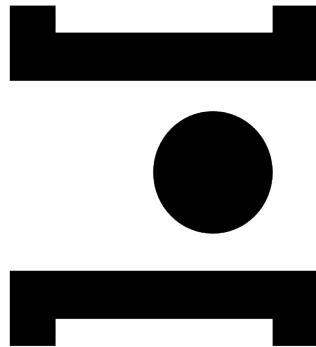


INSTITUTO POLITÉCNICO DE SANTARÉM
ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA DE SANTARÉM



**POLITÉCNICO
DE SANTARÉM**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, NUTRICIONAL,
MICROBIOLÓGICA, REOLÓGICA E SENSORIAL DE BOLACHAS DE
AMENDOIM COM INCORPORAÇÃO DE PÓ DE GRILO-
DOMÉSTICO (*ACHETA DOMESTICUS*)**

Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre na área de
Tecnologia Alimentar

Estudante: Pedro Manuel Pereira Cláudio n°190300045

Orientador: Doutor Igor Alexandre da Silva Dias

Coorientadora: Doutora Maria Gabriela de Oliveira Lima Basto de Lima

Santarém 2025

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todas as pessoas que diretamente ou indiretamente participaram na sua realização.

Este estudo foi financiado pelo seguinte projeto:

SPIN - Sustainable ProteIN - PRR-C05-i03-I-000192, cofinanciado pelo PRR - Plano de Recuperação e Resiliência pela União Europeia. Tem como objetivos promover o consumo de géneros alimentícios sustentáveis e saudáveis, estimular o desenvolvimento económico, ambiental e social dos territórios rurais, aliando a introdução de proteína sustentável à Dieta Mediterrânica, mas utilizando fontes inovadoras de proteína como os insetos e a proteína de pescado proveniente da espécie não nativa do Rio Tejo *Silurus glanis* (peixe-gato-europeu). Paralelamente, será usada proteína proveniente de chicharro e de grão-de-bico e ainda proteína bovina produzida em modo regenerativo.



AGRADECIMENTOS

A conclusão deste trabalho representa o culminar de uma jornada de aprendizagem e crescimento pessoal, que não teria sido possível sem o apoio, orientação e incentivo de várias pessoas.

Em primeiro lugar, agradeço ao Doutor Igor Dias, Orientador da dissertação, pela paciência, conselhos valiosos e orientação ao longo de todo o processo. A sua dedicação e conhecimentos foram fundamentais para ultrapassar os desafios encontrados.

À Doutora Maria Gabriela Lima, Coorientadora da dissertação, agradeço pelo apoio técnico e científico e constante disponibilidade para discutir ideias e sugestões que enriqueceram este trabalho.

À Engenheira Maria Faro, pela ajuda constante e disponibilidade ao longo do percurso.

À Doutora Ana Neves e todas as técnicas do setor de Microbiologia da ESAS, pela ajuda e disponibilidade.

À Doutora Paula Ruivo, coordenadora do Mestrado de Tecnologia Alimentar, pela orientação.

A todos que participaram nas provas sensoriais, permitindo obter resultados para os respetivos parâmetros.

À minha família, especialmente à minha mãe e ao meu irmão, por toda a ajuda e força que me deram nesta etapa da minha vida.

Aos meus amigos, pelo apoio e companhia que me deram ao longo deste percurso.

Por fim, a todos aqueles que não mencionei, mas que estiveram envolvidos na realização deste trabalho, direta ou indiretamente, os meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

Caracterização físico-química, nutricional, microbiológica, reológica e sensorial de bolachas de amendoim com incorporação de pó de grilo-doméstico (*Acheta domesticus*)

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da incorporação de pó de grilo-doméstico em bolachas de amendoim, através da sua caracterização físico-química, nutricional, microbiológica, reológica e sensorial. Este estudo decorreu no âmbito do projeto SPIN – Sustainable ProteIN e enquadra-se na procura de fontes proteicas alternativas, sustentáveis e nutricionalmente favoráveis, como resposta aos desafios globais presentes na produção alimentar.

