



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Bruno Almiro Parreira

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Potencialidades e aplicações do *Tenebrio molitor* no mercado alimentar e farmacêutico” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Marina Isabel Felício dos Santos e do Professor Doutor Saul Campos Pereira da Costa apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2022



UNIVERSIDADE D COIMBRA

Bruno Almiro Parreira

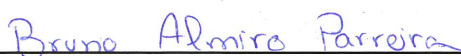
Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Potencialidades e aplicações do *Tenebrio molitor* no mercado alimentar e farmacêutico” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Marina Isabel Felício dos Santos e do Professor Doutor Saul Campos Pereira da Costa apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2022

Eu, Bruno Almiro Parreira, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2016250717 declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Potencialidades e aplicações do *Tenebrio molitor* no mercado alimentar e farmacêutico” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 9 de setembro de 2021.



(Bruno Almiro Parreira)

Agradecimentos

Com o concluir da minha fase académica, resta-me dar um sincero agradecimento a todos os que fizeram parte da minha formação durante os últimos anos.

Ao Professor Doutor Saul Costa pela disponibilidade e pela partilha de conhecimento.

À Dra. Marina Santos e a toda a equipa da Farmácia Correia de Oliveira por toda a aprendizagem.

Ao Jaime pela oportunidade de estagiar numa farmácia de excelência.

Aos meus pais e ao meu irmão Ricardo, pelo contínuo apoio em todas as minhas aventuras e por não me deixarem desistir.

Aos meus avós pelo apoio incondicional e pelos conselhos sábios.

Aos meus padrinhos, à minha madrinha e à minha afilhada pela ajuda e por toda a sua amizade.

Aos meus amigos do Fundão, de Coimbra e de Lisboa que me acompanharam durante esta jornada.

A Coimbra, por me fazer sentir, sempre, em casa

Índice

Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas	7
1. Introdução.....	8
1.1. Resumo do percurso.....	;
2. Análise SWOT	10
2.1. Pontos Fortes.....	%%
2.1.1. Horário e localização.....	11
2.1.2. Rapidez do atendimento	11
2.1.3. Grande diversidade de dermocosmética.....	12
2.1.4. Grupo de farmácias e grupo de compras.....	12
2.2. Pontos Fracos.....	%
2.2.1. Insegurança em determinadas áreas do aconselhamento.....	13
2.2.2. Denominação comum internacional (DCI) e marcas comerciais	13
2.3. Oportunidades	%
2.3.1. Serviços farmacêuticos	14
2.3.2. Sifarma® Módulo de Atendimento	14
2.4. Ameaças	%
2.4.1. Venda de MNSRM fora das farmácias	14
2.4.2. Receitas manuais	15
3. Casos Práticos.....	16
3.1. Caso Prático I – Síndrome do Intestino Irritável.....	%*
3.2. Caso Prático II – Constipação/Gripe.....	%*
3.3. Caso Prático III – Insónia.....	%†
3.4. Caso Prático IV – Conjuntivite.....	%‡
3.5. Caso Prático V – Tosse na criança	%‡
4. Conclusão	19

Parte II – Potencialidades e aplicações do *HybVf]c'a c]rcf* no mercado alimentar e farmacêutico

LISTA DE ABREVIATURAS	21
RESUMO.....	22
ABSTRACT	23
1. INTRODUÇÃO	24
1.1. Sustentabilidade na produção	&(
1.2. A importância das proteínas na alimentação humana e animal.....	&*
1.3. O inseto <i>HybVf]c'a c]rcf</i> &*
1.4. Ciclo de vida do <i>HybVf]c'a c]rcf</i>	&*
1.4.1. Fases do ciclo de vida do <i>HybVf]c'a c]rcf</i>	"" 26
1.4.2. Noções de anatomia do <i>Tenebrio molitor</i>	28
1.5. Insetos na alimentação humana	&-

2.	PRODUTOS DO <i>TENEBRIO MOLITOR</i>	29
2.1.	Proteína.....	' \$
2.1.1.	Teor em proteína	30
2.1.2.	Aminoácidos	31
2.1.3.	Digestibilidade	32
2.1.4.	Solubilidade	32
2.1.5.	Extração	33
2.2.	Quitina e quitosano.....	' (
2.2.1.	Reação de desacetilação.....	34
2.2.2.	Teor em quitina.....	36
2.2.3.	Estrutura, solubilidade e digestibilidade.....	36
2.2.4.	Cristalinidade	38
2.2.5.	Extração	39
2.3.	Óleo.....	' -
2.3.1.	Teor de óleo e extração.....	39
2.3.2.	Propriedades físico-químicas	40
3.	APLICAÇÕES DAS EXTRAÇÕES DE <i>TENEBRIO MOLITOR</i>	41
3.1.	Proteína na indústria alimentar.....	(%
3.2.	Proteína na indústria farmacêutica.....	(&
3.2.1.	Efeito inibidor da ECA.....	43
3.2.2.	Efeito antioxidante.....	44
3.2.3.	Efeito inibidor da dipeptidil peptidase IV (DPP-IV)	44
3.2.4.	Atividade fibrinolítica do TM.....	45
3.3.	Quitosano na indústria farmacêutica	(
3.3.1.	Biocompatibilidade	45
3.3.2.	Efeito Antimicrobiano.....	46
3.4.	Óleo na Indústria Alimentar	(+
3.5.	Óleo na Indústria Farmacêutica.....	(,
4.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	48
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

PARTE I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária



Sob a orientação da Dra. Marina Isabel Felício dos Santos

Lista de Abreviaturas

DCI – Denominação Comum Internacional

FC – Farmácia Comunitária

FCO – Farmácia Correia de Oliveira

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

IMC – Índice de Massa Corporal

INFARMED – Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

PIM – Preparação Individual da Medicação

PNV – Plano Nacional de Vacinação

PVF – Preço de Venda à Farmácia

PVP – Preço de venda ao Público

SII – Síndrome do Intestino Irritável

SINAVE – Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica

SNS – Sistema Nacional de Saúde

SWOT – Forças, Fraquezas, Oportunidades e Ameaças

TRAg – Teste Rápido de Antigénio

I. Introdução

O presente relatório é parte integrante da unidade de Estágio Curricular inserida no plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC).

A farmácia comunitária (FC) é conhecida pela população como um espaço de saúde. Dada a sua acessibilidade a toda a comunidade ela é um ponto de referência e um primeiro local ao qual se recorre aquando de um problema de saúde, representando um espaço de prestação de cuidados de saúde de elevada qualidade técnico-científica. Desta forma, o farmacêutico é reconhecido como o profissional de saúde que está sempre próximo da população, uma vez que contribui para o acompanhamento dos utentes ao longo do tempo promovendo um estilo de vida mais saudável e com mais qualidade. O farmacêutico é o profissional do medicamento e também um agente de saúde pública.

O estágio curricular é uma das etapas mais importantes da formação de um farmacêutico, não apenas porque é o culminar de vários anos de estudos e preparação mas também porque é a etapa em que temos, pela primeira vez, contacto com o doente. É certamente uma oportunidade para nos familiarizarmos com o ambiente de farmácia comunitária, a qual poderá ser o nosso futuro local de trabalho. Durante este com contacto com a profissão em contexto real é possível colocar em prática conhecimentos adquiridos durante o curso e adquirir novas aptidões profissionais: técnicas, científicas e deontológicas.

O estágio curricular em farmácia comunitária decorreu no período de setembro de 2021 a fevereiro de 2022, na Farmácia Correia de Oliveira (FCO), Santarém, sob a orientação da Dra. Marina Isabel Felício dos Santos e de toda uma equipa altamente qualificada e profissional, que me proporcionaram um estágio com as melhores condições possíveis. Ao longo deste período foi-me dada a oportunidade de observar o percurso do medicamento desde a sua entrada na FC até à saída da mesma, e também todas as atividades e serviços que o farmacêutico comunitário presta à população. Posto isto, este relatório será feito com base numa análise SWOT (*Strength, Weaknesses, Opportunities and Threats*).

I.1. Resumo do percurso

Assim que cheguei à Farmácia Correia de Oliveira fui apresentado à equipa e em seguida fui conduzido a conhecer as diferentes áreas de trabalho numa rápida visita à farmácia. Comecei o meu estágio no *BackOffice*, na parte de receção de encomendas, verificação de

prazos de validade, integridade e quantidade das embalagens. Nesta área de trabalho fazia também o controlo dos valores que vinham nas faturas, como o PVF e o PVP, sendo nesta secção que tive um primeiro contacto com o *software* utilizado na farmácia, o Sifarma®. Quando terminava a receção das encomendas, procedia à arrumação dos produtos nas áreas respetivas. Esta tarefa era mais simples, uma vez que a farmácia possui um robô, no qual apenas é necessário introduzir o código *matrix* e automaticamente ele armazena os medicamentos. Outros produtos não destinados à arrumação pelo robot eram arrumados em diversas prateleiras e gavetas devidamente numeradas. Recorria frequentemente à ferramenta Sifarma® para identificar o local de arrumação dos produtos. Ajudei também na disposição dos lineares e colocação de PVPs, assim como muitas outras tarefas relacionadas com gestão e organização de *stocks*. Aprendi a realizar a conferência do receituário e a arrumá-lo corretamente, assim como a emitir diversos tipos de documentos e a organizá-los nos respetivos locais. Durante todo o estágio tive autonomia para assistir a atendimentos ou para esclarecer dúvidas e após algum tempo a assisti-los pude finalmente começar a participar nos mesmos. Durante o atendimento observei o aconselhamento farmacêutico e todos os atos com ele relacionados: a reconstituição de preparações extemporâneas, preparação de manipulados, o PIM e muitos outros serviços farmacêuticos como por exemplo consulta de nutrição, a administração de injetáveis e o registo de testes TRAg no SINAVE. Realizei alguns serviços como a medição da tensão arterial, glicémia o IMC, entre outros. Tomei consciência da importância do farmacêutico no controle e qualidade do medicamento, desde a sua entrada na farmácia até à entrega ao utente, ao observar o registo e controlo que se realizava diariamente na temperatura e humidade do meio ambiente, sendo que também todos os equipamentos estavam calibrados e/ou verificados. No final, para evitar a contaminação do meio ambiente, a farmácia tinha também implementado o programa Valormed, sendo que também tratava dos seus resíduos internos, tendo empresas credenciadas a fazerem a sua recolha.

Uma das últimas seções que experienciei foi o *marketing* farmacêutico, verificando a importância das montras, dos lineares, da arrumação das gondolas, da organização de zonas frias e quentes, da existência das campanhas e promoções (essencialmente na área da dermocosmética), da existência de um cartão de fidelização, dos *écrans* e das redes sociais.

2. Análise SWOT

SWOT é uma sigla estrangeira para os termos *Strength* (Forças), *Weaknesses* (Fraquezas), *Opportunities* (Oportunidades) and *Threats* (Ameaças). Assim, uma análise SWOT de um estágio é uma estratégia de planeamento que explora pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças durante o estágio. Deste modo, encontra-se na Figura I uma síntese destes aspetos que considereei ao longo do estágio em farmácia comunitária.

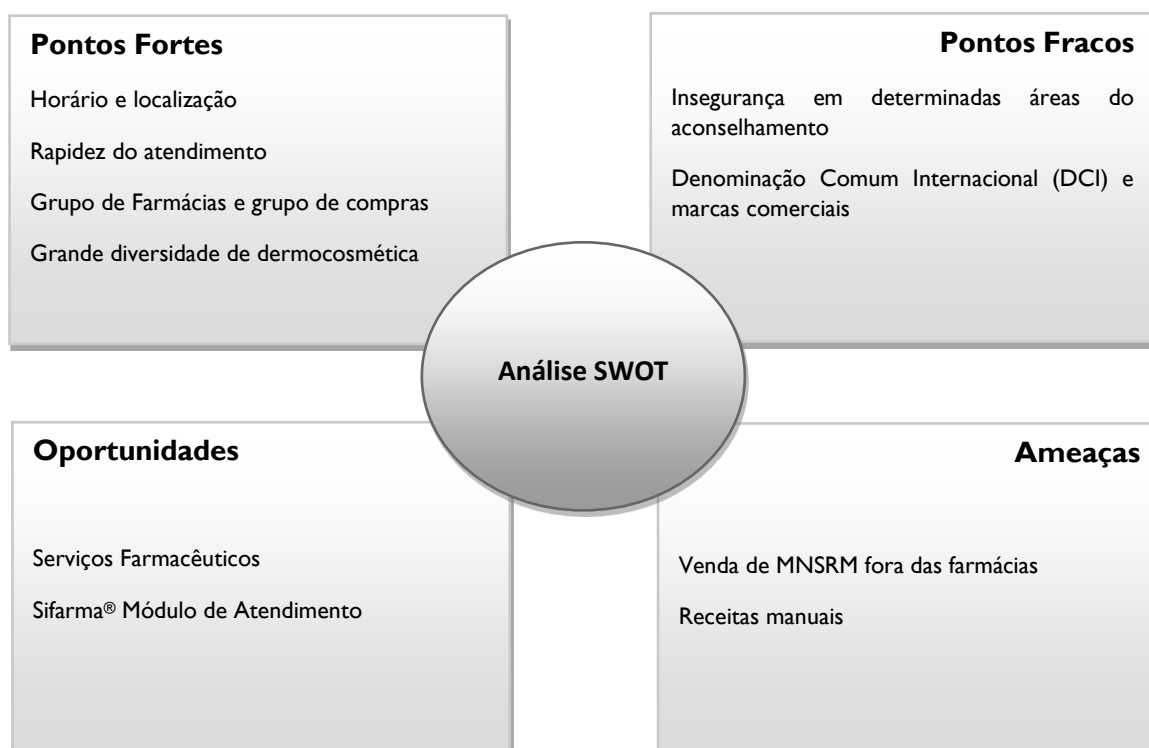


Figura I – Representação esquemática do resumo da análise SWOT.

2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Horário e localização

A Farmácia Correia de Oliveira apresenta um horário de funcionamento mais alargado, relativamente à normalidade das Farmácias portuguesas, uma vez que está aberta durante todos os dias do ano. Este horário é uma grande vantagem para toda a população de Almeirim, pois é a única Farmácia a dar acessibilidade ao medicamento todos os dias do ano numa cidade predominantemente rural e sem hospital.

A FCO situa-se na Rua Condessa da Junqueira n.º 48, no novo centro da cidade de Almeirim, Distrito de Santarém. A farmácia tem um grande estacionamento em frente e encontra-se próxima do centro de saúde da cidade, de escolas, parques desportivos e muitos outros serviços.

Durante o meu estágio tive oportunidade de trabalhar em diferentes dias e em diferentes horários, nomeadamente dias úteis e fins-de-semanas, constatando que existem diversos fluxos de utentes consoante os dias e as horas. Considero que foi uma grande vantagem pois permitiu-me aprender a lidar com uma maior diversidade de atendimentos e problemas para solucionar.

