. As larvas foram pesadas e medidas no momento inicial do ensaio e após 30 dias. Registou-se o número de dias que as primeiras 45 pupas, de cada repetição e de cada teste, demoraram a atingir esta fase, num total de 540 pupas. De seguida, estas pupas eram colocadas em compartimentos individuais até ao dia em que emergia o escaravelho. Era registado o dia da emergência do escaravelho e 24 h após a emergência do escaravelho,

depois da coloração deste ter atingido a tonalidade preta, este era pesado individualmente, registava-se o género e realizava-se as medições biométricas, individuais, que consistiam no comprimento do corpo (**CP**), largura do corpo (**LC**), comprimento do tórax (**CT**), largura do tórax (**LT**), comprimento da cabeça (**Cc**) e largura da cabeça (**Lc**) (Fig.1) com recurso a um software informático (**ImageJ**[®]).

As caixas com as larvas dos respetivos testes foram monitorizadas diariamente, de manhã e à noite, para administração de água e para detetar a mudança da fase de larva para pupa e de pupa para escaravelho. Foram registados os escaravelhos que nasceram mortos ou com deficiências e estes animais não contaram para as médias finais do ensaio.

As composições das dietas utilizadas e o valor nutricional respetivo estão apresentadas no *Quadro 1*. Os dados foram analisados mediante análises de Modelos lineares univariados recorrendo ao programa estatístico SPSS[®] V.23.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste ensaio demonstram que as larvas alimentadas com a dieta B deram origem a escaravelhos significativamente menos pesados ($118,8 \pm 16,1$ mg) quando comparados com as restantes dietas (dieta A – $129,1 \pm 15,9$ mg, dieta C – $125,9 \pm 15,5$ mg e dieta D – $125,5 \pm 14,3$ mg). Em relação às medidas biométricas os escaravelhos da dieta B têm significativamente um comprimento do corpo ($12,3 \pm 1,3$ mm), uma largura do corpo ($6,3 \pm 0,06$ mm), uma largura do tórax ($5,4 \pm 0,6$ mm), um comprimento do tórax ($3,6 \pm 0,6$ mm) e uma largura da cabeça ($3,0 \pm 0,3$ mm) menores que as restantes dietas (Fig. 2). A duração do período de estado larvar ($p < 0,01$) e a duração do período de metamorfose ($p < 0,05$), passagem de pupa para escaravelho, têm uma correlação positiva no peso do escaravelho. O peso das pupas ($p < 0,01$) também têm uma correlação positiva no peso do escaravelho. Por outro lado, a duração do período larvar tem uma influência positiva no comprimento do corpo ($p < 0,001$), na largura do corpo ($p < 0,001$), na largura do tórax ($p < 0,001$) e na largura da cabeça ($p < 0,001$) dos escaravelhos. A duração do período de metamorfose tem uma correlação positiva na largura do tórax ($p < 0,05$) e na largura da cabeça ($p < 0,01$). Das 540 pupas iniciais obtiveram-se 198 fêmeas, 308 machos e 34 escaravelhos inválidos (mortos ou que apresentavam alguma deficiência). O teste A foi o que apresentou maior percentagem de inválidos (10,37%), seguido do teste C (7,41%), do teste D (5,19%) e por fim do teste B (2,22%) (Fig 2.).

Na dieta A emergiram 59,3% de escaravelhos machos e 30,4% de escaravelhos fêmeas, na dieta B emergiram 54,8% de escaravelhos machos e 43,0% de escaravelhos fêmea, na dieta C emergiram 61,5% de escaravelhos machos e 31,1% de fêmeas e na dieta D emergiram 52,6% de machos e 42,2% de escaravelhos fêmeas. Em média, para todas as dietas estudadas o peso das fêmeas ($127,7 \pm 5,4$ mg) foi superior ao dos machos ($123,0 \pm 5,7$ mg) Verificou-se ainda que a dieta B foi aquela que obteve os resultados mais baixos para ambos os géneros, com machos a pesar $115,5 \pm 1,8$ mg e as fêmeas com $122,9 \pm 1,0$ mg e a dieta A foi aquela que apresentou os melhores resultados ao nível do peso com machos a pesar $129,2 \pm 4,2$ mg e fêmeas com $129,2 \pm 3,7$, não existindo diferenças no peso dos escaravelhos entre machos e fêmeas para esta dieta. A dieta B é também aquela que apresenta valores mais baixos nas medidas biométricas para ambos os géneros para as diferentes dietas analisadas (Fig. 3).

Ao nível do comprimento total dos escaravelhos (Fig.4), a dieta D foi aquela que apresentou escaravelhos mais compridos com 19,67 mm de comprimento para os machos e 19,84 mm para as fêmeas. Spang (2013) mencionou comprimentos totais de 15 mm para os escaravelhos de *Tenebrio molitor*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Spang, B, 2013. *Insects as food: assessing the food conversion efficiency of the mealworm (Tenebrio molitor)*. Environmental study master thesis: The Evergreen State College. 77 pp.
- Ghaly, A, Alkoaik, F, 2009. The yellow mealworm as a novel source of protein. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, V4, 319-331.
- Menezes. C; Camilo. S; Fonseca. A; Júnior. S; Bispo. D; Soares.M; 2014. A dieta alimentar da presa *Tenebrio molitor* (Coleoptera Tenebrionidae) pode afetar o desenvolvimento do predador *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Agricultural Entomology*. V. 81. 250-256 pp.
- Barroso, F. G., C. de Haro, M.-J. Sánchez-Muros, E. Venegas, A. MartínezSánchez, and C. Pérez-Bañón. 2014. The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture* 422–423: 193–201.
- Heckmann. L, Andersen. J, Gianotten. N, Calis. M, Fischer. C, Calis. H, 2018. Sustainable mealworm production for feed and food. Springer International Publishing AG, part of Springer Nature 2018. 321-328 pp.

Agradecimentos: Trabalho suportado pelo projeto “Modelo técnico de produção intensiva de rã, *Rana perezi* (*Pelophylax perezi*)” - MAR2020 - MAR-02.01-FEAMP-0087- *Rana perezi*, financiado pelo Fundo Europeu das Pescas.

Quadro 1. Composição e valor nutricional das dietas utilizadas para avaliar o desenvolvimento das larvas de *Zophobas morio*.

Dieta	Composição	Valor Nutricional*				
		% MS				MJ/kg MS
		PB	FB	NDF	GB	EB
A	80% Trigo + 20% Soja	17,88	2,99	12,08	1,53	16,13
B	40% Cevada + 40% Milho + 20% Soja	16,46	3,85	16,46	2,53	16,46
C	40% Aveia + 40% Trigo + 20% Soja	17,36	6,97	19,73	2,84	16,65
D	40% Trigo + 40% Milho + 20% Soja	16,74	2,95	11,46	2,43	16,25

*Valores de referência. PB- Proteína Bruta, FB- Fibra Bruta, NDF – Fibra Detergente Neutra, GB – Gordura Bruta, EB – Energia Bruta.