Os resultados obtidos demonstram que a incorporação do pó de grilo incrementou o teor proteico e melhorou o perfil de ácidos gordos com um aumento significativo dos ácidos gordos insaturados. A nível microbiológico, as bolachas mostraram-se estáveis, cumprindo os requisitos de segurança dos alimentos. As provas sensoriais indicaram uma boa aceitação geral.

Conclui-se que a utilização de pó de grilo-doméstico pode contribuir para o desenvolvimento de novos produtos nutricionalmente enriquecidos, promovendo a aceitação gradual de insetos na alimentação humana.

Palavras-chave: Pó de grilo-doméstico; Proteína sustentável; Insetos; Desenvolvimento de novos produtos

ABSTRACT

Physical-chemical, nutritional, microbiological, rheological, and sensory characterization of peanut cookies with the incorporation of house cricket (*Acheta domesticus*) powder

The aim of this work was to evaluate the effect of incorporating house cricket powder into peanut cookies, through their physicochemical, nutritional, microbiological, rheological, and sensory characterization, which was developed as part of the SPIN - Sustainable ProteIN project. This study is part of the search for alternative, sustainable and nutritionally favorable protein sources as a response to the global challenges facing food production.

The results show that incorporating cricket powder increased the protein content and improved the fatty acid profile with a significant increase in unsaturated fatty acids. In terms of microbiology, the cookies were stable and complied with food safety requirements. The sensory tests indicated good general acceptance.

It is concluded that the use of house cricket powder can contribute to the development of new nutritionally enriched products, promoting the gradual acceptance of insects in human food.

Keywords: House cricket powder; Sustainable protein; Insects; New product development

ÍNDICE

1.	INTRODUÇÃO.....	1
2.	ENQUADRAMENTO	2
2.1.	Insetos.....	2
2.1.1.	Efeitos na saúde humana.....	3
2.1.1.1.	Benefícios nutricionais dos insetos	3
2.1.1.2.	Saciedade e absorção de aminoácidos.....	5
2.1.1.3.	Marcadores biológicos metabólicos e inflamatórios.....	6
2.1.1.4.	Microbiota intestinal	6
2.1.1.5.	Bactérias nos insetos	7
2.1.1.6.	Vírus.....	7
2.1.1.7.	Riscos químicos.....	8
2.1.1.8.	Micotoxinas.....	8
2.1.1.9.	Alergias.....	10
2.1.2.	<i>Acheta domesticus</i>	12
2.1.2.1.	Benefícios nutricionais.....	12
2.1.2.2.	Vantagens produtivas	12
2.2.	Insetos na alimentação humana	13
2.2.1.	Legislação e usos alimentares	13
2.2.2.	Aplicações técnicas e funcionais.....	14
2.2.3.	Aceitação do consumidor	14
2.3.	Produção de insetos.....	15
2.3.1.	Economia circular	15
2.3.2.	Substratos	15
2.3.3.	Idade de abate	16
3.	OBJETIVOS.....	17
4.	METODOLOGIA.....	17
4.1.	Matérias-primas e ingredientes	17
4.2.	Métodos analíticos e instrumentais.....	18
4.2.1.	Análises físico-químicas e nutricionais.....	18
4.2.1.1.	pH.....	19
4.2.1.2.	Atividade da água (a_w).....	19
4.2.1.3.	Humidade.....	19