2.1.2. Rapidez do atendimento

A equipa da FCO é composta por 12 elementos, 6 Farmacêuticos, 3 Técnicos de Farmácia, 2 Técnicos Auxiliares de Farmácia e uma Auxiliar de Limpeza. Esta é uma equipa jovem que proporciona um ambiente positivo e dinâmico à farmácia, sendo um dos fatores que também acrescentou valor ao meu estágio. Para além destas características a farmácia adquiriu um robô para automatizar o armazenamento de medicamentos e a sua dispensa automática. Assim sendo, durante um atendimento, o farmacêutico não tem de abandonar o balcão para ir procurar e trazer o medicamento para o doente, uma vez que a dispensa é feita automaticamente por saídas mesmo por detrás dos balcões. A redução deste tempo de espera pelo utente, aliado à já existente rapidez da equipa, traz ainda mais qualidade ao atendimento pois dessa forma é possível fazer um esclarecimento e uma indicação farmacêutica mais profunda e mais focada, sem interrupções. A indicação farmacêutica é um dos aspetos mais importantes que um farmacêutico comunitário pode fornecer ao utente, portanto, este ponto em especial, teve grande impacto na minha educação durante o estágio. Para além do robô de armazenamento, a farmácia dispõe também de uma caixa de pagamento automática, que está conectada ao sistema informático e auxilia nos pagamentos em numerário, reduzindo os erros e aumentando a rapidez do atendimento.

2.1.3. Grande diversidade de dermocosmética

A FCO possui uma vasta gama de produtos de dermocosmética com diversas marcas, que satisfazem as necessidades da população de Almeirim, cidade onde há poucos espaços comerciais que contenham este tipo de produtos. Estes produtos também acrescentam valor e qualidade a certos atendimentos em que a introdução de um produto dermocosmético ao tratamento resolve a condição de saúde do utente, ou melhora-a. Os farmacêuticos estão sujeitos a formações constantes sobre aconselhamento em dermocosmética, sendo que durante este estágio frequentei algumas delas. É também usual a visita à farmácia pelos consultores técnicos das marcas e delegados comerciais que nos atualizam sobre as mais recentes novidades e tecnologias farmacêuticas nestes produtos, que estão sempre a inovar. Tive oportunidade de presenciar a introdução de uma nova marca de dermocosmética na farmácia, a NUXE®. A introdução desta marca demorou cerca de dois dias, contabilizando as formações necessárias e a reorganização do espaço para montar os lineares e dispor os produtos. Todas estas experiências contribuíram fortemente para um aprofundamento dos meus conhecimentos em dermocosmética e para um melhor conhecimento deste mercado.

2.1.4. Grupo de farmácias e grupo de compras

Os proprietários da FCO possuem mais do que uma farmácia. Para organização, possuem um sistema de gestão e contabilidade que dá apoio às farmácias e também um estafeta que circula entre elas. Este foi um ponto forte no meu estágio pois pude observar como funciona a transferência entre medicamentos entre duas farmácias e caso houvesse falta de um medicamento na FCO podia sempre verificar no sistema se a outra farmácia o tinha disponível e poderia transferi-lo, resultando numa maior qualidade de atendimento para o utente. Cerca de metade das farmácias do país pertencem a um grupo de compras, este também é o caso da FCO. O facto de estar inserida num grupo deste género permite uma maior organização e negociação com vários laboratórios melhorando a rentabilidade da farmácia e principalmente garantir preços de MNSRM mais competitivos com os dos outros locais de venda de MNSRM e mais atrativos para os utentes, especificamente os que têm fracos recursos económicos. Todas estas características permitiram alargar a minha visão relativamente à estratégia de negociação, ao marketing farmacêutico, e também ao cariz solidário e social da profissão farmacêutica.

2.2. Pontos Fracos

2.2.1. Insegurança em determinadas áreas do aconselhamento

O atendimento ao público e o aconselhamento farmacêutico são atos muito complexos que requerem confiança e uma boa comunicação entre utente e farmacêutico. Aconselhamento é o ato através do qual o farmacêutico orienta, sugere, alerta, informa e tenta obter a concordância do doente, de modo a garantir a tomada de uma decisão correta sobre a melhor forma de cuidar da sua saúde.

Os diversos tipos de situações que levam à indicação farmacêutica são: - quando o utente procura ajuda devido a certos sintomas que possui, - quando o utente procura um medicamento específico ou mesmo - quando o utente procura saber mais sobre saúde em geral solicitando conselhos relacionados com a mesma. Na indicação farmacêutica, o farmacêutico deve encontrar a solução que melhor responde às necessidades do utente, seja esta a indicação de um MNSRM, aconselhamento de medidas não farmacológicas ou a referenciação ao médico.

Quando comecei a atender utentes senti bastante dificuldade e insegurança na indicação farmacêutica, uma vez que ainda não conhecia bem todos os produtos disponíveis ou qual seria o mais indicado para cada situação. Tive de recorrer várias vezes aos farmacêuticos mais experientes na farmácia para me auxiliarem no aconselhamento e na indicação farmacêutica para que o utente tivesse um atendimento mais completo possível. É por esta razão que o farmacêutico tem a obrigação de estar permanentemente atualizado e em constante formação.

2.2.2. Denominação comum internacional (DCI) e marcas comerciais

Voltando à questão da indicação farmacêutica, outro ponto onde me senti menos à vontade foi a associação entre DCI e a marca comercial. Muitas vezes utentes pediam especificamente medicamentos pelo nome comercial e não conseguia associar de imediato ao princípio ativo, ou noutras situações quando perguntava ao utente a história medicamentosa e não reconhecia o medicamento tinha de o pesquisar para me orientar. Esta dificuldade é explicada pelo facto de durante o curso serem pouco frequentes as vezes em são referidos os nomes comerciais, sendo preferencial a menção ao DCI. O Sifarma[®] Módulo de Atendimento, sistema que se encontra em todos os computadores da FCO foi uma ferramenta bastante útil para ultrapassar esta adversidade e o facto de as prescrições médicas virem escritas na forma de DCI também é uma mais-valia para os estagiários.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Serviços farmacêuticos

A FCO dispõe de um leque de opções no que toca a serviços farmacêuticos centrados na promoção da saúde e bem-estar dos seus utentes. Alguns dos serviços disponíveis são a determinação de parâmetros antropométricos, bioquímicos e fisiológicos (IMC, colesterol, glicemia, pressão arterial), consulta de nutrição, entregas ao domicílio, Valormed, programa de troca de seringas, administração de injetáveis e de vacinas não incluídas no PNV, TRAg, preparação de medicamentos manipulados, preparações extemporâneas e PIM. Todos estes serviços foram ótimos para a minha educação como futuro farmacêutico pois permitiram-me descobrir a versatilidade e diversidade que as farmácias comunitárias podem ter. Os testes TRAg (teste rápido de antigénio) tiveram particularmente um grande impacto no meu estágio, uma vez que, o período em que estagiei (pleno epicentro da pandemia de COVID-19) foi aquele durante o qual houve uma grande afluência para a realização deste tipo de testes (além da acessibilidade das farmácias ocorreu também a obrigatoriedade de realização dos testes para várias atividades). Falo nesta testagem como uma oportunidade pois, na minha opinião, foi uma grande conquista para o farmacêutico comunitário e também para a classe farmacêutica poder ajudar a população e o SNS através de um diagnóstico que era tão temido na altura. Com este ato foi permitido ao farmacêutico comunitário efetuar um diagnóstico de uma doença altamente transmissível.

2.3.2. Sifarma® Módulo de Atendimento

Na FCO o Sifarma® 2000 é apenas utilizado para algumas atividades em que o Sifarma® Módulo de Atendimento ainda não é prático, tal como a receção de encomendas. De resto, a equipa trabalha com o sistema mais moderno e na vanguarda da tecnologia, o qual é ao mesmo tempo simples e intuitivo. Poder aprender com o *Software* informático mais recente é uma grande vantagem para qualquer farmacêutico comunitário que entre no mercado de trabalho, pelo que coloco assim este ponto como uma grande oportunidade.

2.4. Ameaças

2.4.1. Venda de MNSRM fora das farmácias

Os MNSRM podem ser vendidos em locais fiscalizados pelo INFARMED, os quais são muitas vezes denominados espaços de saúde. Estes pontos de venda banalizaram a utilização destes medicamentos sem o devido aconselhamento farmacêutico, o que pode ter

consequências graves para o utente em determinadas situações. Contribuíram também para o desprestígio e descredibilização do farmacêutico comunitário e para a má avaliação do impacto que estes medicamentos podem ter na saúde. Apesar dos mesmos serem comprados em grande escala por diversos locais de venda (espaços de saúde), as farmácias organizaram-se entre si em grandes grupos superando o volume de compras destes locais e conseguindo competir com eles a nível de preços. Esta adaptação por parte das farmácias veio ajudar a combater o uso de MNSRM de forma irracional ou por automedicação, uma vez que com a equiparação dos preços as pessoas optam por adquiri-los na sua farmácia de eleição.

2.4.2. Receitas manuais

A introdução das receitas eletrónicas trouxe enormes benefícios para o farmacêutico, para o utente e para a farmácia. Atualmente, este tipo de receita é a mais utilizada, mas ainda é normal haver algumas receitas manuais. A prescrição manual é permitida apenas em situações excecionais tais como falência informática, inadaptação fundamentada do prescritor, prescrição no domicílio, até um máximo de 40 receitas por mês. Este tipo de receitas requer uma atenção especial devido à enorme variedade de aspetos que é necessário conferir e é habitual haver dificuldades em interpretar a terapêutica, uma vez que esta é escrita manualmente. Este é um problema que pode gerar dificuldade ao farmacêutico e atrapalhar o atendimento sendo por vezes necessário contactar o médico prescritor. Por vezes estas receitas também vêm com falta de dados essenciais (vinheta do médico, plano de comparticipação, n.º utente, data incorreta entre outros). A ferramenta Sifarma[®] foi, mais uma vez, bastante útil nestas situações, uma vez que me permitiu consultar a história medicamentosa do doente e elucidar sobre a terapêutica a realizar.

3. Casos Práticos

3.1. Caso prático I – Síndrome do Intestino Irritável

Um jovem adulto de 27 anos entrou na farmácia e queixou-se de dor abdominal e também de diarreias. Disse que estava assim já há 2 meses. Lembrava-se de que isto tinha começado quando comeu ovos estragados e teve uma gastroenterite. Esteve alguns dias mal, e tratou-se com antibiótico mas não voltou ao normal desde então tendo alternância entre dias bons e dias maus. Perguntei-lhe se tomava algum tipo de medicação e sobre a sua alimentação, e ele disse que não tomava medicamentos e que a alimentação não tinha sido alterada.

Após avaliar a situação considerei a possibilidade de o utente sofrer de Síndrome do Intestino Irritável (SII). Assim sendo, indiquei-lhe Alflorex[®], 1 cápsula por dia. Este suplemento é constituído por *Bifidobacterium longum* 35624, um probiótico capaz de modular a microbiota intestinal e reduzir todos os sintomas associados a SII, como a dor abdominal, o inchaço/gases e a diarreia e/ou obstipação. Alflorex[®] já foi, no passado, um MNSRM tem efeito comprovado garantindo assim ser uma opção segura para o utente. Como terapêutica não farmacológica, indiquei prática de exercício físico e evitar situações de stress no dia-a-dia. Recomendei ainda que consultasse o médico para confirmar esta suspeita e excluir outras possibilidades, uma vez que existem muitas outras doenças gastrointestinais com sintomas semelhantes.

3.2. Caso prático II – Constipação/Gripe

Uma utente adulta ligou para a farmácia queixando-se de sentir dores no corpo, febre, arrepios, dor de garganta e nariz entupido. Questionei-a sobre dificuldade em respirar ou perda de paladar ou olfato, a mesma referiu que não tinha nenhum destes sintomas. Perguntei se tinha tido algum contacto de risco nos últimos dias. A utente referiu que não teve nenhum contacto de risco. A utente estava bastante preocupada e disse não querer ir ao hospital por ter medo de estar com COVID-19 mas que também tinha receio de contaminar outras pessoas com quem residia. Aconselhei a senhora a vir fazer um teste rápido de antigénio (TRAg) à farmácia. A utente veio pouco tempo depois, realizou o teste com um farmacêutico, o qual deu negativo. Eu registei o teste no SINAVE, e informei-a sobre o resultado do teste, acompanhado pela minha orientadora. De seguida, e com as informações que tinha da utente presumi que fosse uma constipação/gripe, portanto indiquei Antigrippine Trieffect[®] (paracetamol 500 mg + fenilefrina 5 mg) em comprimidos para tomar a cada 4 horas por

administração oral até um máximo de 4 comprimidos por dia para controlar a febre e as dores no corpo e o nariz congestionado.

Para a garganta indiquei umas pastilhas Arkovox[®] mel e limão para chupar até 5 vezes por dia até deixar de sentir o desconforto na garganta. Ainda recomendei Cecrisina[®], uma vitamina C, para reforçar o sistema imunitário e que fizesse higiene nasal com uma água do mar antes de se deitar. Posteriormente sugeri que a utente estivesse atenta ao seu estado de saúde e se no prazo de uma semana ainda não houvesse melhorias que consultasse o médico. No caso da febre, se esta não baixasse em 3 dias teria de consultar o médico de imediato. E independentemente de a condição evoluir favoravelmente deve informar o médico desta ocorrência.

3.3. Caso prático III – Insónia

Um senhor com 34 anos entrou na farmácia e queixou-se que não conseguia adormecer. Disse que ficava às voltas na cama sem conseguir dormir e quando se encontrava nesta situação decidia mexer no telemóvel para ver conteúdos nas redes sociais. Só adormecia horas depois do horário normal a que habitualmente se deitava. Quando lhe perguntei sobre o seu quotidiano normal respondeu que andava stressado com situações pessoais, tinha uma alimentação equilibrada e frequentava uma aula de ginástica uma vez por semana, não fumava e tomava apenas um café ao pequeno-almoço. O utente referiu também que não tomava medicamentos. Após estas informações decidi indicar Dormidina[®] (25 mg de doxilamina), que é um anti-histamínico de primeira geração com um forte efeito sedativo. Recomendei tomar meia hora antes de deitar durante uma semana tentando regular os ciclos. Sugeri que fizesse higiene do sono antes de se deitar, nomeadamente evitar telemóvel ou ecrãs e praticar uma rotina indutora de sono com hábitos relaxantes (evitar luzes e ruídos fortes, fazer uma leitura calma ou um banho relaxante antes de dormir, criar condições ideais no quarto para um melhor sono, evitar café, álcool, tabaco nas 6h horas antes de se deitar). O exercício físico é um bom aliado a um melhor sono, portanto aconselhei que fosse mais vezes à ginástica durante a semana, desde que este fosse evitado nas 4h antes de se deitar. Combinei em fazer uma reavaliação dentro de uma semana para ver se o problema estava resolvido ou se era preciso adaptar a terapêutica ou encaminhar para um médico especialista na área.