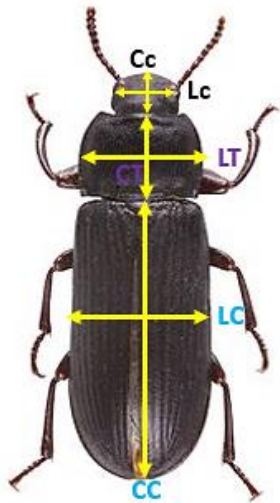


Figura 1. Medidas Biométricas do escaravelho *Tenébrio molitor*.

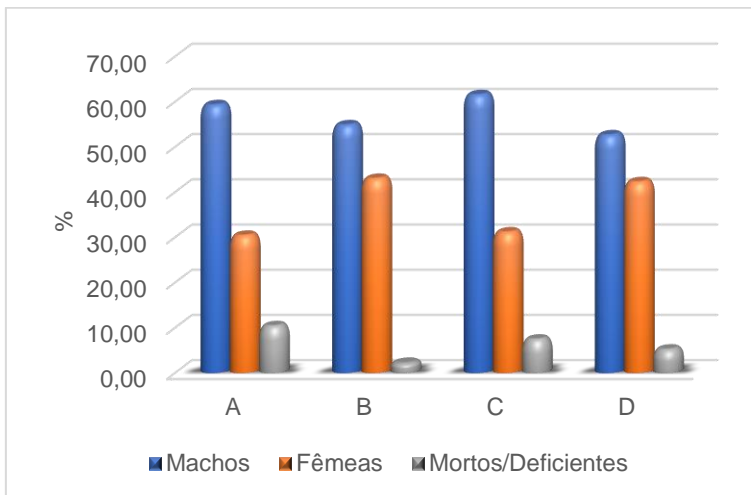


Figura 2. Percentagem de machos, fêmeas e mortos ou deficientes por dieta.

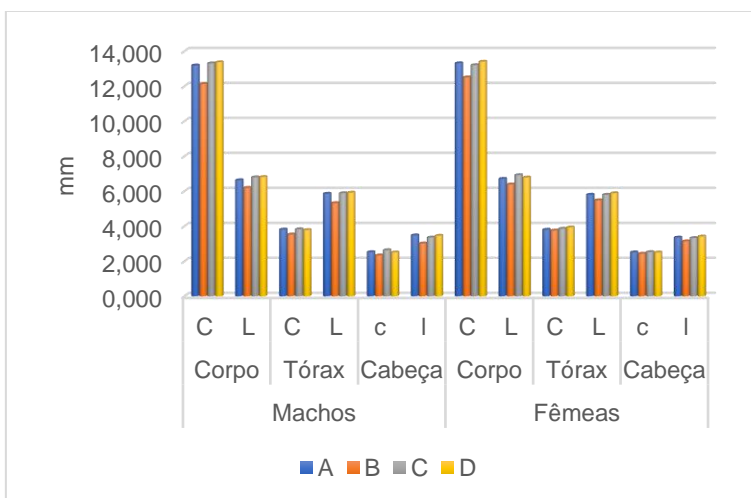


Figura 3. Medidas Biométricas (mm) por género de acordo com a dieta.

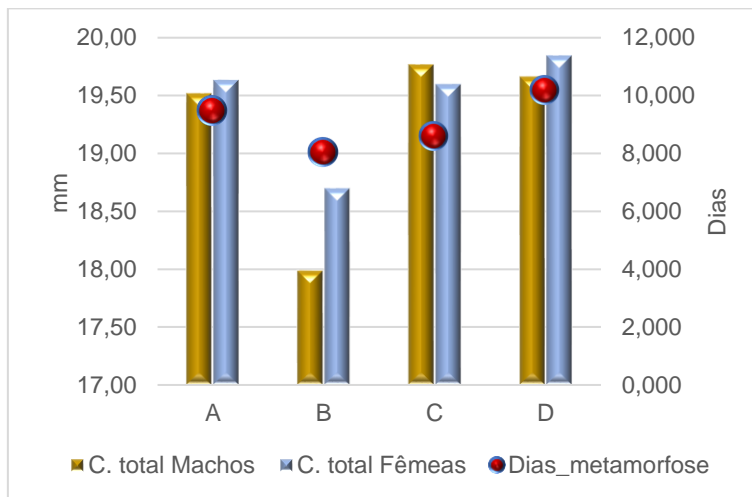


Figura 4. Comprimento total e dias de metamorfose por género e por dieta.

ABSTRACT

The larvae of *Tenebrio* are of the few species of insects that are mass produced commercially. To date, there are no data on zootechnical performance in the production of *Tenebrio* larvae that allow production procedures to be optimized to maximize the profitability of the process, making it evident that it is necessary to arrange production techniques on a more industrial scale. study was to evaluate the effect of different diets on weight and biometric measurements of the beetles of the *Tenebrio molitor* species. The results obtained in this assay demonstrate that the larvae fed on the B diet gave rise to significantly heavier beetles when compared to the other diets. Regarding the biometric measurements, diet B beetles have significantly lower CC, LC, LT, CT and Lc than the other diets analyzed in this trial. Of the initial 540 pupae, 198 females, 308 males and 34 beetles were found to be invalid (dead or had a deficiency). On average, for all diets studied females weight (127.7 ± 5.4 mg) was higher than males (123.0 ± 5.7 mg). At the level of the total length of the beetles, diet D was the one that presented the longest beetles with 19.67 mm in length for males and 19.84 mm for females.

Keywords: diet, nutrition, *Tenebrio molitor*, scarab, weight, biometric measures

EFEITO DA DIETA SOBRE OS RESULTADOS BIOMÉTRICOS DAS PUPAS DE *TENEBRIO MOLITOR* (COLEÓPTERA, TENEBRIONIDAE)

Sara Filipa Silva Cardoso², Teresa Letra Mateus^{2,3}, Júlio César Lopes^{1,2}

¹ CISAS - Center for Research and Development in Agrifood Systems and Sustainability, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Portugal.

² Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios do Lima, Portugal

³ EpiUnit, Unidade de Investigação em Epidemiologia, Instituto de Saúde Pública da Universidade do Porto, Porto, Portugal

INTRODUÇÃO

Para otimizar o crescimento de insetos é necessário que os diferentes macro e micronutrientes estejam devidamente equilibrados. A nutrição pode afetar o desenvolvimento, o tamanho, a coloração, a reprodução e outras características biológicas dos insetos. Os requisitos nutricionais tanto qualitativos como quantitativos variam entre as diferentes espécies de insetos e também dentro da mesma espécie, de acordo com a fase de desenvolvimento do ciclo biológico em que estes se encontram. No caso dos Tenébrios, o desenvolvimento é ótimo quando a dieta é composta por 70% de hidratos de carbono, porém o crescimento é interrompido quando a dieta contém menos de 40% de hidratos de carbono (Panizzi e Parra, 2009). Embora a dieta à base de farelo de trigo seja a mais utilizada para a sua produção alguns produtores têm usado dietas alternativas tais como rações para aves poedeiras (Menezes et al, 2014). Não existem até ao momento dados relativos ao desempenho zootécnico na produção de larvas e escaravelhos de tenébrio que permitam optar por procedimentos de produção que maximizem a rentabilidade do processo. Pretendeu-se com o presente trabalho avaliar o efeito de diferentes dietas sobre a duração do período larvar, a duração do período de pupa, o peso da pupa e as respetivas medidas biométricas (comprimento e largura) da espécie *Tenebrio molitor*.