4.2.1.4.	Cinzas.....	20
4.2.1.5.	Proteína bruta.....	20
4.2.1.6.	Lípidos totais.....	21
4.2.1.7.	Fibra total.....	21
4.2.1.8.	Sal (NaCl).....	22
4.2.1.9.	Hidratos de carbono.....	23
4.2.1.10.	Energia.....	23
4.2.1.11.	Ácidos gordos.....	23
4.2.1.12.	Conteúdo fenólico total.....	23
4.2.1.13.	Atividade antioxidante (método DPPH).....	24
4.2.1.14.	Atividade antioxidante (método FRAP).....	26
4.2.2.	Análises microbiológicas.....	27
4.2.3.	Ensaio de Textura.....	28
4.2.4.	Colorimetria.....	28
4.2.5.	Análise sensorial.....	29
4.3.	Análise estatística.....	29
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
5.1.	Parâmetros físico-químicos.....	30
5.2.	Parâmetros nutricionais.....	33
5.3.	Parâmetros microbiológicos.....	45
5.4.	Parâmetros da textura.....	49
5.5.	Parâmetros da cor.....	51
5.6.	Parâmetros sensoriais.....	55
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	58
7.	BIBLIOGRAFIA.....	60
8.	APÊNDICE.....	68

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1. Valores médios (MED), desvios-padrão (DP), mínimos (MIN) e máximos (MAX) obtidos para o pH e para a a_w em cada um dos lotes e no total dos três lotes.....	30
Quadro 2. Valores médios (MED), desvios-padrão (DP), mínimos (MIN) e máximos (MAX) obtidos para cada um dos parâmetros da análise nutricional em cada um dos lotes e no total dos três lotes.....	33
Quadro 3. Valores médios (MED), desvios-padrão (DP), mínimos (MIN) e máximos (MAX) obtidos para cada um dos parâmetros dos ácidos gordos na totalidade, divididos em saturados, monoinsaturados e polinsaturados, e dos ácidos gordos mais presentes em cada divisão, em cada um dos lotes e no total dos três lotes.....	36
Quadro 4. Valores médios (MED), desvios-padrão (DP), mínimos (MIN) e máximos (MAX) obtidos para o conteúdo fenólico total e para a atividade antioxidante pelo método DPPH e pelo método FRAP, em cada um dos lotes e no total dos três lotes.....	38
Quadro 5. Valores médios dos parâmetros nutricionais analisados para as bolachas de amendoim suplementadas com pó de grilo-doméstico e valores de referência da Tabela de Composição de Alimentos para a bolacha de chocolate e para o amendoim.....	41
Quadro 6. Valores médios (MED), desvios-padrão (DP), mínimos (MIN) e máximos (MAX) obtidos para cada um dos parâmetros microbiológicos em cada um dos lotes e no total dos três lotes.....	46
Quadro 7. Parâmetros microbiológicos analisados e os respectivos valores-guia do INSA para cada amostra de cada lote.....	47
Quadro 8. Valores médios (MED), desvios-padrão (DP), mínimos (MIN) e máximos (MAX) obtidos para cada um dos parâmetros da textura em cada um dos lotes e no total dos três lotes.....	49
Quadro 9. Valores médios (MED), desvios-padrão (DP), mínimos (MIN) e máximos (MAX) obtidos para cada um dos parâmetros da cor em cada um dos lotes e no total dos três lotes para o lado A e a cor média para cada um dos lotes para o lado A.....	51
Quadro 10. Valores médios (MED), desvios-padrão (DP), mínimos (MIN) e máximos (MAX) obtidos para cada um dos parâmetros da cor em cada um dos lotes e no total dos três lotes para o lado B e a cor média para cada um dos lotes para o lado B.....	53

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Intenção de compra por lote.....	57
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Comparação de quantidades de aminoácidos essenciais entre insetos comestíveis e outras fontes mais comuns de proteína Nota: Adaptado de (Ma et al., 2023).....	4
Figura 2. Os três lotes analisados das bolachas de amendoim com incorporação de pó de grilo.....	18
Figura 3. Valores médios do trabalho de rutura (N/mm.s) e da firmeza (N/mm) para os três lotes.....	50
Figura 4. Variação das características avaliadas entre os três lotes.....	55

ABREVIATURAS

AOAC – *Association of Official Analytical Collaboration* (Associação de Colaboração Analítica Oficial)

ANOVA – Análise de variância

CE – Comissão Europeia

DPPH – *2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl* (2,2-difenil-1-picril-hidrazilo)