3.4. Caso prático IV – Conjuntivite

Uma mulher de 33 anos entrou na farmácia e solicitou ajuda pois estava a lacrimejar constantemente, tinha o olho direito bastante vermelho e com comichão. Perguntei se utilizava lentes de contacto, se fumava ou se tinha bebido no dia anterior e se tinha rinite alérgica. A utente respondeu que não a todos. Questionei-a sobre a duração do desconforto e referiu que já se encontrava assim há um dia. Fiz mais uma observação e verifiquei que o olho se encontrava irritado, com secreções amarelas. Com todos estes pontos expliquei que a utente estava a apresentar um quadro de conjuntivite e que provavelmente seria de origem bacteriana devido à coloração amarelada das secreções. Sugeri à utente que fosse consultada por um médico para resolver rapidamente a situação. Entretanto até à consulta, para um alívio ocular rápido, indiquei Hidrocil® Filac, uma solução oftálmica de conforto, para colocar 2 gotas sempre que sentir desconforto. Recomendei que utilizasse uma toalha individual (sem a partilhar com mais ninguém) para ela e que lavasse o olho com soro fisiológico e o secasse muito cuidadosamente, sem nunca usar esse mesmo toalhete no outro olho. A utente regressou mais tarde nesse dia com uma receita para um antibiótico tópico ocular.

3.5. Caso prático V – Tosse na criança

Um senhor chegou ao balcão e solicitou um remédio para a tosse. Quando lhe perguntei qual a sua sintomatologia ele referiu que o medicamento que necessitava seria para a filha de seis anos, que está com tosse há mais de 3 dias. Fiz uma série de perguntas, para excluir hipóteses, tais como se a filha tinha dificuldade em respirar, se tomava algum medicamento, se era diabética, se tinha rinite alérgica ou asma. A todas estas questões o utente respondeu-me que não. Seguidamente perguntei se a filha tinha tosse com ou sem expetoração, para poder distinguir entre tosse produtiva ou seca, e se tinha alguma dor. O senhor respondeu-me que era tosse com alguma expetoração e que a filha tinha dor de garganta. Depois de todas estas questões sugeri um xarope, adjuvante mucolítico que fluidifica as secreções, reduzindo a viscosidade e facilitando a libertação da expetoração, o Benflux® 3 mg/ml xarope (Cloridrato de Ambroxol). Este medicamento na forma de xarope irá promover a diminuição da expetoração e do reflexo da tosse. Como posologia indiquei que desse 1 colher medida (5ml) duas vezes ao dia, sempre no fim das refeições. Como medidas não farmacológicas indiquei que aplicasse aerossóis de soro fisiológico esterilizado, como Rhinomer® força suave, também recomendei beber chá e água ao longo do dia, de modo a hidratar as vias respiratórias superiores e também para fluidificar a expetoração, e evitar utilização abusiva de aquecedores, pois estes secam muito o ar e são mais agressivos para as vias respiratórias.

4. Conclusão

Estando completo o meu estágio considero que este é um elemento fulcral na conclusão do MICF. Penso que este estágio é indispensável para a formação de todos os farmacêuticos e que deveríamos ter mais exemplos práticos ao longo do curso. Na minha opinião facilitava um melhor aprofundamento dos conhecimentos e uma melhor retenção das matérias.

Para além de me permitir colocar os conhecimentos em prática pude desenvolver novas habilidades e descobrir que ser farmacêutico comunitário vai muito mais além dos assuntos relacionados com o medicamento. A farmácia comunitária e a profissão de farmacêutico comunitário são áreas multidisciplinares e muito versáteis que, para além de conhecimento em saúde e farmácia, envolvem noções de gestão, *marketing*, comunicação e organização. O farmacêutico comunitário, tem um papel preponderante na saúde dos utentes e deve saber fazer uma avaliação independente para cada situação em particular com o objetivo primário de melhorar a saúde do utente em causa.

Consegui ver em mim próprio uma evolução desde o início até ao final do estágio na medida em que passei a sentir-me mais confiante, mais propriamente na parte do atendimento ao público e desenvolvi várias *soft skills* que tenho a certeza de que me irão beneficiar bastante no futuro.

PARTE II

Monografia

“Potencialidades e aplicações do *Tenebrio molitor* no mercado alimentar e farmacêutico”

Sob a orientação do Professor Doutor Saul Campos Pereira da Costa

LISTA DE ABREVIATURAS

ADF – Acid detergent fibre

AMCase – Acid chitinase

Caco2 – Immortal cell line associated with colorectal cancer

CE – Conventional solvent extraction

DPPH – 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

DPP-IV – Dipeptidyl peptidase IV

DPP-IV I – Dipeptidyl peptidase IV inhibitors

EFSA – European food safety authority

HepG2 – Immortal cell line associated with liver cancer

HHP – High hydrostatic pressure

SEM – Scanning Electron Microscope

TM – *Tenebrio molitor*

UPLC/FLR – Ultra-high performance liquid chromatographic and fluorescent method

XRD – X-ray powder diffraction

RESUMO

Atualmente é cada vez maior a preocupação com a sustentabilidade ambiental de forma a garantir que gerações futuras usufruam dos recursos naturais que existem hoje. Com o agravamento dos problemas relacionados com o aquecimento global são necessárias novas estratégias para assegurar a manutenção de recursos. A insuficiência de proteínas a nível mundial e a fome que advém dessa carência é um dos grandes problemas que necessitam de resolução urgente. Uma das estratégias a utilizar para salvaguardar essa continuidade é a utilização dos insetos, nomeadamente do *Tenebrio molitor*, na dieta humana e animal. O conceito de entomofagia não é novo, sendo algo já praticado por biliões de pessoas, especialmente em zonas asiáticas.

O *Tenebrio molitor* é um inseto que foi reconhecido como alimento funcional pela União Europeia, tendo sido dado um parecer positivo para a sua alimentação em 2021. Este inseto possui uma série de características especiais que o tornam numa ótima fonte de produtos, podendo estes ser utilizados na alimentação ou na área farmacêutica. Os produtos em questão são a proteína, a quitina, o quitosano e o óleo, todos eles extraídos do inseto *Tenebrio molitor*.

Assim sendo, o objetivo deste trabalho é descrever e compilar algumas das características encontradas nos produtos que se podem extrair do *Tenebrio molitor* e analisar as condições que têm para serem aplicadas na indústria alimentar e na indústria farmacêutica. Pretende-se alertar para as potencialidades do mesmo de forma a incentivar novos estudos e novos desenvolvimentos industriais.

Palavras-chave: *Tenebrio molitor*, sustentabilidade, farinha de inseto, proteína, quitosano, óleo, indústria alimentar, indústria farmacêutica.

ABSTRACT

Nowadays, there is an increasing concern with environmental sustainability in order to ensure that future generations enjoy the natural resources that exist today. With the aggravation of the problems related to global warming, new strategies are needed to guarantee the sustainability of resources. The insufficiency of proteins worldwide and the hunger that comes from this lack is one of the major problems that need urgent resolution. One of the strategies to be used to safeguard this continuity is the use of insects, in particular *Tenebrio molitor*, in the human and animal diet. The concept of entomophagy is not new, being already practiced by billions of people in the world, especially in Asian areas.

Tenebrio molitor is an insect that has been recognized as a functional food by the European Union, that has given to it a positive opinion for its use as food in 2021.

This insect has a series of special characteristics that make it a great source of products, which can be used in food or in the pharmaceutical areas. The products in question are protein, chitin, chitosan and oil, all of which are extracted from the *Tenebrio molitor* insect.

Therefore, the main goal of this work is to describe and compile some characteristics found in the products that can be extracted from *Tenebrio molitor* and to verify if they have conditions to be applied in the food industry and in the pharmaceutical industry. It is intended to alert to its potential in order to encourage new studies and new industrial developments.

Keywords: *Tenebrio molitor*, sustainability, insect meal, protein, chitosan, oil, food industry, pharmaceutical industry.

I. INTRODUÇÃO

I.1. Sustentabilidade na produção

Nos dias de hoje a proteção do meio ambiente e a sustentabilidade tornaram-se dois objetivos fundamentais para toda a sociedade. Os efeitos adversos das mudanças climáticas são sentidos por grande parte da população mundial, o que requer uma mudança de comportamento urgente para reverter este cenário.

Em 2021 a União Europeia comprometeu-se a reduzir as emissões de gases com efeito de estufa, tendo como objetivo atingir a meta de emissões líquidas nulas até 2050, legalmente vinculativa para todos os Estados-Membros. A produção animal é o maior contribuinte para as emissões destes gases, sendo por isso importante a redução da quantidade de produtos animais que comemos (particularmente carne de vaca) e o aumento da eficiência das práticas agrícolas.

Os produtos de origem animal (carne, peixe, leite e ovos) são as principais fontes alimentares de proteína, e deverão ser parcialmente substituídos por fontes mais sustentáveis. Têm assim surgido a soja, as leguminosas e finalmente os insetos, que são parte da solução. Estes últimos, para além do aporte proteico, têm também outros constituintes importantes a nível farmacêutico que devem ser estudados e explorados.

A entomofagia tem duas vantagens principais, é nutricionalmente boa e é responsável no campo ambiental. Na redução do impacto ambiental verifica-se:

- Os insetos emitem menos gases nocivos por quilo de peso vivo do que aqueles gerados pelos animais de quinta mais comuns.
- Os insetos consomem menos recursos que o gado tradicional.
- Os insetos precisam de menos água para produzir proteína.

A criação de insetos contamina em menor proporção que os suínos, explorações avícolas, motivo pelo qual muitos estão a adotar uma alimentação mais sustentável: somos mais de 7,53 bilhões de seres humanos no planeta, com um buraco na camada de ozono medindo mais de 23 milhões de quilómetros quadrados (Llorente, 2018).

Está na hora de pensar no nosso futuro e no do nosso planeta em busca de alternativas que nos permitam alimentar sem ter de pagar o alto custo ambiental.

Espécie	Inseto	Galinha	Porco	Vaca
Gases de efeito estufa (g) por cada kg de peso	2	x	1130	2850
Alimento necessário (g) por cada kg de peso	1,7	2,5	5	10
Terreno necessário (m ²) para cada g de proteína	18	51	63	254
Água necessária (L) para cada g de proteína	23	34	57	112

Figura 1 – Condições necessárias à criação de insetos vs condições necessárias à criação de outros animais (gado de bico, gado suíno e gado bovino) (Adaptado de Proteinsecta, 2020).

O consumo de insetos como fonte alternativa de proteína é considerado uma tendência futura e uma estratégia viável que pode contribuir potencialmente para a segurança alimentar global e para um desenvolvimento sustentável. Para além disso, as proteínas de alguns insetos têm demonstrado uma ampla gama de aplicações, como os peptídeos bioativos obtidos a partir de hidrolisados de proteínas de insetos, os quais apresentam alguma atividade terapêutica.

A ideia de utilizar e explorar os insetos, tanto na indústria alimentar como na farmacêutica parte do princípio de que a produção de insetos em massa tem uma pegada ecológica negativa, ou seja, não é prejudicial para o meio ambiente, e é economicamente sustentável. Esta razão deve-se ao rápido crescimento dos insetos, num espaço reduzido e predefinido, não sendo necessário água e grandes terrenos, podendo ser alimentados apenas com cereais e vegetais e não emitindo gases ou produtos prejudiciais ao meio ambiente.

Assim, em resposta ao aumento da preocupação com a poluição ambiental gerada pelo uso indiscriminado de polímeros sintéticos de petróleo que não são degradáveis, há a necessidade de desenvolver alternativas para reduzir este problema. Têm sido consideradas algumas alternativas como borrachas, amido ou celulose. A quitina é o segundo maior biopolímero mundial depois da celulose, e pode ser extraída de insetos.

O quitosano obtido a partir de quitina é um dos biopolímeros mais promissores na indústria farmacêutica devido à sua biodegradabilidade, biocompatibilidade, ausência de toxicidade e propriedades funcionais.

1.2. A importância das proteínas na alimentação humana e animal

As proteínas são responsáveis pela criação de tecidos nos seres vivos. Os insetos são importantes do ponto de vista nutricional, pois são ricos em proteínas essenciais e não essenciais (que o organismo não pode gerar). A composição dos insetos inclui uma alta percentagem de proteínas e outros nutrientes, como ácidos gordos e micronutrientes. Desta forma, é considerada uma alternativa saudável para alimentar os animais e humanos (Rivero Pino *et al.*, 2020).

1.3. O inseto *Tenebrio molitor*

O inseto *Tenebrio molitor* também conhecido por larva-da-farinha ou tenébrio é um inseto da ordem Coleoptera, a maior da classe Insecta (Arantes *et al.*, 2021).

Este inseto será o foco deste estudo geral, devido à sua excelente composição e características. O inseto foi aprovado para a alimentação humana pela EFSA no ano 2021 pelo que a sua utilidade na indústria da alimentação, e possivelmente outras, começará a ser mais notável (Canadas, 2021).

1.4. Ciclo de vida do *Tenebrio molitor*

1.4.1. Fases do ciclo de vida do *Tenebrio molitor*

O *Tenebrio molitor* (TM), exibe holometabolismo (ou metamorfose completa), o que significa que durante o seu ciclo de vida passa por várias metamorfoses, desde a sua fase inicial de larva até à fase de besouro (Spang, 2013). O interesse na sua criação em massa e o seu consumo é feito principalmente através da fase larval, sendo neste estágio que se considera ser edível (Canadas, 2021). A razão da fase larval ser preferível em detrimento da fase de besouro deve-se essencialmente a duas situações: - o besouro liberta um odor que afasta muitos animais, que o evitam também em termos de sabor; - o besouro possui um baixo grau de digestibilidade devido ao seu exoesqueleto, formado principalmente por quitina.

O ciclo de vida do *Tenebrio molitor* engloba 4 fases. A temperatura e a humidade influenciam significativamente o metabolismo do inseto, as temperaturas entre 25°C a 27°C e humidade entre os 30% e 70% são ótimas para o crescimento de TM (Spang, 2013).

1ª Fase – Ovos

O *Tenebrio molitor* nasce nesta fase, é uma das mais delicadas. A duração aproximada desta fase nos valores de temperatura e humidade referidos anteriormente é de 10 a 12 dias.

2ª Fase – Larva

O *Tenebrio molitor* possui um estágio entre a fase embrionária e a pupa, chamado de larva. A larva é bastante diferente do inseto adulto, principalmente na anatomia (aparelho bucal).

As larvas eclodem diretamente do ovo e é delas que se extrai a base proteica, que é o grande objeto de comercialização. A duração aproximada desta fase em condições ótimas de crescimento é de um mês até um ano (Ong *et al.*, 2018).

Finalmente, quando a larva está prestes a entrar na fase de pupa, que é seu terceiro estágio do ciclo de vida, esta entra num estado de dormência e fica imobilizada (Ong *et al.*, 2018).

3ª Fase – Pupa ou Crisálida

O estado do inseto nesta fase é praticamente imóvel. A duração aproximada desta metamorfose final nas condições referidas é de cerca de 20 dias (Canadas, 2021). Deixa então de se alimentar e fica imobilizado por uma capa protetora, passando por uma reorganização morfológica e fisiológica a nível interno, culminando na formação do inseto adulto ou imago.