MATERIAL E MÉTODOS

Este ensaio consistiu na criação de quatro grupos compostos por 150 larvas de *Tenebrio molitor* cada um, alimentados com 4 dietas diferentes, nas mesmas condições de temperatura (27°C) e humidade (48,8%). Realizaram-se 3 repetições para cada dieta.

Os ensaios começaram quando as larvas tinham 2 semanas. As larvas foram pesadas e medidas no momento inicial do ensaio e após 30 dias. Registou-se o número de dias que as primeiras 45 pupas, de cada repetição e de cada teste, demoraram a atingir esta fase, num total de 540 pupas.

Estas 45 pupas, de cada teste, foram pesadas numa balança de precisão de 4 casas decimais e foram realizadas as suas medidas biométricas, comprimento e largura, (Fig.1) através de um programa informático (*ImageJ*[®]). De seguida, estas pupas foram colocadas em compartimentos individuais até ao dia em que eclodia o escaravelho. As caixas com as larvas dos respetivos testes foram monitorizadas diariamente, de manhã e à noite, para administração de água e para detetar a mudança da fase de larva para pupa. As composições das dietas utilizadas e o valor nutricional respetivo estão apresentadas no *Quadro 1*.

Os dados foram analisados mediante análises de Modelos lineares univariados recorrendo ao programa estatístico SPSS[®] V.23.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste ensaio demonstram que a mudança da fase de larva para pupa na espécie *Tenebrio molitor* é fortemente influenciada pela dieta administrada às larvas. A duração do período larvar, ou seja, o número de dias necessário para uma larva entrar em fase de pupa variou significativamente entre as quatro dietas estudadas. Na dieta B foram necessários, em média 40,1 dias, 52,1 dias para a dieta C, 56,6 dias para a dieta D e 72,8 dias para a dieta A. Junior et al. (2018) realizaram ensaios em que fizeram variar a percentagem de farelo de trigo e farelo de milho das dietas administradas às larvas e obtiveram resultados para a duração do período larvar de 110,6 a 121,1 dias nas diferentes dietas testadas. Kim et al. (2017) obtiveram valores que variaram entre os $43,61 \pm 1,19$ dias e os $49,77 \pm 1,33$ dias, com a incorporação de grãos usados no fabrico da cerveja e restos de destilaria.

Em relação ao peso das pupas, para a dieta B ($135,7 \pm 17,7$ mg) foram obtidos resultados médios significativamente inferiores às restantes dietas (dieta A – $150,0 \pm 19,3$ mg, dieta C – $146,6 \pm 24,3$ mg e dieta D – $144,0 \pm 17,0$ mg). Os valores obtidos neste estudo foram bastante inferiores aos valores observados por Júnior et al (2018) que obtiveram valores de 887 a 983 mg. No entanto valores semelhantes foram obtidos por Kim et al. (2017), que obteve valores de peso das pupas que variaram entre os $127,74 \pm 13,11$ mg e os $151,20 \pm 6,25$ mg. Relativamente ao comprimento, as pupas da dieta B ($16,6 \pm 1,8$ mm) são significativamente mais curtas que pupas das restantes dietas (dieta A - $18,0 \pm 1,8$ mm, dieta C - $17,9 \pm 1,6$ mm e dieta D - $17,9 \pm 1,7$ mm). Em relação à largura das pupas, as que foram alimentadas com a dieta B ($5,2 \pm 0,6$ mm) são significativamente mais estreitas (dieta A - $5,8 \pm 0,7$ mm, dieta C - $5,8 \pm 1,1$ mm e dieta D - $5,8 \pm 0,5$ mm) (Fig.2).

O número de dias de incubação das pupas, isto é, o número de dias médio necessário para passar da fase de pupa para a fase de escaravelho também variou significativamente entre a dieta B (8,37 dias) e as dietas A (9,43 dias) e D (10,11 dias). Júnior et al. (2018) obtiveram resultados de 6,5 a 7,7 dias para a duração do período de incubação das pupas.

Segundo a análise de correlações, o peso (mg) das pupas ($p < 0,001$) e o número de dias de incubação das pupas ($p < 0,01$) é influenciada positivamente pela duração do estado larvar. O peso das larvas no final do primeiro mês tem uma influência negativa no número de dias de estado larvar ($p < 0,001$) e no número de dias de incubação das pupas ($p < 0,05$).

O comprimento e a largura das pupas são fortemente correlacionados ($p < 0,001$) e o comprimento tem uma correlação positiva com os dias de incubação das pupas ($p < 0,01$). O número de dias de estado larvar influencia positivamente o número de dias de incubação das pupas ($p < 0,05$) e o comprimento das mesmas ($p < 0,001$). Com este trabalho pode-se concluir que as larvas alimentadas com a dieta B atingem a fase de pupa mais rapidamente, determinando o aparecimento de pupas mais pesadas, mais curtas e mais estreitas quando comparados com as restantes dietas analisadas neste trabalho. Podemos ainda concluir quanto maior é a duração do período larvar maiores serão as pupas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Júnior, J, Ferreira, L, Pederiva, K, 2018. Desenvolvimento de larvas de *Tenebrio molitor* L. em diferentes dietas visando a produção de insetos para consumo humano. *Revista eletrónica do Univag*. N18. 93-101pp.
- Kim, S, Kim, H, Yoon, H, Lee, K, Kim, N, 2017. Nutritional analysis alternative feed ingredients and their effects on the larval growth of *Tenebrio molitor* (Coleóptera, Tenebrionidae). *Entomological Research*. N 47. 194–202 pp.
- Panizzi, A, Parra, J, 2009. *Bioecologia e nutrição de insetos – Base para o manejo integrado de pragas*. Embrapa. Brasília. Capítulo 17. 669- 731 pp.
- Menezes, C, Camilo, S, Fonseca, A, Júnior, S, Bispo, D, Soares, M, 2014. A dieta alimentar da presa *Tenebrio molitor* (Coleoptera Tenebrionidae) pode afetar o desenvolvimento do predador *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Agricultural Entomology*. V. 81. 250-256 pp

Agradecimentos: Trabalho suportado pelo projeto “Modelo técnico de produção intensiva de rã, *Rana perezi* (*Pelophylax perezi*)” - MAR2020 - MAR-02.01-FEAMP-0087- *Rana perezi*, financiado pelo Fundo Europeu dos Assuntos Marítimos e das Pescas.