EAG – Equivalentes de Ácido Gálico

EFSA – *European Food Safety Authority* (Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos)

ESAS – Escola Superior Agrária de Santarém

FRAP – *Ferric Reducing Antioxidant Power* (Poder Antioxidante Redutor do Ferro)

GEE – Gases com efeito de estufa

INIAV – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

INSA – Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

ISO – *International Organization for Standardization* (Organização Internacional de Normalização)

MS – Matéria seca

OMS – Organização Mundial de Saúde

TCA – Tabela de Composição de Alimentos

UE – União Europeia

u.f.c. – Unidade formadora de colónias

1. INTRODUÇÃO

O aumento da população humana e a escassez de ingredientes proteicos altamente valiosos têm vindo a motivar a comunidade internacional a procurar novos recursos proteicos sustentáveis e naturais (Quintieri et al., 2023). A produção de produtos alimentares terá de aumentar em 60%, até 2050, de modo a satisfazer as necessidades nutricionais de uma população superior a 9 mil milhões de habitantes. Consequentemente, é necessário diminuir o desperdício alimentar, incrementar a produção de produtos alimentares saudáveis e sustentáveis, tendo em atenção a preservação dos ecossistemas terrestres e aquáticos, desenvolvendo novos alimentos (Plano de Ação SPIN, 2023).

O aumento da produção alimentar implica um aumento de produção de alimentos para animais. Sendo assim, é muito importante estabelecer um equilíbrio a nível da produção sustentável e da produção de alimentos saudáveis. Algumas estratégias para combater esta dependência alimentar são: aumentar a produção de alimentos alternativos que substituam a produção de carnes convencionais, procurar integrar na alimentação novas fontes proteicas, reduzir o desperdício alimentar, utilizando coprodutos e outros derivados da produção, praticar uma nutrição animal mais eficiente e inovar tecnologicamente a indústria alimentar.

Neste cenário, a entomofagia – o consumo de insetos – emerge como uma prática alimentar promissora.

Os insetos são um alimento comum para 2 mil milhões de pessoas em todo o mundo e são conhecidas mais de 2000 espécies comestíveis (Mason, 2018). Mesmo estando inserida em várias comunidades da África, América do Sul, Ásia e Oceânia, a entomofagia ainda não é considerada uma prática comum nos países ocidentais, nem é cultural e socialmente aceite (House, 2016). Na União Europeia (UE) já se encontram 4 espécies autorizadas. Tradicionalmente, a aceitação é muito mais baixa comparativamente a outros novos alimentos. Os insetos são associados a estereótipos negativos, como o facto de serem animais que “transportam doenças” e são “não higiénicos” (Liang et al., 2024 cit. Sun-Waterhouse et al., 2016).

2. ENQUADRAMENTO

2.1. Insetos

Segundo Chapman et al. (2013), os insetos são um grupo de animais do filo *Arthropoda* com cerca de 1 milhão de espécies descritas, mas mais de 10 milhões de espécies estimadas. Estes constituem o maior e mais diversificado grupo de animais do mundo, vivendo numa variedade de ecossistemas, desde florestas a desertos e áreas rurais.

Os insetos possuem o corpo dividido em três partes principais: a cabeça, que contém os principais órgãos sensoriais (olhos, antenas) e o aparelho bucal; o tórax, onde as pernas e asas se inserem; o abdómen, onde se encontram os órgãos relacionados com a digestão, excreção e reprodução (Chapman et al., 2013). A sua respiração ocorre através de um sistema de traqueias que transportam oxigénio diretamente para as células, este entra nos corpos dos insetos através de pequenos orifícios chamados espiráculos, localizados ao longo do seu corpo, principalmente no abdómen. Relativamente ao sistema circulatório, os insetos têm um sistema aberto, onde o sangue circula livremente pelas cavidades corporais, sendo bombeado por um coração tubular na parte posterior do animal. Embora este sangue não transporte oxigénio, transporta nutrientes e produtos de excreção (Chapman et al., 2013).