4ª Fase – Besouro

Os besouros são o resultado da metamorfose da larva. A duração aproximada desta fase é aproximadamente 1 mês quando em fase de exploração intensiva, embora possa viver até 2 meses e meio em ambientes naturais, mas é nos primeiros 20 dias que são úteis para a reprodução. Podem colocar cerca de 500 ovos por inseto fêmea.

No besouro também é possível distinguir em que momento da fase se encontram, havendo dois aspetos que se têm em consideração: - Coloração do exoesqueleto do besouro, - Maturação sexual do besouro.

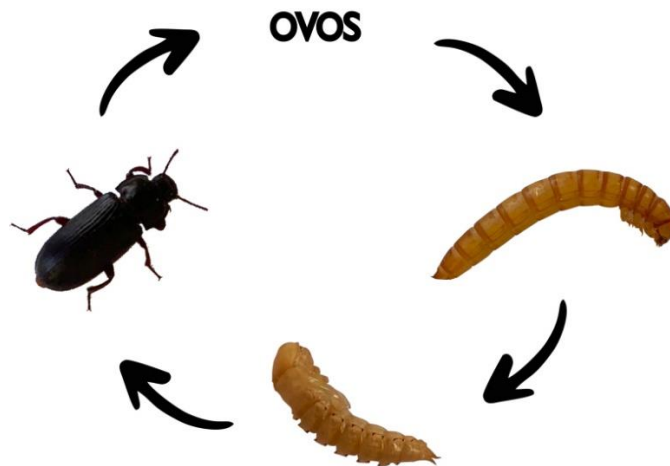


Figura 2 – Ciclo de vida de *Tenebrio molitor*

1.4.2. Noções de anatomia do *Tenebrio molitor*

O inseto *Tenebrio molitor* é invertebrado e com simetria bilateral. Uma das características externas mais marcantes é a união de segmentos para formar unidades funcionais, tanto na larva como no besouro. Na fase de besouro, os insetos fêmeas medem cerca de 10 a 18 mm e os machos de 10 a 15 mm. A estrutura nesta fase é constituída pela cabeça, tórax e abdómen. O tegumento dos insetos existe com maior prevalência na fase de besouro, sendo o intermediário entre o animal e o seu ambiente e tendo a capacidade de se regenerar. Consiste numa cobertura denominada de cutícula, cujo principal componente é a quitina, que existe numa matriz de proteínas, lípidos e outros compostos (Gonil e Sajomsang, 2012) e numa camada simples de células epidérmicas subjacentes que segregam os componentes da cutícula (Besson-Lavoignet e Delachambre, 1981; Delbecque *et al.*, 1978).

Para extrair quitina e obter o quitosano, é importante especificar a composição das cutículas do TM, a qual serviu de base para avaliar e elaborar o procedimento de fracionamento (Jantzen da Silva Lucas *et al.*, 2021). O teor de fibra existente nos insetos deve-se às proteínas da cutícula e à quitina, formando um dos constituintes da exocutícula e endocutícula dos insetos (Finke, 2007).

Nos estágios de larva, a morfologia externa de um segmento abdominal é descrita de acordo com o padrão de suas constrições (Kalogianni, Consoulas e Theophilidis, 1989), sendo que nesta fase existem 26 pares de músculos dispostos em quatro níveis diferentes na região ventral, lateral e dorsal de cada segmento.

1.5. Insetos na alimentação humana

Há já muitos séculos, em algumas regiões, que os insetos fazem parte da dieta humana, sendo principalmente utilizados como fonte alternativa de proteína (Castro, de *et al.*, 2018). Este consumo de insetos pelos humanos está associado a países localizados em África, Ásia e América (Bukkens, 1997), tendo sido este tipo de alimento subestimado pelos povos ocidentais, durante muitos anos (McGrew, 2014). No entanto, mais recentemente, este conceito de insetos como sendo um hábito alimentar primitivo e rudimentar tem sido contestado, tendo-se chegado à conclusão de que os insetos não são apenas uma fonte de alimento nutritivo, mas também uma forma mais sustentável de produção de alimento. Além disso, são uma fonte segura de proteína que pode ser consumida por humanos, animais de produção, peixes e animais de estimação, o que é demonstrado por vários estudos (Huis, van, 2021; Orkusz, 2021). Contudo, como o interesse na entomofagia surgiu há pouco tempo nos povos ocidentais, as propriedades nutricionais do inseto TM ainda não são totalmente conhecidas (Sánchez-Muros, Barroso e Manzano-Agugliaro, 2014).

2. PRODUTOS DO *TENEBRIO MOLITOR*

Os principais componentes do TM são proteínas, gorduras e fibras (sendo esta principalmente a quitina). No entanto, o potencial deste inseto vai muito mais além do que apenas estas três substâncias. Nos últimos anos foi descoberto que o TM consegue degradar poliestireno (um tipo de plástico). Esta larva possui uma bactéria no intestino, a *Exugiobacterium sp. YT2*, que é capaz de degradar mais de metade do conteúdo de poliestireno ingerido em cerca de 15h (Brandon *et al.*, 2018; Peng *et al.*, 2019). Este é, novamente, um tema que contribui para a sustentabilidade, trazendo benefícios para o ambiente.

Do ponto de vista industrial consideram-se a proteína e o óleo como produtos principais do TM, e a quitina e o “Frass” (dejetos do tenébrio) os subprodutos de TM. Porém, neste trabalho foi considerado a proteína, a quitina e o óleo como produtos principais pois são os produtos que têm maior potencial para uma futura exploração em áreas diferentes das que já estão a ser exploradas (He *et al.*, 2021).

A farinha de *Tenebrio molitor*, também designada como farinha amarela, obtém-se pela trituração ou moagem e secagem do inseto TM, a qual através de um processo de fervura ou liofilização pode ser previamente branqueada. A farinha é um dos produtos obtidos diretamente a partir da transformação do inseto TM (Dourado *et al.*, 2020), sendo grande

percentagem do seu conteúdo, proteína. É a partir da farinha de TM que se extrai o óleo e a quitina.

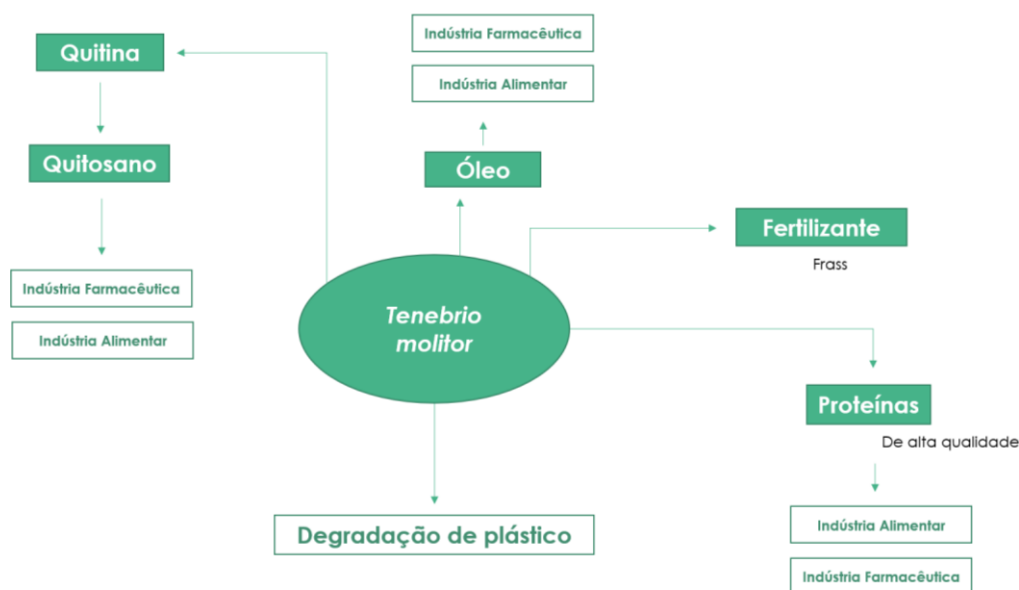


Figura 3 – Produtos e potencialidades de *Tenebrio molitor*

2.1. Proteína

2.1.1. Teor em proteína

As larvas de *Tenebrio molitor* possuem mais proteínas do que a soja, a carne bovina, a carne de frango ou o peixe e têm menos gordura do que qualquer um destes animais (Hong, Han e Kim, 2020; Li, Zhao e Liu, 2013).

A percentagem de proteína bruta aumenta após um processo de extração/remoção de gordura (com hexano e isopropanol) (Azagoh *et al.*, 2016).

A EFSA (European Food Safety Authority) realizou para a comissão da União Europeia um relatório oficial de segurança, onde caracterizou a quantidade de proteína bruta em TM na fase de larva, como é possível observar na tabela abaixo (confirmando os estudos prévios).

Tabela 1 – Análise do teor em proteína de 5 lotes através do método de Kjeldahl (Adaptado de Turck *et al.*, 2021).

Parâmetro g/100 g de TM	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5	Método analítico
Proteína Bruta	57,2	55,5	61,4	58,9	58,8	Kjeldahl (N×6,25)

Verifica-se que por cada 100 g de TM temos cerca de 58,4 g (em média) de proteína bruta.

2.1.2. Aminoácidos

A avaliação da qualidade proteica da farinha do inseto foi realizada por Azagoh através da determinação da composição de aminoácidos e foi também comparada com a de outros recursos convencionais utilizados para alimentação de gado, de salmão e humana. Segundo esta avaliação, as proteínas na farinha de larvas continham todos os aminoácidos essenciais em quantidades mais do que adequadas para consumo por humanos, exceto uma ligeira deficiência em metionina (Tabela 2 e 3).

Os aminoácidos também foram quantificados pela EFSA e foram comparados com perfis de aminoácidos de outros alimentos como a cevada, a levedura de cerveja, o peixe, a carne bovina e crustáceos. Segundo esta quantificação, o teor de todos os aminoácidos individuais foi superior ao dos alimentos utilizados para comparação, exceptuando a lisina, que foi ligeiramente superior na levedura de cerveja.

Pode então concluir-se que as proteínas da farinha do inseto são de alta qualidade, e representam um bom valor nutricional para a alimentação humana (Azagoh *et al.*, 2016).

Tabela 2 – Composição de aminoácidos essenciais (g/16 g de nitrogénio) de larvas de *Tenebrio molitor* e necessidades de proteína na dieta humana (Adaptado de Azagoh *et al.*, 2016).

Aminoácidos essenciais (g/16 g de N)	Farinha de larva de <i>Tenebrio molitor</i>	Necessidade do aminoácido na dieta humana
Histidina	2,9	1,9
Isoleucina	4,7	2,8
Leucina	8,0	6,6
Lisina	6,3	5,8
Metionina	1,4	2,5
Fenilalanina + Tirosina	9,5	6,3
Treonina	4,3	3,4
Triptofano	1,2	1,1
Valina	8,5	3,5
Cisteína	0,8	-

Tabela 3 – Composição de aminoácidos não essenciais (g/16 g de nitrogénio) de larvas de *Tenebrio molitor* (Adaptado de Azagoh et al., 2016).

Aminoácidos não essenciais (g/16 g de N)	Farinha de larva de <i>Tenebrio molitor</i>
Arginina	5,4
Glicina	5,5
Ácido Glutâmico	10,6
Ácido Aspártico	7,8
Prolina	6,0
Serina	4,6
Alanina	8,4

2.1.3. Digestibilidade

Seis farinhas de insetos de diferentes produtores foram testadas, segundo um estudo de digestibilidade das proteínas de TM. Neste estudo foi realizada uma simulação *in vitro* da digestão em duas fases, na primeira utilizando pepsina e na segunda pancreatina enriquecida com tripsina. O valor médio obtido da digestibilidade foi de 66,1%, ou seja 66,1% da farinha de *Tenebrio molitor* foi digerida (Marono et al., 2015). Existem determinados alimentos (alguns vegetais) que apresentam valores ligeiramente mais altos, o que pode estar relacionado com a quantidade de água presente nos mesmos, uma vez que a solubilidade aumenta com a interação proteína-água (Lee et al., 2019; Schaafsma, 2000). Uma das observações mais importantes neste estudo foi que a elevada quantidade de quitina dificultou a digestibilidade das proteínas, colocando-se a hipótese de que se houvesse remoção da quitina, a digestibilidade da farinha poderia ser ainda mais elevada.

No entanto a EFSA constatou que os resultados observados na literatura para a digestibilidade da proteína de TM diferem entre os diferentes estudos. As disparidades podem ser devidas às diferenças no processamento da larva, bem como ao uso de técnicas e modelos diversos. Sendo assim serão necessários e terão de ser elaborados mais estudos sobre esta matéria.

2.1.4. Solubilidade

Num estudo de Azagoh e colaboradores (2016), que veio confirmar um outro mais antigo de YE e colaboradores (2001), avaliou-se a relação do pH com a solubilidade das proteínas da farinha do inseto. Verificou-se que esta aumentou significativamente com o aumento do pH.

A solubilidade máxima atingida foi a pH 7 (88%), enquanto a solubilidade mínima foi observada a pH 3 e 4 (estes pHs foram estudados a temperaturas de 55°C, 75°C e 95°C em tempos diferentes). A explicação da baixa solubilidade para valores de pH abaixo de 4 deve-se à redução nas forças repulsivas eletrostáticas entre as proteínas, levando à agregação das mesmas. Não existe um grande impacto na solubilidade da proteína da larva com a subida de temperatura, entre os 15°C e os 45°C (Lee *et al.*, 2019; YE, LIU e HU, 2003).

Constatou-se que a uma temperatura de 30°C o perfil de solubilidade não é linear para diferentes pHs, como se observa na Figura 4, localizando-se a solubilidade mínima num intervalo de 4 a 6,4 onde 18-19% da larva permaneceu em solução.

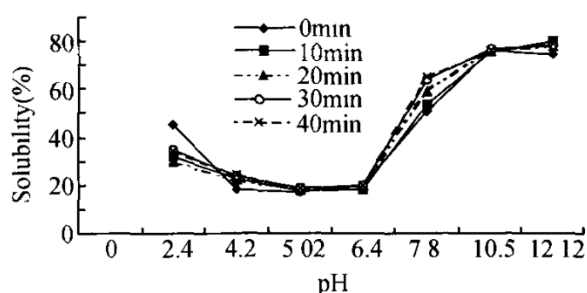


Figura 4 – Efeito do pH, do tempo de extração e da solubilidade na proteína de TM (T30°C) (YE, LIU e HU, 2003).

Abaixo da temperatura de desnaturação, a solubilidade aumenta com a interação das proteínas com água. As proteínas de TM desnaturam a partir dos 55°C, e acima dessa temperatura, a solubilidade tende a diminuir devido à redução da interação das proteínas com a água e ao aumento da exposição de grupos hidrofóbicos (Lee *et al.*, 2019).

2.1.5. Extração

As proteínas são extraídas da farinha do inseto através de solubilização em água a pH alcalino. Na extração alcalina, a desnaturação causada pelo tratamento térmico, durante o processo termomecânico, origina um menor rendimento proteico da farinha do inseto. A desnaturação de proteínas por tratamento térmico é habitualmente acompanhada por uma redução na solubilidade (Azagoh *et al.*, 2016).