Quadro 1. Composição e valor nutricional das 4 dietas utilizadas para avaliar o desenvolvimento das larvas de *Tenebrio molitor*.

Dieta	Composição	Valor Nutricional				
		% MS				MJ/kg MS
		PB	FB	NDF	GB	EB
A	80% Trigo + 20% Soja	17,88	2,99	12,08	1,53	16,13
B	40% Cevada + 40% Milho + 20% Soja	16,46	3,85	16,46	2,53	16,46
C	40% Aveia + 40% Trigo + 20% Soja	17,36	6,97	19,73	2,84	16,65
D	40% Trigo + 40% Milho + 20% Soja	16,74	2,95	11,46	2,43	16,25

*Valores de referência. PB- Proteína Bruta, FB- Fibra Bruta, NDF – Fibra Detergente Neutra, GB – Gordura Bruta, EB – Energia Bruta.

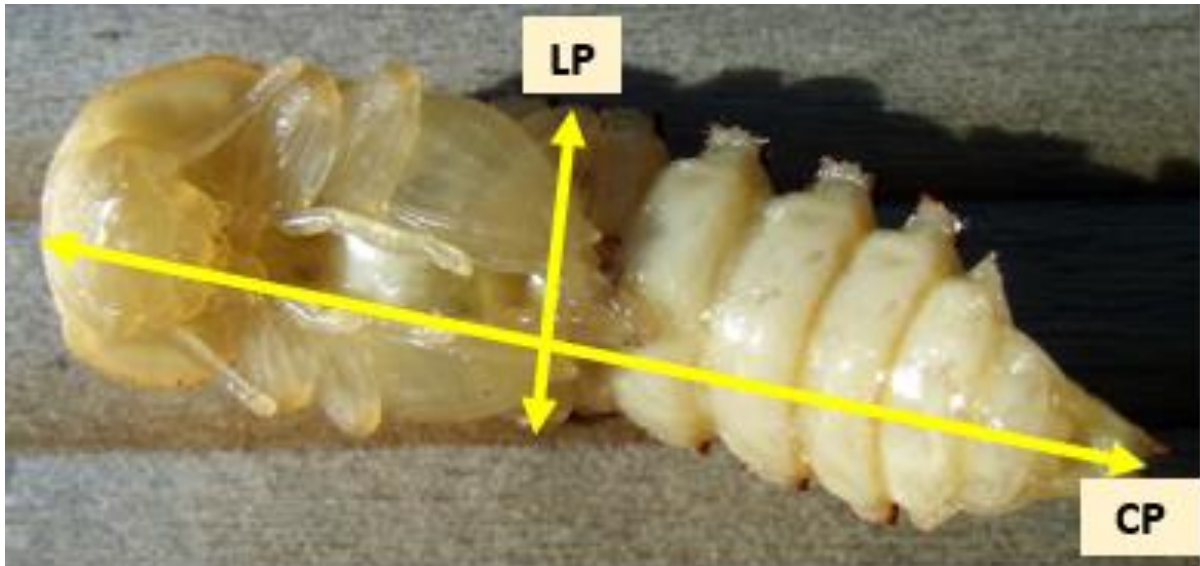


Figura 1. Medidas biométricas aplicadas nas pupas de *Tenebrio molitor*.

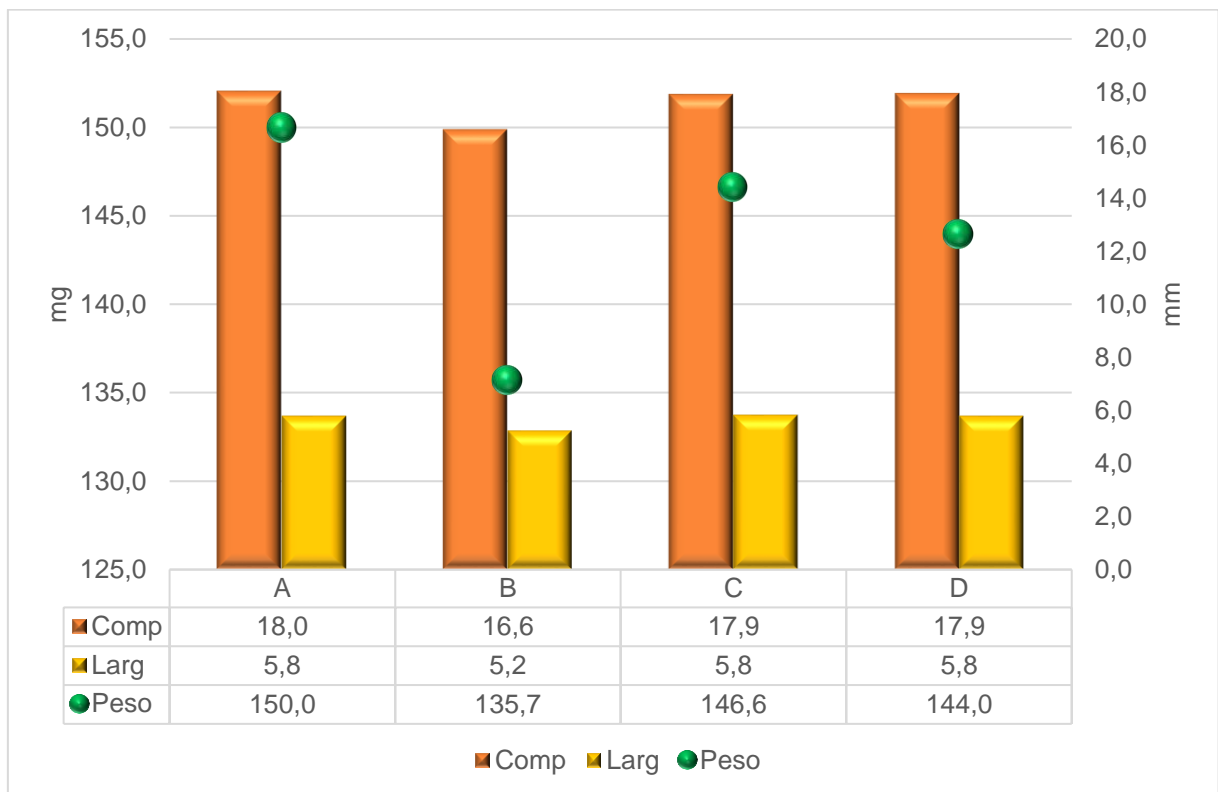


Figura 2. Variação do peso (mg), comprimento e largura (mm) das pupas em função da dieta.