Estes também possuem outras características comuns: o exoesqueleto, constituído por quitina permitindo suporte e sustentabilidade ao corpo; a simetria bilateral; a metamorfose, significando que a vida passa por diferentes estados, como por exemplo ovo, larva, pupa e adulto (Chapman et al., 2013).

A alimentação dos insetos varia conforme a espécie, podendo ser: herbívoros, carnívoros, omnívoros ou detritívoros (Chapman et al., 2013).

A maioria dos insetos apresenta dimorfismo sexual, com machos e fêmeas, normalmente sendo ovíparos, embora certos insetos se reproduzam por partenogénese. O ciclo de vida dos insetos varia dependendo da espécie. Estes podem ser: uma metamorfose completa, que inclui os estados de ovo, larva, pupa e adulto; ou

uma metamorfose incompleta, com um desenvolvimento mais gradual, sendo o inseto jovem semelhante ao adulto (Chapman et al., 2013).

Os insetos desempenham um papel crucial tanto nos ecossistemas como para o ser humano. Podem desempenhar o papel de decompositores, ajudando na decomposição de nutrientes no solo, de polinização, permitindo a reprodução de diversas espécies vegetais, entre outros (Gullan & Cranston, 2014).

2.1.1. Efeitos na saúde humana

O consumo de insetos tem diferentes efeitos na saúde humana. Além de apresentarem diversos benefícios, também podem transportar fatores de risco que poderão afetar a saúde humana.

2.1.1.1. Benefícios nutricionais dos insetos

Os insetos evidenciam um perfil nutricional muito atrativo, nomeadamente: um teor proteico que varia entre 20 e 70% da matéria seca (MS), dependendo da espécie (Liceaga et al., 2022; Ma et al., 2023; Quintieri et al., 2023) e um perfil de aminoácidos satisfatório de acordo com os requisitos da Organização Mundial de Saúde (OMS) (Fernandez-Cassi et al., 2019 cit. Rumpold & Schlüter, 2013). Relativamente ao perfil de aminoácidos essenciais, Ma et al. (2023) identificaram e compararam as quantidades de fenilalanina (Phe), histidina (His), isoleucina (Ile), leucina (Leu), lisina (Lys), metionina (Met), treonina (Thr), triptofano (Trp) e valina (Val) entre espécies de insetos utilizados para alimentação e outras fontes de proteína. Na **Figura 1** é possível observar os resultados desse estudo.