Verificou-se também que o NaCl tem influência na extração das proteínas da farinha do inseto, sendo que a solubilidade aumentou com a adição de NaCl até à concentração de 0,6 mol/L, e que após este valor a concentração desceu (YE, LIU e HU, 2003).

2.2. Quitina e quitosano

A quitina é um polissacarídeo linear constituído por um polímero de cadeia longa de N-acetil-D-glicosamina e glucosamina ligadas através de ligações covalentes simples $\beta(1,4)$. Este tipo de ligação é semelhante à encontrada na celulose, o que faz com que estas moléculas tenham características semelhantes (Campana-Filho *et al.*, 2007). Depois da celulose, a quitina é considerada o polissacarídeo mais abundante na natureza (Jantzen da Silva Lucas *et al.*, 2021). É uma fibra que está presente na parede celular de fungos, no exosqueleto de crustáceos, em artrópodes e outros. Foi descoberta inicialmente em cogumelos por Henri Braconnot, em 1811, sendo identificada pela primeira vez, em 1823 por Auguste Odier em exosqueletos de insetos, o qual lhe atribuiu o nome de quitina baseando-se no nome grego “*chiton*” que significa túnica. Podemos observar a estrutura primária da quitina na Figura 5.

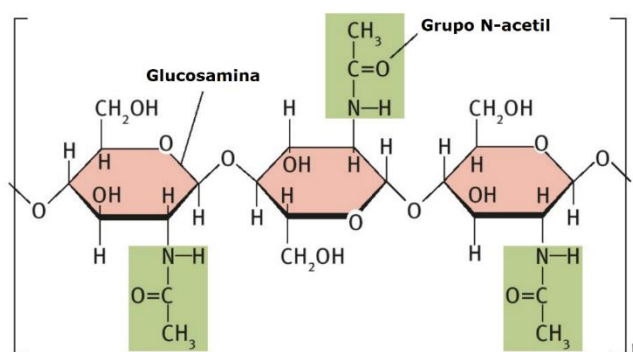


Figura 5 – Estrutura primária de quitina, onde n é o grau de polimerização (Adaptado de Berezina, 2016).

O principal derivado da quitina é a quitosano, um (1-4)-2-amino-2-desoxi- β -D-glucano catiónico. Para obter o quitosano, através da quitina, esta tem de sofrer uma reação de desacetilação.

2.2.1. Reação de desacetilação

O processo de desacetilação envolve a remoção de grupos acetilo da cadeia de quitina, transformando-a em quitosano e formando um novo grupo amina (NH_2) com alta reatividade química. O quitosano, com estes novos grupos amina, torna-se facilmente solúvel em ácidos fracos e forma soluções viscosas que podem dar origem a filmes e hidrogéis. Existem dois métodos de desacetilação: a desacetilação química e a desacetilação enzimática (Shin, Kim e Shin, 2019). O método de tratamento por desacetilação alcalina é o mais conhecido, utilizando-se hidróxido de sódio (NaOH) para promover a reação, como é possível observar na Figura 6.

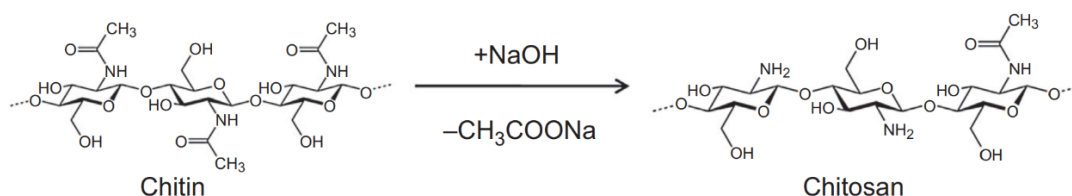


Figura 6 – Esquema de reação para desacetilação alcalina de quitina (Sivashankari e Prabakaran, 2017).

Nos métodos de desacetilação enzimática utilizam-se quitina desacetilases obtidas a partir de fungos ou outros insetos. Podemos observar na Figura 7 um exemplo de desacetilação enzimática.

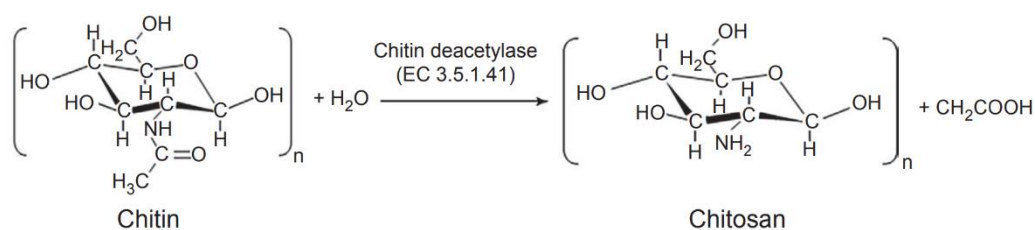


Figura 7 – Desacetilação enzimática de quitina (Sivashankari e Prabakaran, 2017).

Depois de feita a desacetilação existem métodos de controlo de qualidade para determinar o grau de desacetilação da quitina, ou seja, a pureza do quitosano. Encontrar o quitosano no estado completamente puro é algo raro na natureza, mesmo após o processo de desacetilação é possível encontrar uma estrutura de quitina-quitosano, chamado polímero de glucosamina (Figura 8). Do processo de desacetilação resultam dois copolímeros, um de N-acetil-glucosamina e um de glucosamina (Figura 9). Quando o copolímero resultante contém mais de 50% de unidades de glucosamina, já é considerado quitosano (Sivashankari e Prabakaran, 2017).

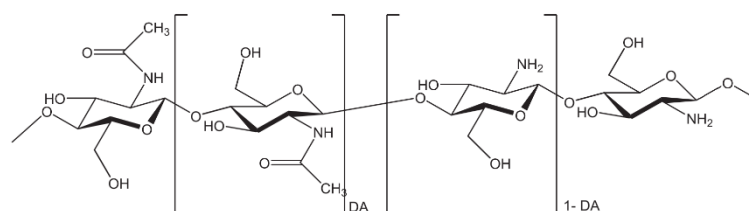


Figura 8 – Polímero de glucosamina (estrutura quitina-quitosano) (Adaptado de Han & Heinonen, 2021).

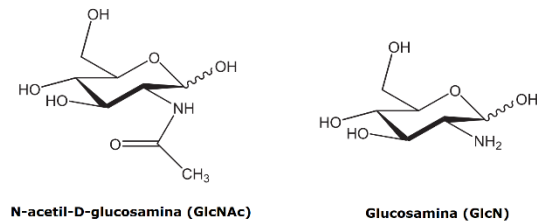


Figura 9 – Copolímero N-acetil-glucosamina e copolímero de glucosamina (Adaptado de Han & Heinonen, 2021).

2.2.2. Teor em quitina

Não existe nenhum método de referência oficial reconhecido internacionalmente para a determinação analítica de quitina. A quitina é um biopolímero de alto peso molecular, pelo que não é solúvel em água nem na maioria dos solventes, facto que dificulta a sua quantificação no inseto.

Os autores Han & Heinonen (2021) desenvolveram uma nova técnica, para além da que se baseava no cálculo direto da fibra em detergente ácido (ADF), para determinar a percentagem de quitina no TM (Finke, 2007; Thomas *et al.*, 2018). Propuseram quantificar a glucosamina usando um método com UPLC/FLR, o qual apresentou um bom desempenho.

A EFSA utilizou outra técnica e determinou os teores de quitina por quantificação dos grupos N-acetil presentes nas amostras, também na fase larvar de TM. O teor médio relatado de quitina na farinha do inseto foi de $(6,42 \pm 0,28)$ g / 100 g, ou seja $\approx 6,42\%$. A percentagem de quitina calculada com o método dos autores Han & Heinonen no TM foi de $4,6 \pm 0,1\%$. Os teores de quitina estudados são para a fase larvar, no entanto, é na fase besouro, quando o inseto é adulto, que existe maior percentagem de quitina. Uma vez que esta fase não é utilizada para produção industrial de quitosano existem poucos estudos disponíveis sobre o conteúdo de quitina em besouros. Segundo Song e colaboradores, o teor de quitina em besouros de TM é cerca de 18%, que é uma quantidade significativamente maior do que na larva (Song *et al.*, 2018).

2.2.3. Estrutura, solubilidade e digestibilidade

A quitina é uma fibra insolúvel. Esta pode ser parcialmente digerida no estômago humano pela quitinase ácida (AMCase) mas não é digerida pelo intestino delgado de forma significativa e é bastante resistente à fermentação microbiana, portanto, assume-se que é excretada praticamente inalterada. Um grupo de autores sugeriu que a redução da ingestão de quitina

nas dietas ocidentais pode ter levado à redução da expressão dos genes da AMCCase, resultando na perda da eficácia catalítica despromovendo assim a degradação de quitina (Paoletti *et al.*, 2009).

As quitinas obtidas de diferentes fontes podem ter perfis diferentes, e variar dentro da mesma espécie de inseto, dependendo das diferenças entre a estrutura das cutículas (Jantzen da Silva Lucas *et al.*, 2021). Por exemplo, o quitosano mostrou ter uma superfície lisa com muitos poros quando observado ao microscópio e a uma ampliação de 10 000 x (Figura 10).

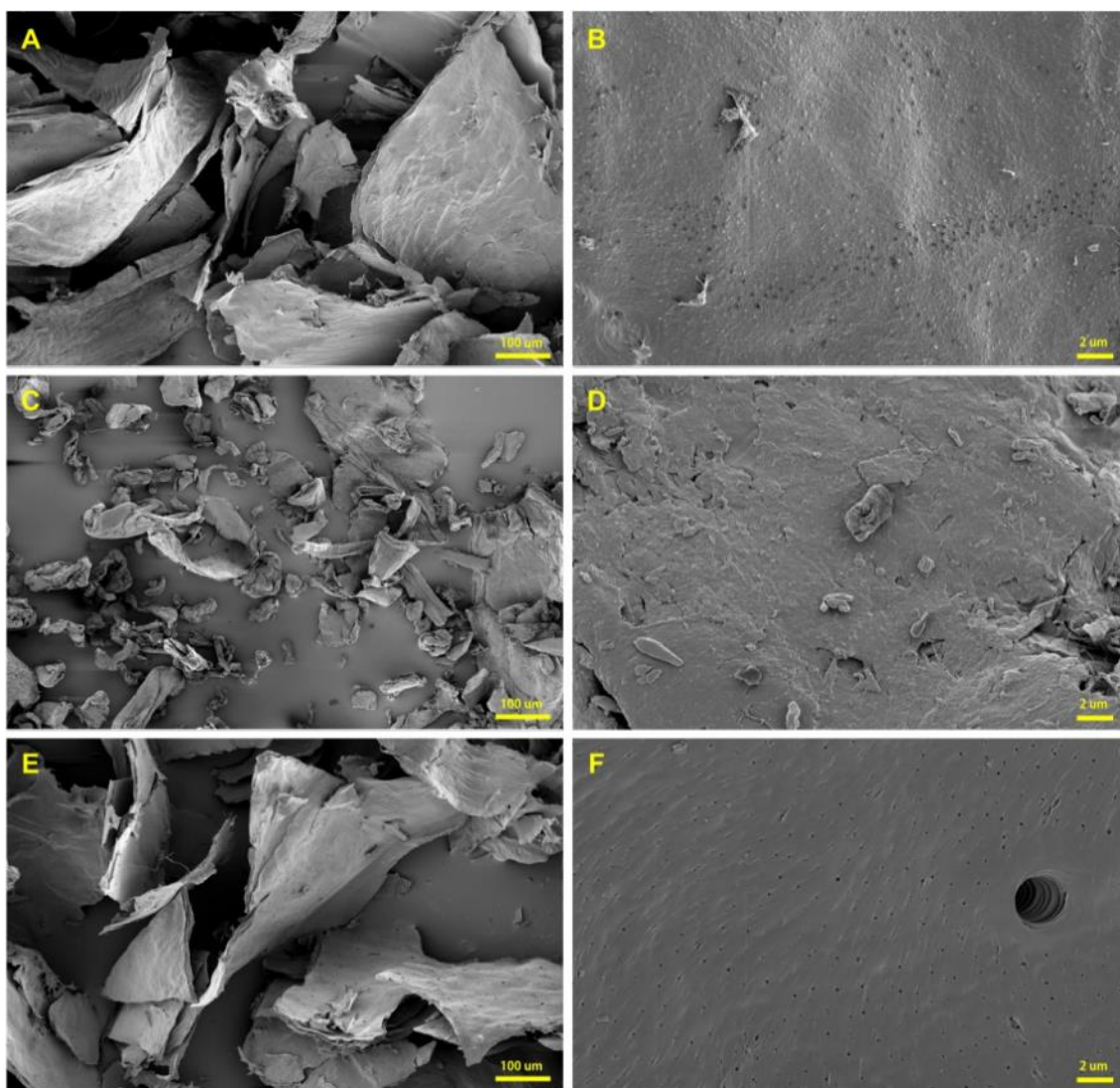


Figura 10 – Imagens de FESEM de amostras de quitina e quitosano. A,B – Imagens de quitina de TM (ampliação 300x e 10000x respectivamente), C,D – Imagens de quitina comercial (ampliação 300x e 10000x respectivamente), E,F – Imagens de quitosano de TM (ampliação 300x e 10000x respectivamente) (Adaptado de Y. Son *et al.*, 2021).

Quando comparados, quitosano obtido a partir de cutículas de *Tenebrio molitor* com quitosano comercial, nota-se uma morfologia mais rugosa, com partículas grandes e de diferentes formatos no de TM e uma morfologia mais compacta, lisa, com partículas de menor dimensão e mais uniformes no comercial, como se observa na Figura 11. (Jantzen da Silva Lucas *et al.*, 2021; Son *et al.*, 2021).