ABSTRACT

To optimize the growth of insects it is necessary that the different macro and micronutrients are properly balanced. Nutrition can affect the development, size, color, reproduction and other biological characteristics of insects. So far there are no data on zootechnical performance in the production of larvae and beetles of *Tenebrio*, that allow opting, for production, procedures that maximize the profitability of the process. The objective of this work was to evaluate the effect of different diets on the duration of the larval period, the duration of the pupal period, the pupal weight and the respective biometric measurements (length and width) of the *Tenebrio molitor* species. The duration of the larval period, that is, the number of days required for a larva to enter the pupae stage varied significantly among the four diets studied. In diet B it was necessary, on average 40.2 days, for diet C were 52.1 days, for diet D 56.6 days and finally for diet A were 72.8 days. Regarding the pupae weight, diet B (135.7 ± 17.7 mg), mean results were significantly lower than the other diets. The number of days of incubation of the pupae also varied significantly between diet B (8.37 days) and diets A (9.43 days) and D (10,11 days).

Keywords: diet, *Tenebrio molitor*, nutrition, weight, biometric measures, pupae.

ESTIMATIVA DA MASSA DAS LARVAS DE *ZOPHOBAS MORIO* (COLEÓPTERA, TENEBRIONIDAE): EFEITO DA VARIAÇÃO DA DIETA

Sara Filipa Silva Cardoso², Teresa Letra Mateus^{2,3}, Júlio César Lopes^{1,2}

¹ CISAS - Center for Research and Development in Agrifood Systems and Sustainability, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Portugal.

² Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios do Lima, Portugal

³ EpiUnit, Unidade de Investigação em Epidemiologia, Instituto de Saúde Pública da Universidade do Porto, Porto, Portugal

INTRODUÇÃO

A crescente procura por bens alimentares devido ao incremento da população humana levou a que os insetos fossem considerados um futuro componente essencial da dieta, por causa da sua eficiência de produção (Zaelor e Kitthawee, 2018). Também as crescentes ameaças à segurança alimentar global, decorrentes das mudanças climáticas e do esgotamento dos recursos naturais têm levado os insetos a serem considerados como uma nova fonte de alimento (Poshadri *et al.*, 2018). O inventário de insetos comestíveis do Laboratório de Entomologia da Universidade de Wageningen, em 2012 (Jongema, 2012), classificou 2163 espécies como comestíveis, sendo que, 661 são coleópteros, o mesmo estudo refere que os Coleópteros são os insetos mais consumidos no mundo. O uso de insetos em rações para animais pode trazer alguns benefícios de sustentabilidade ambiental para a produção de alimentos (Ramos-Elorduy, 2008). *Zophobas morio* é uma espécie que inicialmente era produzida para alimentação de animais exóticos, mas depressa se descobriu o seu carácter promissor a nível industrial baseado na sua elevada fertilidade, ciclo de vida curto e conversão alimentar alta (Viktorovich, 2018). Segundo Schulte (1996) as larvas desta espécie podem atingir facilmente os 60 mm e 1,5 g de massa. A produtividade dos insetos produzidos industrialmente pode ser melhorada se lhes for fornecida uma dieta corretamente balanceada (Dossey *et al.*, 2016). Atualmente a produção de larvas de *Zophobas morio* tem sido realizada utilizando-se como substrato o farelo de trigo não existindo até ao momento dados relativos ao desempenho zootécnico nas diferentes espécies que permitam optar por procedimentos de produção que maximizem a rentabilidade do processo. Desta forma, pretendeu-se com o presente trabalho avaliar o efeito de diferentes dietas sobre o crescimento das larvas através de indicadores como o Ganho Médio Diário ($\text{mg}\cdot\text{dia}^{-1}$ e $\text{mm}\cdot\text{dia}^{-1}$) e Taxa de Crescimento ($\text{mg}\cdot\text{dia}^{-1}$ e $\text{mm}\cdot\text{dia}^{-1}$).

MATERIAL E MÉTODOS

Este ensaio consistiu na criação de 4 grupos compostos por 100 larvas cada um, alimentados com 4 dietas diferentes, nas mesmas condições de temperatura e humidade. Realizaram-se três repetições para cada dieta, sendo retirados, semanalmente, de modo aleatório 30 espécimes de cada repetição para pesagem, em balança de precisão, de 4 casas decimais e medição, em software informático (*ImageJ*®). No início dos ensaios as larvas tinham duas semanas de idade, tendo sido mantidos os ensaios até ao aparecimento da primeira pupa, sendo pesadas as larvas restantes para determinação da massa final. As caixas com as larvas dos respetivos testes foram monitorizadas diariamente, de manhã e à noite, para administração de água e

para detetar a mudança da fase de larva para pupa. As composições das dietas utilizadas e o valor nutricional respetivo estão apresentadas no *Quadro 1*. Para a caracterização do crescimento (massa e comprimento) das larvas de *Zophobas morio* foi utilizado o modelo de Gompertz ($GMD=A \cdot e^{(-e^{-(B \cdot (t-C))})}$), onde *A* significa a massa final ou comprimento final (mg ou mm), *B* significa o crescimento relativo no ponto de inflexão (mg.dia⁻¹ ou mm.dia⁻¹) e *C* indica a idade no ponto de inflexão (dias), através do ajuste não linear no SPSS® V.23. Os parâmetros estimados para as curvas de crescimento das larvas de *Zophobas morio* de acordo com a dieta, encontram-se no *Quadro 2*. Foi calculada a taxa de crescimento através da primeira derivada da equação exponencial de caracterização do crescimento. Foram correlacionados os parâmetros de comprimento e massa das larvas de acordo com a dieta utilizada. Os ensaios foram realizados no período correspondente entre 3 de agosto e 20 dezembro de 2018 e a temperatura e humidade relativa média registadas foram 28,2°C e 60% respetivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram observadas diferenças significativas na massa (mg) e comprimento (mm) médio inicial das larvas usadas neste ensaio. Quanto aos resultados finais, constata-se que existem diferenças significativas no comprimento das larvas alimentadas com as dietas B (56,2 ± 5,3 mm) e C (58,0 ± 5,3 mm). Em relação à massa média final das larvas, as larvas da dieta B (845,6 ± 33,3 mg) foram significativamente mais pesadas que as larvas da dieta C (798,2 ± 43,5 mg) e da dieta A (787,4 ± 47,9 mg). O GMD (mg) das larvas alimentadas com quatro dietas variou significativamente entre as dietas A (7,9 ± 1,2 mg) e B (9,7 ± 0,6 mg). Em relação ao GMD (mm), não existiram diferenças significativas entre as dietas analisadas. Através do modelo para estimativa do GMD, observou-se que não existem diferenças significativas para nenhum dos parâmetros quer para a massa (mg) das larvas quer para o seu comprimento (mm). Como se pode constatar no *Quadro 3* a massa e comprimento das larvas de *Zophobas morio* tem uma correlação altamente significativa em todas as dietas estudadas permitindo a construção de curvas para estimativa da sua massa (mg) em função do crescimento (mm) (Fig.2). Não foram encontrados estudos em *Zophobas morio* relativos à avaliação da melhor dieta para maximizar o desenvolvimento das larvas que permitam comparar os resultados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Jongema, Y; 2012. *List of Edible Insects of the World*. Wageningen University. Netherlands.
- Poshadri, A; Palthiya, R; Charan, G; Butti, P; 2018. Insects as an alternate Source for Food to Conventional Food Animals. *International Jour. of Pure e Appl. Bioscience*. V 6. 697-705 pp.
- Ramos–Elorduy, J; 2008. Energy Supplied by Edible Insects from Mexico and Their Nutritional and Ecological Importance. *Ecology of Food and Nutrition*. Routledge. 280-297 pp.
- Viktorovich, P; Ashotovich, A; Vladimirovich, R; Nikolaevich, S; Nikolaevich, A; Valentinovna, E; 2018. AFM and CT Study of *Zophobas morio* Morphology and Microstructure. *Entomology and Applied Science Letters*. V5. 35-40 pp.