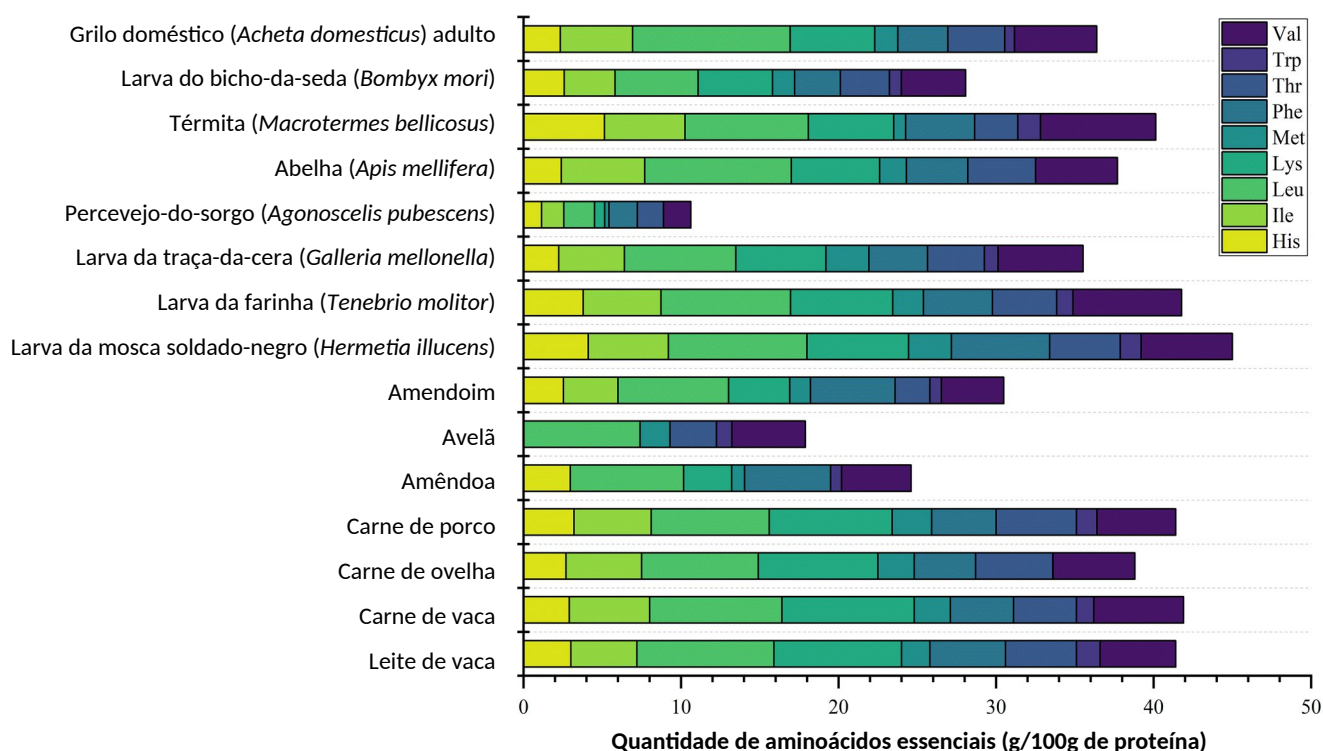


Figura 1. Comparação de quantidades de aminoácidos essenciais entre insetos comestíveis e outras fontes mais comuns de proteína

Nota: Adaptado de (Ma et al., 2023).

As proteínas entomofágicas também possuem uma digestibilidade adequada, continuando a ser menor que a digestibilidade da proteína animal convencional (Liceaga et al., 2022). Muitos dos insetos têm níveis elevados de micronutrientes, como o potássio, o cálcio, o ferro, o magnésio e o selênio (Quintieri et al., 2023 cit. Veldkamp et al., 2022).

Atualmente, o consumo de alimentos alternativos com proteína vegetal, como substituto da proteína animal convencional, tem vindo a alcançar popularidade devido ao interesse crescente por parte dos consumidores, seja por motivos económicos, de saúde ou por motivos relacionados com o ambiente. No entanto, estas proteínas não possuem os aminoácidos necessários para substituir a proteína animal como se pode ver na Figura 1, apresentando também uma digestibilidade mais baixa (Gravel & Doyen, 2020), o que permite realçar a proteína entomofágica como uma boa alternativa.

2.1.1.2. Saciedade e absorção de aminoácidos

Morell & Fiszman (2017) concluíram que as proteínas em níveis suficientemente elevados têm um efeito mais forte de saciedade do que quantidades equivalentes de energia proveniente de hidratos de carbono ou de lípidos. As dietas que contêm mais proteína reduzem geralmente a fome pós-prandial e aumentam a saciedade pós-prandial, algo que é atribuível a alterações induzidas nas hormonas associadas à regulação do apetite, como a grelina e o péptido YY (Cunha et al., 2023 cit. Leidy et al., 2010).

No entanto, não existem diferenças significativas entre proteínas entomofágicas e proteínas convencionais (Cunha et al., 2023 cit. Dai et al., 2022). Após analisar os perfis de aminoácidos de algumas espécies de insetos comestíveis – gafanhoto de Bombaim (*Patanga succincta*), escaravelho, grilo doméstico (*Acheta domesticus*) e bicho-da-seda (*Bombyx mori*) – Köhler et al. (2019) verificaram que entre os aminoácidos essenciais a leucina apresenta as concentrações mais elevadas (1,70 g a 4,08 g/100 g) sendo a mais elevada no grilo-doméstico (como já foi mencionado anteriormente), enquanto que o triptofano apresenta as concentrações mais baixas (0,23 g a 0,72 g/100 g).