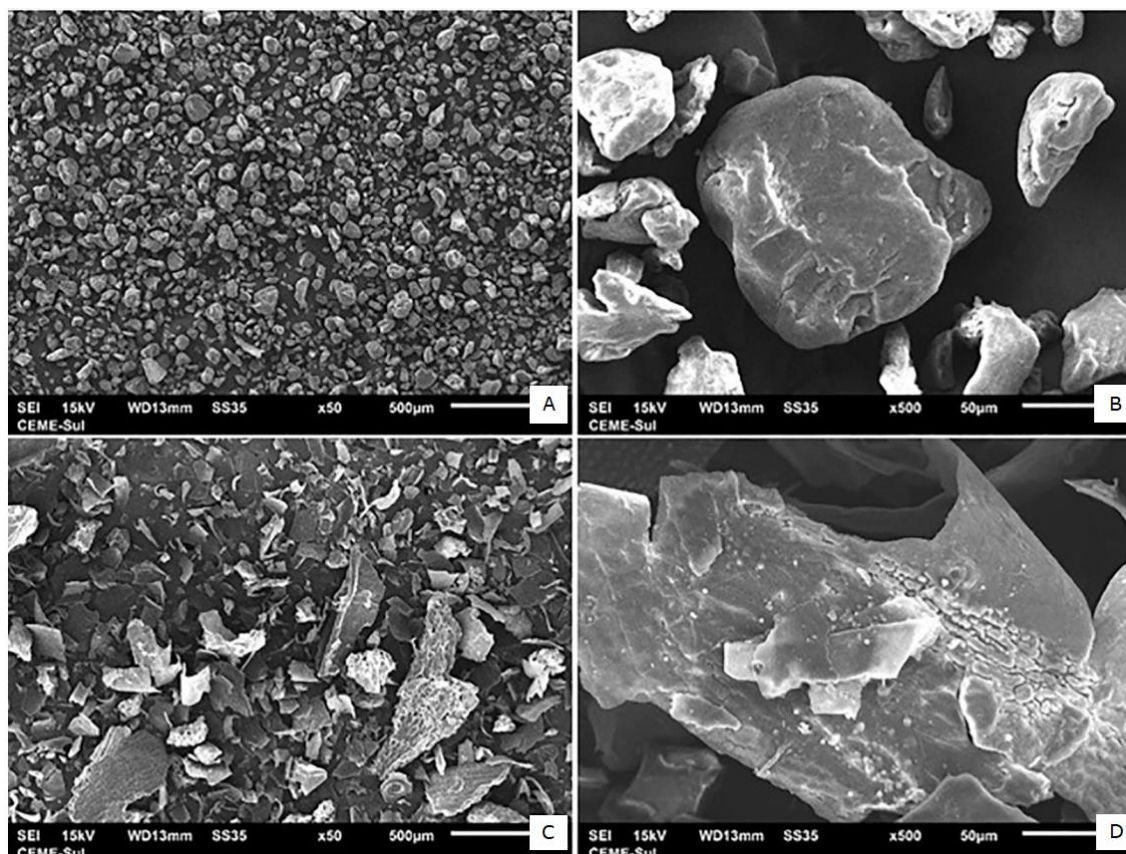


Figura 11 – Imagem SEM de A- quitosano comercial ampliação 50x, B- quitosano comercial ampliação 100x, C- quitosano de TM ampliação 50x, D-quitosano de TM ampliação 100x (Adaptado de Jantzen da Silva Lucas *et al.*, 2021; Y. Son *et al.*, 2021).

2.2.4. Cristalinidade

Para estudar a cristalinidade foi feita uma análise XRD comparando a quitina do TM, do quitosano do TM e do quitosano comercial.

Da Lucas (2021) estudou a cristalinidade da quitina de TM, do quitosano de TM e do quitosano comercial, e os resultados que obteve foram 53,7%, 30,1% e 17,9% respectivamente. A desacetilação da amostra reduz a cristalinidade, pelo que se conclui que o quitosano comercial teve a percentagem de cristalinidade mais baixa uma vez que sofre um maior grau de desacetilação (90%) (Delezuk *et al.*, 2011). Com tudo isto deduz-se que a estabilidade térmica do quitosano é menor que a da quitina original.

2.2.5. Extração

O primeiro passo no processo de extração é a remoção dos óleos da farinha de TM, onde o líquido é separado por filtração e os pós, agora desengordurados, são secos. Já com os pós secos pode fazer-se a desproteínização e por fim a desacetilação, para transformar a quitina em quitosano (Son *et al.*, 2021). Há autores que defendem que é necessário mais um passo de desmineralização, antes do passo da desproteínização (para os pós ricos em quitina comercial, que provém de crustáceos) (Srinivasan, Kanayairam e Ravichandran, 2018).

2.3. Óleo

Tal como previamente referido a composição do inseto em estudo, TM, consiste maioritariamente em proteína, gordura e quitina. No que diz respeito à gordura esta encontra-se, habitualmente, na forma líquida a temperaturas de aproximadamente 30°C. Obtém-se então um óleo que pode ser extraído do tenébrio, e que corresponde à gordura do mesmo.

2.3.1. Teor de óleo e extração

O teor de óleo presente na larva de *Tenebrio molitor* varia entre 27,2% e 38,3% em cada inseto, sendo este uma fonte de potenciais ácidos gordos essenciais e antioxidantes (Wu *et al.*, 2020).

Para realizar a extração utilizou-se farinha do inseto, que foi misturada com hexano e completamente dissolvida (Son *et al.*, 2021). Existem diferentes métodos para a extração destes óleos em particular a extração por Soxhlet, HHP (Figura 12) ou CE. Para aplicações industriais, deverá efetuar-se um estudo de viabilidade para escolher o método (Ugur *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2020).

Dos dezoito ácidos gordos encontrados no óleo de TM os mais abundantes foram ácido oleico, ácido linoleico e ácido palmítico (Ugur *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2020). A composição de ácidos gordos do óleo de *Tenebrio molitor* é muito semelhante à dos óleos vegetais e é uma fonte segura de ácidos gordos (Alves *et al.*, 2019; Son *et al.*, 2020).



Figura 12 – Moagem e extração de óleo de TM (Adaptado de Ugur *et al.*, 2021).

2.3.2. Propriedades físico-químicas

No óleo de TM, que é um líquido amarelo-claro, foi identificada a presença de tocoferol (vitamina E), que é um dos nutrientes mais importantes dos lípidos e que tem função antioxidante, prevenindo a oxidação dos lípidos por radicais livres e hidroperóxidos. A proporção em que esta vitamina foi encontrada foi de $144,3 \pm 3,0$ mg de vitamina por 1000 g óleo. O óleo do TM, para além de tocoferóis contém níveis baixos de colesterol e outros nutrientes mais residuais (Son *et al.*, 2020).

Este óleo possui uma estabilidade oxidativa muito alta, calculada através dos tempos de indução, o que significa que o óleo não é facilmente oxidado. Esta informação permitiu prever uma data de validade, ou um tempo de vida útil de cerca de 10 meses quando armazenado à temperatura de 20°C (Son *et al.*, 2019, 2020).

3. APLICAÇÕES DAS EXTRAÇÕES DE *TENEBRIO MOLITOR*

Concluimos que do *Tenebrio molitor* se podem extrair várias substâncias com valor no mercado nutricional e farmacêutico. Irá ser abordado agora a aplicação dos produtos deste inseto nesses mesmos mercados.

3.1. Proteína na indústria alimentar

As proteínas do TM são proteínas de alta qualidade e perfeitamente adaptadas para a alimentação humana, pelo que podem ser utilizadas em produtos alimentares. Esta aplicação é uma novidade na europa desde o ano passado (04/05/2021) quando foi aprovado por parte da ESFA, para o consumo humano a designada "farinha amarela" produzida a partir de insetos. Com esta aprovação os insetos deram um pequeno, mas gigantesco passo para ficar mais perto dos pratos europeus.

Assim, com esta nova adaptação surgem as fortificações de alimentos com farinha ou pó de *Tenebrio molitor*. Este é um novo ingrediente para a formulação de snacks “enriquecidos com insetos”, destacando-se este efeito nas propriedades microestruturais, texturais e nutricionais. Os métodos de processamento, como a extrusão, afetaram positivamente a capacidade de expansão dos produtos e a estrutura de poros, proporcionando também um aumento da fração proteica digestível (Gkinali *et al.*, 2022).

Entre as potenciais aplicações do TM, os produtos à base de cereais são considerados os candidatos ideais para serem fortificados com proteínas, verificando-se, por exemplo, num dos estudos feitos com pão de milho, que houve um *feedback* positivo. Observou-se uma melhoria nos teores de proteínas e aminoácidos dos pães bem como o aumento do seu volume e da sua textura, provavelmente devido ao teor lipídico da farinha do inseto. A análise sensorial em que se avaliou o sabor e a aceitabilidade pelo consumidor também teve resultados positivos (Roncolini *et al.*, 2019).

Um outro estudo foi feito com integração do TM e outro inseto, até 30%, em bolachas, tendo-se verificado que também houve um enriquecimento do teor proteico e do teor de aminoácidos. No entanto a dureza das bolachas aumentou significativamente o que se explica pela criação de uma rede de glúten. Uma vez que a farinha do inseto é um pó mais fraco e mais denso que a farinha de trigo resultou numa estrutura mais dura devido à forte ligação da

proteína e do amido por ligações de hidrogénio (Sriprabhom, Kitthawee e Suphantharika, 2022).

O uso do TM na panificação revela que um nível de substituição da farinha de trigo entre 5 a 10% por farinha de TM, pode produzir massas e pães com características tecnológicas satisfatórias tais como o volume, a textura e a cor (Figura 13) e melhor composição nutricional. A alta libertação de aminoácidos nos pães enriquecidos durante o processo de digestão podem ser considerados indicadores positivos em relação à classificação como produtos funcionais.

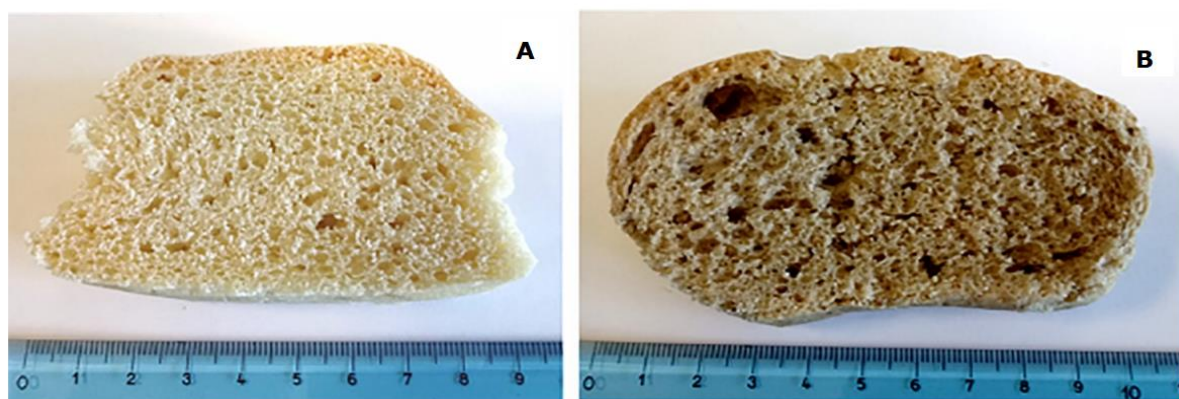


Figura 13 – A- Pão sem farinha de TM, B- Pão com cerca de 6,13 g de farinha de TM (adaptado de Roncolini *et al.*, 2019).

3.2. Proteína na indústria farmacêutica

Para além da utilização da farinha amarela do inseto no mercado da alimentação, existem uma série de características das proteínas deste inseto que têm sido estudadas para possível aplicação na área da saúde.

Há diversos estudos que exploram atividades biológicas das proteínas de TM. O termo bioatividade refere-se a componentes alimentares que podem afetar processos ou substratos biológicos. A pesquisa elaborada *in vitro* mostra que estas atividades biológicas provêm de hidrolisados de TM produzidos por um conjunto de proteases comerciais e um grau de hidrólise que varia entre 5% a 20%, consoante a sua atividade.

A funcionalidade e a potencial bioatividade de um determinado peptídeo dependem fortemente do seu comprimento e da composição em aminoácidos sendo, portanto, influenciada pelo tratamento enzimático e por parâmetros operacionais da reação de hidrólise. Esta reação é importantíssima na obtenção destes efeitos.

3.2.1. Efeito inibidor da ECA

As proteínas do TM apresentam atividade inibidora da ECA ($IC_{50} > 100$ mg/mL), no entanto esta atividade melhora bastante quando as proteínas são tratadas com enzimas específicas que as modificam transformando-as em peptídeos com uma ação mais potente. As que obtiveram maior efeito bioativo foram aquelas em que se utilizou tripsina, com um nível de hidrólise de 10% (IC_{50} 0,27 mg/mL) (Dai *et al.*, 2013; Rivero Pino *et al.*, 2020; Sun *et al.*, 2019).

O captopril (que tem como mecanismo de ação principal, a inibição da ECA) tem uma concentração de inibição de 0,006 mM ($IC_{50} = 0,006$ mM), o valor desta concentração obtido para as proteínas de TM em causa é de 0,27 mg/mL ($IC_{50} = 0,27$ mg/mL) (Mullally, Meisel e Fitzgerald, 1997). Assim tem-se:

$$MM \text{ (massa molar)}_{(\text{Captopril})} = 217,29 \text{ g/mol}$$

$$IC_{50} \text{ (Captopril)} = 0,006 \text{ mM}$$

$$\begin{aligned} 0,006 \text{ mM} &= 6 \times 10^{-6} \text{ mol/L} \\ &= 6 \times 10^{-9} \text{ mol/mL (1L = 1000mL)} \\ &= 6 \times 10^{-9} \times 217,29 = 1,3 \times 10^{-6} \text{ g/mL (1 mol = 217,29 g)} \\ &= 1,3 \times 10^{-3} \text{ mg/mL (1 g = 1000 mg)} \end{aligned}$$

Finalmente, podemos comparar o valor de IC_{50} do Captopril (0,0013 mg/mL) com o valor de IC_{50} das proteínas de TM (0,27 mg/mL) para obter-mos uma relação:

$$\text{Relação entre } IC_{50} \text{ das proteínas de TM e entre Captopril} = \frac{0,27}{0,0013} = 207,69$$

Nesta perspetiva e com base nos valores de cálculo efetuados podemos concluir que o valor da concentração (em mg/mL) de inibição (IC_{50}) do Captopril é cerca de 207 vezes menor do que o das proteínas do TM, o que faz pensar que a sua capacidade inibitória é 207 vezes maior.

Existe um estudo no qual se fala na utilização de péptidos extraídos da planta colza (*Brassica napus*) para melhorar a efetividade do captopril, quando tomados concomitantemente com ele. Este pode ser um dos rumos a seguir para as proteínas de TM. Neste estudo os

peptídeos em causa possuem um IC_{50} de 1,27 mg/mL, ou seja, uma capacidade inibitória muito inferior à das proteínas do TM. Os peptídeos de colza, quando tomados juntamente com captopril, conseguiram reduzir a pressão arterial em aproximadamente 9% e prolongar o tempo de duração do efeito anti-hipertensivo em mais de 20% do que quando apenas tomado o Captopril individualmente, em murganhos (Wang *et al.*, 2021).

Existe evidência de que alguns peptídeos com fracas atividades inibidoras da ECA *in vitro* mostram fortes atividades anti-hipertensivas após administração oral. Supõe-se que uma razão para esse fenómeno é que alguns desses peptídeos possam ser convertidos em peptídeos mais potentes por proteases gastrointestinais e então serem absorvidos e exibirem efeitos anti-hipertensivos (Rivero Pino *et al.*, 2020).