Zaelor. J; Kitthawee. S; 2018. Growth response to population density in larval stage of darkling beetles (Coleóptera, Tenebrionidae) *Tenebrio molitor* and *Zophobas atratus*. *Agriculture and Natural Resources*. 52. 603-606 pp.

Schulte. R; 1996. El Manejo de *Zophobas morio* (Coleóptera: Tenebrionidae) en Climas Tropicales Húmedos. *Folia Amazonica*. V8. 47-75 pp.

Dossey. A; Morales-Ramos. J; Rojas. M; 2016. Insects as Sustainable Food Ingredients – Production. *Processing and Food Applications*. Elsevier. Chapter 6. 158-160 pp.

Agradecimentos: Trabalho suportado pelo projeto “Modelo técnico de produção intensiva de rã, *Rana perezi* (*Pelophylax perezi*)” - MAR2020 - MAR-02.01-FEAMP-0087- *Rana perezi*, financiado pelo Fundo Europeu dos Assuntos Marítimos e das Pescas.

Quadro 1. Composição e valor nutricional das dietas utilizadas para avaliar o desenvolvimento das larvas de *Zophobas morio*.

Dieta	Composição	Valor Nutricional*				
		% MS				MJ/kg MS
		PB	FB	NDF	GB	EB
A	80% Trigo + 20% Soja	17,88	2,99	12,08	1,53	16,13
B	40% Cevada + 40% Milho + 20% Soja	16,46	3,85	16,46	2,53	16,46
C	40% Aveia + 40% Trigo + 20% Soja	17,36	6,97	19,73	2,84	16,65
D	40% Trigo + 40% Milho + 20% Soja	16,74	2,95	11,46	2,43	16,25

*Valores de referência. PB- Proteína Bruta, FB- Fibra Bruta, NDF – Fibra Detergente Neutra, GB – Gordura Bruta, EB – Energia Bruta.

Quadro 2. Parâmetros estimados para a curva de crescimento das larvas de *Zophobas morio* em função da dieta.

Dieta	Massa (mg.dia ⁻¹)			Comprimento (mm.dia ⁻¹)		
	A	B	C	A	B	C
A	848,287 ^a	0,044343 ^a	56,53407 ^a	60,53991 ^a	0,035232 ^a	33,68691 ^a
B	902,4191 ^a	0,054564 ^a	50,59918 ^a	61,70444 ^a	0,040832 ^a	30,51191 ^a
C	901,722 ^a	0,045833 ^a	52,84932 ^a	60,74617 ^a	0,039621 ^a	30,70587 ^a
D	921,2507 ^a	0,05426 ^a	51,23354 ^a	62,71338 ^a	0,03974 ^a	31,56893 ^a

*Letras diferentes na mesma coluna significa que existem diferenças significativas (p<0,05) entre as respetivas dietas.

Quadro 3. Correlações entre massa, comprimento e idade das larvas de acordo com a dieta administrada.

	C_A	C_B	C_C	C_D	I	P_A	P_B	P_C	P_D
C_A	1					0,638**			
C_B		1					0,702**		
C_C			1					0,601**	
C_D				1					0,494**
I	0,909**	0,936**	0,920**	0,945**	1	0,971**	0,980**	0,983**	0,981**

C- Comprimento (mm), P- Massa (mg), I- Idade (dias).

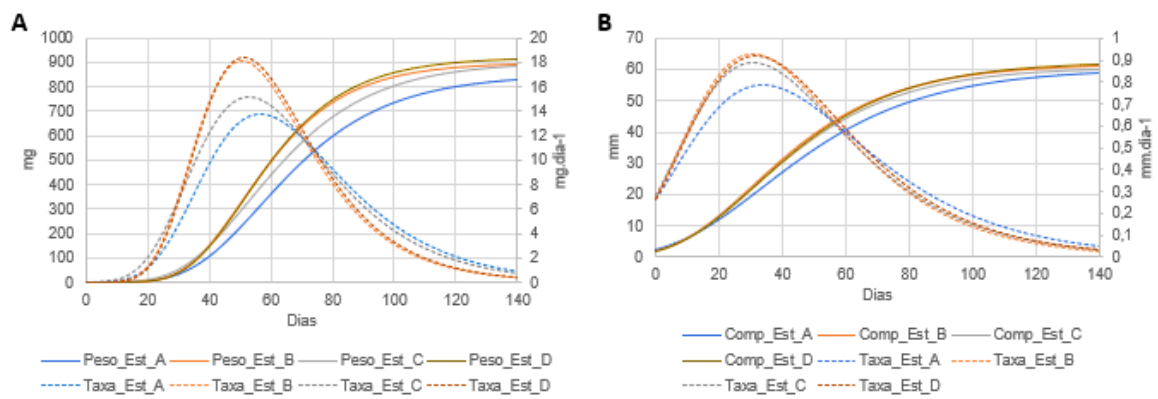


Figura 1. Evolução da massa (mg) (A) e do comprimento (mm) (B) das larvas de *Zophobas morio* para as quatro dietas estudadas (estimado e taxa de crescimento).