No que diz respeito à absorção de aminoácidos, o consumo de 25 a 30 g de proteínas aumenta os níveis de aminoácidos pós-prandiais, independentemente da fonte de proteína (Vangsoe et al., 2018). A presença de quitina nos insetos pode atrasar a digestão, de forma semelhante ao que ocorre com refeições de elevado teor de fibra (Bruttomesso & Tessari, 2019; Mwangi et al., 2022), resultando no alcance mais tardio do pico dos níveis plasmáticos de aminoácidos após o consumo das proteínas entomofágicas, comparativamente com outras proteínas (Cunha et al., 2023).

2.1.1.3. Marcadores biológicos metabólicos e inflamatórios

Os níveis de insulina são mais baixos após o consumo de proteína de inseto em comparação com outras fontes de proteína (Dai et al., 2022; Vangsoe et al., 2018). Isto sugere que o consumo entomofágico poderá ter impacto na resposta da insulina, tendo efeitos benéficos tanto na regulação da glucose como na sensibilidade à insulina, podendo servir como um fator dietético no combate à diabetes (Cunha et al., 2023).

A inflamação é um aspeto importante da fisiopatologia das principais doenças crónicas, como as doenças cardiovasculares, a diabetes mellitus de tipo 2, a doença de Alzheimer e muitos tipos de cancro, sendo a nutrição um fator de risco modificável para estas patologias (Galland, 2010).

Os insetos também são uma boa fonte de compostos bioativos com propriedades anti-inflamatórias, principalmente a atividade inibidora das enzimas de inflamação lipoxigenase (LOX) e ciclo-oxigenase (COX) (Acosta-Estrada et al., 2021; Quah et al., 2023). Os ácidos gordos essenciais insaturados ω -3 e ω -6 são abundantes em vários insetos e, através da alimentação, é possível aumentar a sua quantidade (Acosta-Estrada et al., 2021). Este é um aspeto importante, uma vez que estes ácidos gordos essenciais também têm propriedades anti-inflamatórias (Calder, 2010). A quitina e a quitosana são outros compostos anti-inflamatórios presentes nos insetos (Acosta-Estrada et al., 2021).

2.1.1.4. Microbiota intestinal

Stull et al. (2018) observaram uma diminuição dos níveis de *Lactobacillus* spp. e um aumento dos níveis de *Bifidobacterium* após o consumo de uma refeição com pó de grilo. Esta diminuição de *Lactobacillus* spp. pode dar-se pela atividade antimicrobiana de ambas quitina e quitosana. O *Lactobacillus* spp. desempenha um papel crucial na manutenção da saúde intestinal e a *Bifidobacterium* está associada a vários benefícios para a saúde, como a melhoria da digestão e da função imunitária (Cunha et al., 2023 cit. Lebeer et al., 2012; Turrioni et al., 2012).

2.1.1.5. Bactérias nos insetos

Os insetos apresentam um ambiente favorável para o crescimento microbiano devido ao seu alto teor em humidade e nutrientes. De acordo com estudos realizados em insetos comestíveis como *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor*, *Locusta migratoria* e *Bombyx mori* por Caparros Megido et al., 2017 e Vandeweyer et al., 2017, os insetos apresentam níveis elevados de contagem aeróbica total, de contagem anaeróbica total e de *Enterobacteriaceae*.