3.2.2. Efeito antioxidante

Numa averiguação sobre o efeito antioxidante de TM, obtiveram-se hidrolisados de subtilisina e tripsina (com um nível de hidrólise de 10%). Estes apresentaram atividades ótimas de eliminação de DPPH e redução férrica (sendo o DPPH e a redução férrica, compostos e ensaios para verificar a atividade antioxidante), o que foi atribuído à presença de peptídeos curtos. A atividade quelante do ferro dos hidrolisados de TM foi favorecida pelo aumento do nível de hidrólise, independentemente do tratamento enzimático (Rivero Pino *et al.*, 2020; Son *et al.*, 2020). Ou seja, verifica-se que as proteínas de TM possuem um efeito antioxidante, o qual também pode ser devido à presença de polifenóis e flavonoides.

3.2.3. Efeito inibidor da dipeptidil peptidase IV (DPP-IV)

Inibidores da dipeptidil peptidase IV (DPP-IV I), também chamados de gliptinas, são uma classe de hipoglicemiantes orais usados para tratar a diabetes *mellitus* tipo II.

Segundo um estudo, independentemente do tratamento enzimático, a atividade DPP-IV dos hidrolisados obteve uma melhoria com o aumento do grau de hidrólise. O tratamento da proteína de TM, a um nível de hidrólise de 20%, com o par de enzimas subtilisina-flavourzyme[®] mostrou uma inibição máxima de DPP-IV a IC_{50} de 2,62 mg/mL.

Concluiu-se assim que tanto o tratamento enzimático (subtilisina, tripsina, ficina e flavourzyme[®]) como o grau de hidrólise têm um impacto gigante na modulação peptídica e, consequentemente, na bioatividade das moléculas (Rivero Pino *et al.*, 2020).

3.2.4. Atividade fibrinolítica do TM

Concomitantemente, existe um estudo que mostra uma atividade fibrinolítica por parte de uma proteína do TM, a qual foi isolada, purificada (também com recurso a hidrólise e proteases) e comparada com um grupo de controlo de fibrinogénio bovino.

A dita proteína de TM apresentou forte atividade fibrinolítica, a sua massa molecular relativa é de 56,1 kD e pensa-se que pode ser uma glicoproteína. No entanto esta é uma pesquisa que necessita de mais desenvolvimento e estudos, uma vez que há poucos relatos sobre esta proteína fibrinolítica no TM (Yu, Han e Tan, 2012).

Como conclusão final destas quatro atividades relatadas os hidrolisados de *Tenebrio molitor* produzidos com proteases são uma valiosa fonte de peptídeos ativos capazes de serem utilizados como ingredientes funcionais em alimentos e preparações nutracêuticas.

3.3. Quitosano na indústria farmacêutica

Como já foi previamente abordado, o quitosano obtido a partir de quitina do TM tem diversas particularidades que o tornam numa molécula ideal para integração e desenvolvimento em produtos farmacêuticos e biomédicos. O quitosano tem muitas utilizações, sendo que neste trabalho efetuou-se uma seleção das consideradas primordiais - biocompatibilidade, efeito antimicrobiano - as quais são fundamentais para o desenvolvimento de todas as outras.

Entre outras consideradas muito interessantes, que já são alvo de pesquisa e deverão ter um grande desenvolvimento num futuro próximo, podem referir-se: - cicatrização de feridas, - efeito anticoagulante, - utilização em ingredientes cosméticos, - utilização no tratamento de águas residuais, - vetorização de fármacos, - utilização na agricultura e outras.

3.3.1. Biocompatibilidade

Biocompatibilidade é a capacidade de um biomaterial realizar uma função desejada num tratamento, sem provocar quaisquer efeitos indesejáveis locais ou sistémicos no recetor ou beneficiário desse tratamento, gerando a resposta celular ou tecidual benéfica e otimizando o desempenho clínico (Rodrigues *et al.*, 2012).

A quitina e o quitosano são biocompatíveis com órgãos, tecidos e células, e podem ser utilizados em implantes teciduais e em administrações orais e intravenosas.

O quitosano tem sido proposto várias vezes como um possível transportador de fármacos ou excipiente numa formulação farmacêutica, sendo uma das substâncias com mais aptidão para promover a libertação e vetorização de fármacos e o polímero natural mais aplicado nesta área. A sua procura para este efeito é baseada nas propriedades de mucoadesão, biodegradabilidade e no seu carácter catiónico (Berezina, 2016; Hirano, 1996; Rodrigues *et al.*, 2012).

Esta característica é um dos aspetos chave da molécula de quitosano que abre muitas portas para novas tecnologias farmacêuticas e para a engenharia de tecidos, tais como, a microencapsulação de fármacos, a produção de filmes de quitosano e a produção de hidrogéis.

3.3.2. Efeito antimicrobiano

A ação antimicrobiana que o quitosano apresenta é uma das suas características mais importantes. Este seu potencial tem sido estudado e aprofundado nos últimos anos, dado que tem um elevado interesse para várias indústrias, nomeadamente a farmacêutica. Num determinado estudo para avaliação do efeito antimicrobiano, várias placas de petri foram inoculadas com quatro estirpes de bactérias (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli*) que por sua vez, foram inoculados com soluções de quitosano de TM a 8% e de seguida incubados. A solução de quitosano a 8% apresentou atividade antibacteriana contra as quatro bactérias testadas, como é possível observar na Figura 14 (Shin, Kim e Shin, 2019; Wang *et al.*, 2011).

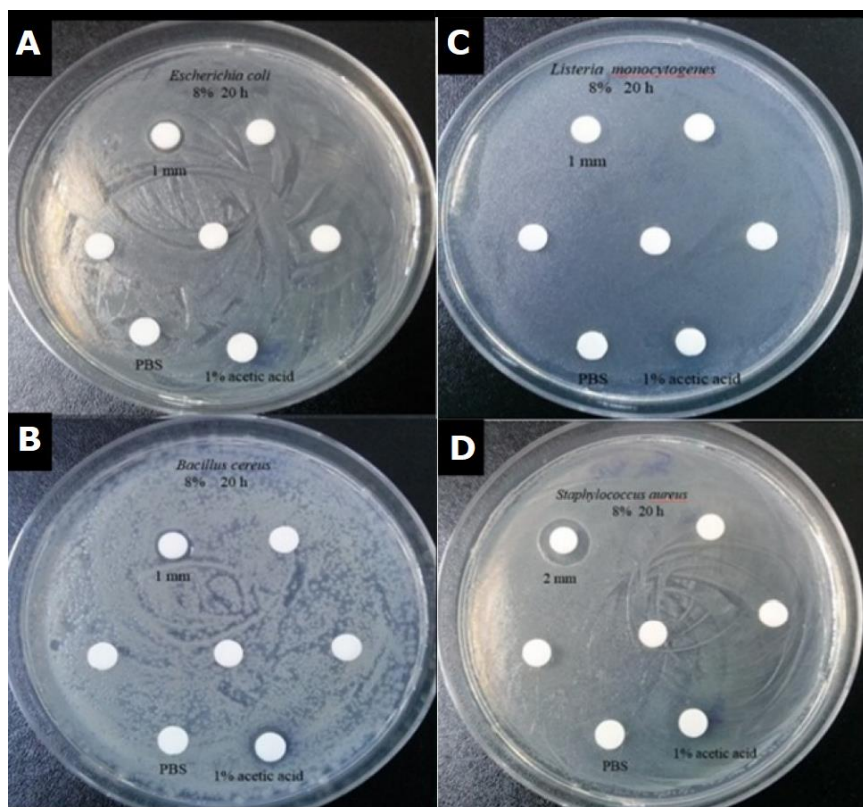


Figura 14 – Atividade antimicrobiana de *Tenebrio molitor* contra *Escherichia coli* (A), *Bacillus cereus* (B), *Listeria monocytogenes* (C) e *Staphylococcus aureus* (D) (Adaptado de Shin et al., 2019)

Foi comprovado pela primeira vez, nesta experiência, que o *Tenebrio molitor* tem atividade antimicrobiana contra bactérias patogênicas (Shin, Kim e Shin, 2019). A partir desta experiência surgiram outros “trabalhos” a corroborar esta atividade e a estudar o efeito do quitosano de TM noutras bactérias como *Salmonella Typhimurium*, apresentando também aqui atividade antimicrobiana (Ibañez-Peinado et al., 2020).

Estudos anteriores mostraram que o efeito antimicrobiano do quitosano depende do grau de desacetilação, da solubilidade na solução, do pH e do peso molecular (Ibañez-Peinado et al., 2020; Jiang et al., 2013).

3.4. Óleo na indústria alimentar

O óleo da larva da farinha é rico em ácidos gordos e tem algumas propriedades antioxidantes. Este óleo apresenta características semelhantes às de outros óleos vegetais, como por exemplo o óleo de milho. Todas as propriedades observadas indicam que pode ser utilizado na alimentação, integrado na formulação de alimentos ou como um composto nutracêutico (Son et al., 2020).

3.5. Óleo na indústria farmacêutica

O óleo de *Tenebrio molitor* não tem sido alvo de grandes estudos e ensaios, pelo que existe ainda pouca literatura científica sobre o tema. Mesmo assim, numa investigação sobre a avaliação da citotoxicidade do óleo observou-se um efeito antiproliferativo contra as células HepG2 (linha de células imortais associadas com cancro do fígado) e Caco2 (linha de células imortais associadas a cancro colorretal) nomeadamente, apoptose mediada pelas caspases -8 e -9 seguidas pela ativação da caspase-3. Este mecanismo está relacionado com o alto teor de ácidos gordos como o ómega-3, ácido oleico e ácido palmítico no óleo de TM. Estes mecanismos de ação sugerem que o óleo tem um efeito anticancerígeno podendo no futuro ser alvo de estudo de terapias naturais para tratar adenocarcinoma colorretal e carcinoma hepatocelular humano (Wu *et al.*, 2020; Zielińska *et al.*, 2021).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A desnutrição, e com ela a deficiência em proteínas, é um dos problemas mais graves a nível mundial, especialmente dos países em desenvolvimento. Assim sendo, é necessário desenvolver novos recursos para produzir proteínas. O aumento do consumo de insetos comestíveis poderá vir a impactar de forma positiva o meio ambiente para além de poder solucionar o problema da desnutrição em várias partes do planeta.

Durante este trabalho foram analisados e detalhados produtos de extração do inseto *Tenebrio molitor*: proteínas, quitina e óleo. Após esta análise verifica-se que inúmeras estratégias para aproveitar estes produtos, integrando-os em alimentos ou produtos farmacêuticos, estão atualmente a ser estudadas e desenvolvidas em todo o mundo de forma a solucionar vários problemas e contribuir para a sustentabilidade do nosso planeta. Algumas dessas estratégias já estão aplicadas na indústria (como por exemplo a integração de proteína em alimentos) mas outras (como o desenvolvimento de produtos farmacêuticos e biomédicos através de extratos de TM) ainda estão numa fase muito precoce e necessitam de mais informação e estudos. Não obstante, podem ser destacadas algumas estratégias com perspetivas futuras:

- no processo de extração o tratamento térmico deve ser bem monitorizado de forma a garantir a preservação das proteínas na sua forma original, caso contrário pode afetar a sua solubilidade e conseqüentemente a integração em produtos;
- no processamento industrial de TM a forma do inseto utilizada para produzir a farinha é a larva. Porém, quando se compara a extração de quitina da larva com a extração de

quitina do besouro, percebe-se que é possível extrair maior quantidade de quitina do besouro. Nos processos industriais de produção do inseto TM, é selecionada e isolada uma quantidade de larvas para dar continuidade ao ciclo na produção. Quando o inseto chega à fase de besouro, após colocar os ovos, ele é rejeitado. Uma tática possível seria, após obtenção dos ovos, o aproveitamento dessa fase para extrair mais quitina, conseguindo-se assim um maior aproveitamento;

- relativamente às proteínas de TM, tanto o tratamento enzimático quanto o grau de hidrólise são muito importantes pois influenciam o perfil dos peptídeos finais, podendo estas reações fazer variar as atividades biológicas destes peptídeos;
- no que diz respeito ao quitosano, deve ser feita uma boa aposta na reação de desacetilação, de modo a otimizar a pureza do quitosano, pois, como verificámos, esta vai afetar a sua estrutura final podendo afetar também as suas propriedades, como o efeito antimicrobiano.

Os resultados indicam que as propriedades funcionais dos produtos extraídos de TM podem ser manipuladas, no entanto são necessárias mais pesquisas para identificar métodos específicos para adaptá-las.

Concluimos que a farinha de *Tenebrio molitor* é uma valiosa fonte, não só de proteínas de alta qualidade, como também de quitina e óleo e que pode constituir uma nova fonte de ingredientes inovadores para aplicar na indústria alimentar e farmacêutica. É função do farmacêutico averiguar se a farinha de *Tenebrio molitor* pode ser usada como ingrediente funcional em alimentos, preparações nutracêuticas e talvez, num futuro breve, até mesmo em medicamentos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, Ariana Vieira *et al.* - Safety evaluation of the oils extracted from edible insects (*Tenebrio molitor* and *Pachymerus nucleorum*) as novel food for humans. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**. . ISSN 10960295. 102:January (2019) 90–94. doi: 10.1016/j.yrtph.2019.01.013.
- ARANTES, Vânia Maria *et al.* - Agregação De Valor À Nutrição a Partir Do Uso De Farinha De Insetos: Peixes. Em OELKE, C. A.; MORAES, G. F. DE; GALATI, R. L. (Eds.) - **ZOOTECNIA: Pesquisa e Práticas Contemporâneas - Volume I**. [S.l.] : Editora Científica, 2021. p. 120–143.
- AZAGOH, C. *et al.* - Extraction and physicochemical characterization of *Tenebrio molitor* proteins. **Food Research International**. . ISSN 18737145. 88:2016) 24–31. doi: 10.1016/j.foodres.2016.06.010.
- BEREZINA, Nathalie - Production and application of chitin. **Physical Sciences Reviews**. . ISSN 2365659X. 1:9 (2016) 1–8. doi: 10.1515/psr-2016-0048.
- BESSON-LAVOIGNET, Marie Thérèse; DELACHAMBRE, Jean - The epidermal cell cycle during the metamorphosis of *Tenebrio molitor* L. (Insecta Coleoptera). **Developmental Biology**. . ISSN 00121606. 83:2 (1981) 255–265. doi: 10.1016/0012-1606(81)90472-3.
- BRANDON, Anja Malawi *et al.* - Biodegradation of Polyethylene and Plastic Mixtures in Mealworms (Larvae of *Tenebrio molitor*) and Effects on the Gut Microbiome. **Environmental Science and Technology**. . ISSN 15205851. 52:11 (2018) 6526–6533. doi: 10.1021/acs.est.8b02301.
- BUKKENS, Sandra G. F. - Ecology of Food and Nutrition The nutritional value of edible insects THE NUTRITIONAL VALUE OF EDIBLE INSECTS. **Ecology of Food and Nutrition**. . ISSN 1543-5237. 36:November 2012 (1997) 287–319.
- CAMPANA-FILHO, Sergio P. *et al.* - Extração, estruturas e propriedades de α - e β -quitina. **Química Nova**. . ISSN 16787064. 30:3 (2007) 644–650. doi: 10.1590/S0100-40422007000300026.
- CANADAS, Carolina Beatriz Brau - **Tenebrio molitor para alimentação humana: percepção dos consumidores no mercado português** [S.l.] : Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, 2021 Disponível em: <https://recil.ensinolusofona.pt/handle/10437/12785>