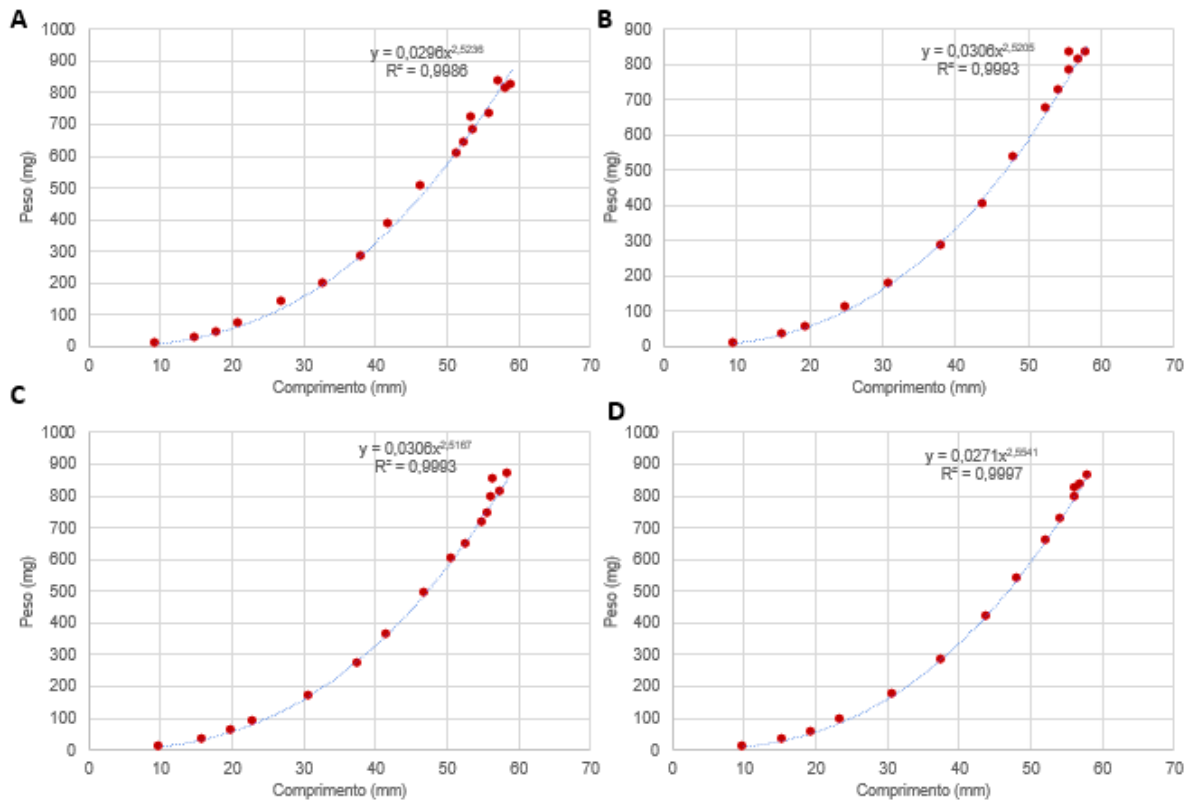


Figura 2. Correlação entre o comprimento (mm) e a massa (mg) para as diferentes dietas (A, B, C e D).

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of 4 different diets on the growth of larvae of *Zophobas morio* by means of indicators such as Average Daily Gain ($\text{mg}\cdot\text{day}^{-1}$ and $\text{mm}\cdot\text{day}^{-1}$) and Growth Rate ($\text{mg}\cdot\text{day}^{-1}$ and $\text{mm}\cdot\text{day}^{-1}$). This work was carried out in the ESA-IPVC, in a room with controlled temperature (28.2°C) and humidity (60%). It was verified that there were significant differences in the final length of the larvae fed with diet B (56,196 mm) and diet C (58,001 mm). In relation to the final mean mass of the larvae, diet B larvae (845,6078 mg) were significantly heavier than diet larvae C (798,1791 mg) and diet A (787.3670 mg).

Keywords: diet, nutrition, larval development, superworm, *Zophobas morio*

EFEITO DA ALIMENTAÇÃO NA PRODUTIVIDADE DE TENEBRIO MOLITOR: RESULTADOS PRELIMINARES

Divanildo Outor-Monteiro, Marine Thiry, Victor Pinheiro
Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro
Departamento de Zootecnia
divanildo@utad.pt

INTRODUÇÃO

O crescimento da população mundial e a melhoria da sua alimentação implicará aumentos da produção de alimentos de origem animal em cerca de 100% até 2050. A UE é deficitária na produção de proteína para incorporação nos alimentos compostos para animais IPIFF (2019). A produção alimentar deverá ser mais eficiente, mais sustentável, económica, social e ambientalmente. A produção de insectos que possam aproveitar na sua alimentação coprodutos da agroindústria (Sun, 2016) e dar origem a alimentos de elevada tem vindo a merecer uma especial atenção (Huis *et al.*, 2013). Múltiplos estudos revelam vantagens na sua incorporação em alimentos para animais (Jin *et al.*, 2016).

A espécie utilizada neste ensaio foi o *Tenebrio molitor*, também conhecido como “bicho da farinha” que é uma praga dos armazéns de cereais, farinha e alimentos, mas não representa uma grande preocupação, uma vez que as populações são bastante pequenas. Este insecto é fácil de produzir e alimentar e apresenta na sua composição bons níveis de proteína e de gordura. Têm, por isso, sido produzidos como alimento para animais de estimação e de zoológicos, incluindo aves, répteis, pequenos mamíferos, anfíbios e peixes, sendo usualmente fornecidos vivos, mas também vendidos desidratados ou em farinha (Makkar *et al.*, 2014).

O ciclo de vida desde insecto passa por quatro fases distintas, sendo a primeira fase a de ovo, seguido da de larva, posteriormente pupa e finalmente o tenébrio adulto (Spang, 2013). Estas fases têm durações distintas, sendo que a fase larvar é a mais longa. É nesta fase que o insecto consome mais alimento e que sofre frequentes mudanças do seu exoesqueleto, pois este é composto por quitina e não acompanha o crescimento larvar. A temperatura é um dos factores que interfere na duração das várias fases, que segundo Makkar *et al.* (2014) pode durar no total entre 280 a 630 dias. A temperatura ideal para a maximização de crescimento é de 25 a 27°C, mas os tenébrios conseguem reproduzir-se entre 18 e 37°C. Contudo, temperaturas acima de 29°C têm um impacto negativo no crescimento e desenvolvimento (inibição da emersão da pupa) e a temperaturas abaixo de 16°C podem parar a reprodução, permanecendo na fase larvar (Unknown, 2018). Segundo Makkar *et al.* (2014) as larvas frescas apresentam um teor de 60% de água, contendo, na matéria seca, cerca de 47 a 60% de proteína bruta, 31 a 43% de gordura e menos de 5% de cinzas.

Não há muita informação disponível relativa ao desempenho zootécnico na produção de larvas de tenébrio que permitam informar as empresas sobre as melhores estratégias alimentares. Os insectos são habitualmente produzidos tendo como alimento as sêmeas de cereais (ST). A fracção sólida dos dejectos (FSD) resultante da tamisagem dos efluentes pecuários é particularmente rica em cascas de cereais, por isso semelhante à sêmea e apresenta elevados níveis de outros nutrientes. A sua utilização na alimentação de tenébrios pode ser também uma forma de valorizar este produto resultante da actividade pecuária, resultando ainda a produção de “húmus” de tenébrio com potencialidade como biofertilizante.

Com este ensaio pretendeu-se avaliar a produtividade (nº e peso de larvas) de tenébrios alimentados com dietas com diferentes níveis de incorporação de FSD.