- CASTRO, Ruann Janser Soares DE *et al.* - Nutritional, functional and biological properties of insect proteins: Processes for obtaining, consumption and future challenges. **Trends in Food Science and Technology**. . ISSN 09242244. 76:April (2018) 82–89. doi: 10.1016/j.tifs.2018.04.006.
- DAI, Chunhua *et al.* - Angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptide derived from *Tenebrio molitor* (L.) larva protein hydrolysate. **European Food Research and Technology**. . ISSN 14382385. 236:4 (2013) 681–689. doi: 10.1007/s00217-013-1923-z.
- DELBECQUE, Jean Paul *et al.* - Cuticular cycle and molting hormone levels during the metamorphosis of *Tenebrio molitor* (Insecta Soleoptera). **Developmental Biology**. . ISSN 00121606. 64:1 (1978) 11–30. doi: 10.1016/0012-1606(78)90057-X.
- DELEZUK, Jorge A. D. M. *et al.* - Ultrasound-assisted deacetylation of beta-chitin: Influence of processing parameters. **Polymer International**. . ISSN 09598103. 60:6 (2011) 903–909. doi: 10.1002/pi.3037.
- DOURADO, Leilane R. B. *et al.* - Chemical composition and nutrient digestibility of insect meal for broiler. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**. . ISSN 16782690. 92:3 (2020) 1–5. doi: 10.1590/0001-3765202020200764.
- FINKE, M. D. - Estimate of Chitin in Raw Whole Insects. **Zoo Biology**. 26:December 2006 (2007) 105–115. doi: 10.1002/zoo.
- GKINALI, Alkmini Anna *et al.* - Potentiality of *Tenebrio molitor* larva-based ingredients for the food industry: A review. **Trends in Food Science and Technology**. . ISSN 09242244. 119:May 2021 (2022) 495–507. doi: 10.1016/j.tifs.2021.11.024.
- GONIL, Pattarapond; SAJOMSANG, Warayuth - Applications of magnetic resonance spectroscopy to chitin from insect cuticles. **International Journal of Biological Macromolecules**. . ISSN 18790003. 51:4 (2012) 514–522. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2012.06.025.
- HAN, Xiaocui; HEINONEN, Marina - Development of ultra-high performance liquid chromatographic and fluorescent method for the analysis of insect chitin. **Food Chemistry**. . ISSN 18737072. 334:January 2020 (2021) 127577. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.127577.
- HE, Lei *et al.* - Sustainable strategy for lignocellulosic crop wastes reduction by *Tenebrio molitor* Linnaeus (mealworm) and potential use of mealworm frass as a fertilizer. **Journal of Cleaner Production**. . ISSN 09596526. 325:May (2021) 129301. doi: 10.1016/j.jclepro.2021.129301.

- HIRANO, Shigehiro - Chitin Biotechnology Applications. **Biotechnology Annual Review**. . ISSN 13872656. 2:C (1996) 237–258. doi: 10.1016/S1387-2656(08)70012-7.
- HONG, Jinsu; HAN, Taehee; KIM, Yoo Yong - Mealworm (*Tenebrio molitor* larvae) as an alternative protein source for monogastric animal: A review. **Animals**. . ISSN 20762615. 10:11 (2020) 1–20. doi: 10.3390/ani10112068.
- HUIS, Arnold VAN - Prospects of insects as food and feed. **Organic Agriculture**. . ISSN 18794246. 11:2 (2021) 301–308. doi: 10.1007/s13165-020-00290-7.
- IBAÑEZ-PEINADO, Diana *et al.* - Antimicrobial effect of insect chitosan on *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* survival. **PLoS ONE**. . ISSN 19326203. 15:12 December (2020) 1–14. doi: 10.1371/journal.pone.0244153.
- JANTZEN DA SILVA LUCAS, Andressa *et al.* - Extraction, physicochemical characterization, and morphological properties of chitin and chitosan from cuticles of edible insects. **Food Chemistry**. ISSN 18737072. 343:October 2020 (2021).
- JIANG, L. *et al.* - Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antimicrobial activity of water-soluble chitosan derivatives. **Journal of Applied Microbiology**. . ISSN 13645072. 114:4 (2013) 956–963. doi: 10.1111/jam.12111.
- KALOGIANNI, E.; CONSOULAS, C.; THEOPHILIDIS, G. - Anatomy and innervation of the abdominal segmental muscles in larval and adult *Tenebrio molitor* (Coleoptera). **Journal of Morphology**. . ISSN 10974687. 202:2 (1989) 271–279. doi: 10.1002/jmor.1052020212.
- LEE, Ha Jung *et al.* - Effects of heating time and temperature on functional properties of proteins of yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor* L.). **Food Science of Animal Resources**. . ISSN 26360780. 39:2 (2019) 296–308. doi: 10.5851/kosfa.2019.e24.
- LI, Leyuan; ZHAO, Zhiruo; LIU, Hong - Feasibility of feeding yellow mealworm (*Tenebrio molitor* L.) in bioregenerative life support systems as a source of animal protein for humans. **Acta Astronautica**. . ISSN 00945765. 92:1 (2013) 103–109. doi: 10.1016/j.actaastro.2012.03.012.
- LLORENTE A. (2018, setembro 18). Qual é o tamanho atual do buraco na camada de ozônio?. [Web page] [Acedido a 18 de abril de 2022], Disponível na Internet: <https://www.bbc.com/portuguese/geral-45558884>
- MARONO, Stefania *et al.* - In vitro crude protein digestibility of *tenebrio molitor* and *hermetia illucens* insect meals and its correlation with chemical composition traits. **Italian Journal of Animal Science**. . ISSN 15944077. 14:3 (2015) 338–343. doi: 10.4081/ijas.2015.3889.

MCGREW, William C. - The «other faunivory» revisited: Insectivory in human and non-human primates and the evolution of human diet. **Journal of Human Evolution**. . ISSN 00472484. 71:2014) 4–11. doi: 10.1016/j.jhevol.2013.07.016.

MULLALLY, Margaret M.; MEISEL, Hans; FITZGERALD, Richard J. - Identification of a novel angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides corresponding to a tryptic fragment of bovine β -lactoglobulin. **FEBS Letters**. . ISSN 00145793. 402:2–3 (1997) 99–101. doi: 10.1016/S0014-5793(96)01503-7.

ONG, Su Yean *et al.* - A novel biological recovery approach for PHA employing selective digestion of bacterial biomass in animals. **Applied Microbiology and Biotechnology**. . ISSN 14320614. 102:5 (2018) 2117–2127. doi: 10.1007/s00253-018-8788-9.

ORKUSZ, Agnieszka - Edible insects versus meat—nutritional comparison: Knowledge of their composition is the key to good health. **Nutrients**. . ISSN 20726643. 13:4 (2021). doi: 10.3390/nu13041207.

PAOLETTI, M. G. *et al.* - Role of Chitinases in Human Stomach for Chitin Digestion: AMCase in the Gastric Digestion of Chitin and Chit in Gastric Pathologies. Em MUSUMECI, S.; PAOLETTI, M. G. (Eds.) - **Binomium Chitin-Chitinase: Recent Issues**. 1st. ed. [S.l.] : Nova Science Publishers, Inc., 2009. p. 339–358.

PENG, Bo Yu *et al.* - Biodegradation of Polystyrene by Dark (*Tenebrio obscurus*) and Yellow (*Tenebrio molitor*) Mealworms (Coleoptera: Tenebrionidae). **Environmental Science and Technology**. . ISSN 15205851. 53:9 (2019) 5256–5265. doi: 10.1021/acs.est.8b06963.

PROTEINSECTA - Harina de insectos: todo lo que necesitas saber. (2020, março 19). [Acedido a 5 de maio de 2022], Disponível na Internet: <https://proteinsecta.es/harina-de-insectos-todo-lo-que-necesitas-saber>

RIVERO PINO, Fernando *et al.* - Evaluation of: *Tenebrio molitor* protein as a source of peptides for modulating physiological processes. **Food and Function**. . ISSN 2042650X. 11:5 (2020) 4376–4386. doi: 10.1039/d0fo00734j.

RODRIGUES, Susana *et al.* - Biocompatibility of Chitosan Carriers with Application in Drug Delivery. **Journal of Functional Biomaterials**. 3:3 (2012) 615–641. doi: 10.3390/jfb3030615.

RONCOLINI, Andrea *et al.* - Protein fortification with mealworm (*Tenebrio molitor* L.) powder: Effect on textural, microbiological, nutritional and sensory features of bread. **PLoS ONE**. . ISSN 19326203. 14:2 (2019) 1–29. doi: 10.1371/journal.pone.0211747.

- SÁNCHEZ-MUROS, María José; BARROSO, Fernando G.; MANZANO-AGUGLIARO, Francisco - Insect meal as renewable source of food for animal feeding: A review. **Journal of Cleaner Production**. . ISSN 09596526. 65:2014) 16–27. doi: 10.1016/j.jclepro.2013.11.068.
- SCHAAFSMA, Gertjan - Criteria and Significance of Dietary Protein Sources in Humans Quantifying the Digestibility of Dietary Protein I. **The Journal of Nutrition**. 130:February (2000) 1850–1856.
- SHIN, Chae Shim; KIM, Do Yeong; SHIN, Weon Sun - Characterization of chitosan extracted from Mealworm Beetle (*Tenebrio molitor*, *Zophobas morio*) and Rhinoceros Beetle (*Allomyrina dichotoma*) and their antibacterial activities. **International Journal of Biological Macromolecules**. . ISSN 18790003. 125:2019) 72–77. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.242.
- SIVASHANKARI, P. R.; PRABAHARAN, M. - Deacetylation modification techniques of chitin and chitosan. Em JENNINGS, J. A.; BUMGARDNER, J. D. (Eds.) - **Chitosan Based Biomaterials** [S.l.] : Elsevier, 2017 Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100230-8.00005-4> ISBN 9780081002575v. 1. p. 117–133.
- SON, Y. *et al.* - Determination of Carbohydrate Composition in Mealworm. **Foods**. 10:640 (2021).
- SON, Yang Ju *et al.* - Physicochemical properties of mealworm (*Tenebrio molitor*) powders manufactured by different industrial processes. **LWT**. . ISSN 00236438. 116:July (2019) 108514. doi: 10.1016/j.lwt.2019.108514.
- SON, Yang Ju *et al.* - Could defatted mealworm (*Tenebrio molitor*) and mealworm Oil be used as food ingredients? **Foods**. . ISSN 23048158. 9:1 (2020) 1–13. doi: 10.3390/foods9010040.
- SONG, Yong Su *et al.* - Extraction of chitin and chitosan from larval exuvium and whole body of edible mealworm, *Tenebrio molitor*. **Entomological Research**. . ISSN 17485967. 48:3 (2018) 227–233. doi: 10.1111/1748-5967.12304.
- SPANG, Brian - **Insects as food: Assessing the food conversion efficiency of the mealworm (*Tenebrio molitor*)** [S.l.] : The Evergreen State College, 2013 Disponível em: <http://collections.evergreen.edu/files/original/52a2180f9f5319fbad2c697861fcc2b6edf56396.pdf>
- SRINIVASAN, Haripriya; KANAYAIRAM, Velayutham; RAVICHANDRAN, Ramanibai - Chitin and chitosan preparation from shrimp shells *Penaeus monodon* and its human ovarian cancer cell line, PA-1. **International Journal of Biological Macromolecules**. . ISSN 18790003. 107:PartA (2018) 662–667. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.09.035.

- SRIPRABLOM, Jiratthitikan; KITTHAWEE, Sangvorn; SUPHANTHARIKA, Manop - Functional and physicochemical properties of cookies enriched with edible insect (*Tenebrio molitor* and *Zophobas atratus*) powders. **Journal of Food Measurement and Characterization**. . ISSN 21934134. 16:3 (2022) 2181–2190. doi: 10.1007/s11694-022-01324-2.
- SUN, Ai-Dong *et al.* - Preparation of ACE inhibitory peptides from *Tenebrio molitor* and antibacterial activity. **SDRP Journal of Food Science & Technology**. 4:3 (2019) 670–679. doi: 10.25177/jfst.4.3.ra.481.
- THOMAS, Hahn *et al.* - New methods for high accuracy insect chitin measurement. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 98:13 (2018) 5069–5073. doi: 10.1002/jsfa.9044.
- TURCK, Dominique *et al.* - Safety of dried yellow mealworm (*Tenebrio molitor* larva) as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. **EFSA Journal**. . ISSN 18314732. 19:1 (2021) 1–29. doi: 10.2903/j.efsa.2021.6343.
- UGUR, Ahmet Erdem *et al.* - Effects of High Hydrostatic Pressure (HHP) Processing and Temperature on Physicochemical Characterization of Insect Oils Extracted from *Acheta domestica* (House Cricket) and *Tenebrio molitor* (Yellow Mealworm). **Waste and Biomass Valorization**. . ISSN 1877265X. 12:8 (2021) 4277–4286. doi: 10.1007/s12649-020-01302-z.
- WANG, Lina *et al.* - Synergistic antimicrobial activities of natural essential oils with chitosan films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. . ISSN 00218561. 59:23 (2011) 12411–12419. doi: 10.1021/jf203165k.
- WANG, Yucheng *et al.* - Antihypertensive effect of rapeseed peptides and their potential in improving the effectiveness of captopril. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. . ISSN 10970010. 101:7 (2021) 3049–3055. doi: 10.1002/jsfa.10939.
- WU, Ricardo A. *et al.* - Comparison of the nutritional value of mysore thorn borer (*Anoplophora chinensis*) and mealworm larva (*Tenebrio molitor*): Amino acid, fatty acid, and element profiles. **Food Chemistry**. . ISSN 18737072. 323:April (2020) 126818. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.126818.
- WU, Ricardo A. *et al.* - Caspase 3-mediated cytotoxicity of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) oil extract against human hepatocellular carcinoma and colorectal adenocarcinoma. **Journal of Ethnopharmacology**. . ISSN 18727573. 250:October 2019 (2020) 112438. doi: 10.1016/j.jep.2019.112438.
- YE, Xing-Qian; LIU, Dong-Hong; HU, Cui - Some factor's effects on the solubility of protein

from yellow mealworm (*Tenebrio molitor* L) larvae. **Journal of Zhejiang University-SCIENCE A**. 259:April (2003) 436–438.

YU, Lei; HAN, Ya Li; TAN, Zhu Jun - Purification of a fibrinolytic protein from the yellow mealworm beetles, *Tenebrio molitor*. **Advanced Materials Research**. . ISSN 10226680. 396–398:2012) 103–105. doi: 10.4028/www.scientific.net/AMR.396-398.103.

ZIELIŃSKA, Ewelina *et al.* - The impact of polystyrene consumption by edible insects *Tenebrio molitor* and *Zophobas morio* on their nutritional value, cytotoxicity, and oxidative stress parameters. **Food Chemistry**. . ISSN 18737072. 345:December 2020 (2021). doi: 10.1016/j.foodchem.2020.128846.