MATERIAL E MÉTODOS

Este ensaio envolveu 4 tratamentos experimentais com populações iniciais de insectos em 3 fases metamórficas (larvas, pupas e adultos) e 10 repetições, num total de 120 unidades experimentais. Cada repetição era constituída por 10 indivíduos. Todos os animais foram alojados em recipientes de plástico (garrafas de 1,5litros) numa sala climatizada. Os animais foram pesados no início do ensaio (18-07-2018) e todas as larvas presentes em cada recipiente foram contadas e pesadas no final do ensaio (12-09-2019). Não ocorreu qualquer remoção de animais durante o ensaio. Os tratamentos experimentais e as composições das dietas utilizadas e o respectivo valor nutricional estão apresentados no *Quadro 1*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A incorporação de FSD originou um aumento dos níveis de minerais e de NDF e uma redução dos níveis de proteína e de gordura, comparativamente ao alimento controlo (AL1), constituído exclusivamente por sêmea de trigo. Os alimentos com a incorporação crescente de níveis de FSD revelaram um aumento da concentração de minerais e uma redução da proteína. O NDF e a gordura apresentaram níveis oscilantes (Quadro 1).

No Quadro 2 podemos observar os pesos médios das larvas, pupas e adultos que constituíram as populações iniciais do ensaio (n = 100 animais por tratamento). O peso médio não diferiu entre tratamentos para cada uma das fases metamórficas. Os adultos apresentaram pesos médios próximos das 120mg, as larvas cerca de 150mg e as pupas cerca de 140mg.

No Quadro 3 mostram-se os resultados relativos ao número e peso médio das larvas obtidas no final do ensaio em cada um dos tratamentos. Em qualquer dos tratamentos e fases metamórficas das populações iniciais não ocorreram diferenças para o número e peso médio das larvas produzidas. Ao fim do período de ensaio as larvas são ainda de pequeno tamanho, nomeadamente as resultantes da população inicial de adultos (8,1mg) comparativamente às produzidas pelas populações iniciais de larvas e pupas, com 43,5 e 39,6mg, respectivamente. Na população iniciada com pupas parece haver uma tendência para um efeito do tratamento no número de larvas produzidas (P = 0,0632).

De acordo com a Quadro 4, verificamos que as larvas de tenébrio resultantes do nosso ensaio, tal como referido por diferentes autores, são uma fonte de proteína (56,0%) e de gordura (24,3%) muito interessante. Já os adultos apresentam níveis elevados de proteína, mas um nível menor de gordura e níveis de NDF muito elevados, resultante da quitina do exoesqueleto. O húmus de tenébrio apresenta elevados níveis de minerais (11,8%), de N (27,6/6,25=4,4%) e de matéria orgânica (45,9% NDF) constituindo um potencial biofertilizante estabilizado ou até reciclado como alimento (Ravzanaadi, 2012).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Huis, A.; Itterbeeck, J.; Klunder, H., Mertens, E.; Halloran, A.; Muir, G.; Vantomme, P.; 2013. *Edible insects*. Future prospects for food and feed security. FAO.
- IPIFF; 2019. *The European Insect sector today: challenges. Opportunities and Regulatory Landscape*. IPIFF vision paper on the future of the insect sector towards 2030.

- Jin, X. H., Heo, P. S., Hong, J. S., Kim, N. J., Kim, Y. Y., 2016 - Supplementation of Dried Mealworm (*Tenebrio molitor* larva) on Growth Performance, Nutrient Digestibility and Blood Profiles in Weaning Pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences (AJAS)* 2016; 29(7): 979-986. Published online: June 6, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.15.0535>
- Makkar, H. P. S., Tran, G., Heuzé, V., & Ankers, P. (2014). State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, 197(0), 1-33. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeeds.2014.07.08>
- Ravzanaadi, N., Seong-Hyun, K., Choi, W., 2012 - Nutritional Value of Mealworm, *Tenebrio molitor* as Food Source. September 2012. DOI: 10.7852/ijie.2012.25.1.093
- Sun, Y. K., Hong, G. K., Kyeong, Y. L., Nam, J. K., 2016 - Effects of agricultural byproducts, DDG and MSG, on the larval development of mealworms. June 2016. DOI: 10.7852/ijie.2016.32.2.69
- Unknown, 2018. Raising Mealworms: Everything You Always Wanted to Know (and more). <http://www.sialis.org/raisingmealworms.htm> [26/7/18](#)

Quadro 1 – Composição e valor nutricional dos alimentos utilizados no ensaio

Tratamentos	MS (%)	Cinzas (% MS)	PB (% MS)	GB (% MS)	NDF (% MS)
AL1 (100% ST + 0% FSD)	91,8	5,2	17,6	3,1	46,7
AL2 (66% ST + 33% FSD)	91,8	9,9	14,9	2,0	53,2
AL3 (33% ST + 66% FSD)	91,8	13,4	15,0	1,1	63,5
AL4 (0% ST + 100% FSD)	91,4	18,6	13,3	1,8	63,5

Quadro 2 - Peso médio (g) das várias fases metamórficas no início do ensaio

Tratamentos	PM adultos	PM larvas	PM pupas
AL1	0,1177	0,1450	0,1460
AL2	0,1364	0,1460	0,1430
AL3	0,1250	0,1500	0,1420
AL4	0,1167	0,1520	0,1400
EPM	0,0087	0,0054	0,0039
Valor P	0,3011	0,7758	0,7426
Peso Médio global	0,1239	0,1483	0,1428

Quadro 3 – Número e peso médio (g) das larvas no fim do ensaio para as várias populações

Tratamentos	Pop. Inicial = adultos		Pop. Inicial = larvas		Pop. Inicial = pupas	
	Nº larvas	PM (g)	Nº larvas	PM (g)	Nº Larvas	PM (g)
AL1	24,40	0,0103	16,40	0,0402	11,30	0,0413
AL2	24,18	0,0071	16,00	0,0394	10,40	0,0388
AL3	30,30	0,0068	16,70	0,0512	15,10	0,0439
AL4	35,22	0,0080	19,50	0,0430	5,80	0,0343
EPM	10,1488	0,0014	2,9810	0,0043	2,3458	0,0063

Valor P	0,8315	0,2333	0,8356	0,2102	0,0632	0,6572
Valor médio	25,53	0,0081	17,15	0,0435	10,65	0,0396

Quadro 4 – Composição dos tenébrios adultos e das larvas.

	Cinzas (% MS)	PB (% MS)	GB (% MS)	NDF (% MS)
Adultos	5,0	60,4	9,8	42,4
Larvas	5,0	56,0	24,3	15,8
Húmus	11,8	27,6	2,2	45,9

ABSTRACT

Insects are a possible source of protein that can be included in animal feeds. The objective of this work was to evaluate the effect of different diets on larvae productivity (Number and weight). The use of various levels of solid fraction of excreta (FSD) in the feeding of *T. molitor* reveal no influence in the number or weight of larvae produced.

Keywords: diet, nutrition, larval development, *Tenebrio molitor*