Apesar de existirem diversos agentes patogénicos zoonóticos, como *Salmonella* spp., *Vibrio cholerae*, *Clostridium perfringens* e *Listeria monocytogenes*, nos substratos usados na produção de insetos, estes não sofrem uma replicação ativa no trato intestinal dos insetos, ao contrário do que acontece com a produção de aves (Ribeiro, 2017 cit. Klunder et al., 2012). Além disso, as bactérias patogénicas de insetos são consideradas inofensivas para humanos, uma vez que os hospedeiros são filogeneticamente diferentes, havendo assim um grau de tropismo tecidual muito elevado (Ribeiro, 2017 cit. Schlüter et al., 2017). Para garantir a segurança microbiológica será sempre necessário garantir padrões relativos à produção como os tipos de substratos, o processamento pré-consumo (esterilização, fritura, fervura, entre outros) e as condições de armazenamento (Ribeiro, 2017).

2.1.1.6. Vírus

A maior parte dos vírus presentes em insetos são apenas patogénicos para invertebrados, não sendo agentes patogénicos para o ser humano ou outros vertebrados (Ribeiro, 2017 cit. Eilenberg et al., 2015). No entanto, existe a possibilidade de os insetos serem vetores replicativos de certos vírus que afetam vertebrados como o arbovírus, mas não existe evidência para a sua ocorrência em insetos que sejam usados para alimentação humana (Ribeiro, 2017 cit. EFSA, 2015).

2.1.1.7. Riscos químicos

A acumulação de contaminantes em insetos, como dioxinas e metais pesados, é influenciada pelos métodos de produção, o tipo de substrato utilizado e a própria espécie (Ribeiro, 2017 cit. EFSA, 2015; Handley et al., 2007; Vijver et al., 2003; Walters et al., 2010; Zhuang et al., 2009).

Na realidade, os insetos produzidos na Europa, seguindo os regulamentos da UE, apresentam níveis iguais ou mais baixos comparativamente aos níveis apresentados por produtos alimentares animais convencionais, como a carne ou peixe (Poma et al., 2017).

Para os níveis de metais pesados no pó de grilo, Turck et al. (2024) detetou valores abaixo dos limites legalmente definidos para outros alimentos:

- Chumbo < 0,1 mg/kg
- Arsénio ≤ 0,2 mg/kg
- Cádmio ≤ 0,06 mg/kg
- Mercúrio < 0,1 µg/kg

2.1.1.8. Micotoxinas

As micotoxinas são compostos que causam efeitos clínicos adversos tanto nos seres humanos como nos animais, apresentando efeitos genotóxicos, imunotóxicos, hepatotóxicos, neurotóxicos ou nefrotóxicos (Suman, 2021).

Os principais géneros de fungos relacionados com as micotoxinas são *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. As micotoxinas mais estudadas são a aflatoxina, a fumonisina, a ocratoxina, a zearalenona e o tricoteceno (Liew & Mohd-Redzwan, 2018; Palumbo et al., 2020).

Os insetos poderão ser contaminados pelo substrato utilizado na sua criação, ou por manuseamento incorreto na transformação e armazenagem (Bisconsin-Junior et al., 2023). Entre as medidas que podem contribuir para mitigar o consumo de micotoxinas pelos insetos são: a monitorização da presença de fungos e micotoxinas nos substratos destinados à alimentação dos insetos; a limpeza e manutenção (especialmente da

temperatura e humidade) adequadas dos ambientes para criação de insetos; o desenvolvimento de protocolos para manuseamento, processamento e armazenamento de insetos comestíveis a nível industrial; a realização de análises periódicas para controlo de qualidade e deteção de micotoxinas em insetos antes do transporte e comercialização; a verificação da origem, presença de selos que garantam a segurança e qualidade antes da compra e/ou consumo de insetos; a aplicação adequada de técnicas de manuseamento, processamento, embalagem e armazenamento de insetos para consumo humano ou animal a nível doméstico; a capacidade de rastreabilidade da cadeia de produção e comercialização de insetos comestíveis, visando a recuperação, identificação, notificação ou criação de estratégias para corrigir possíveis surtos (Bisconsin-Junior et al., 2023).

Outra medida para a segurança alimentar no consumo de insetos é transformar ou usar tecnologias eficazes de processamento e conservação para descontaminar insetos comestíveis (Bisconsin-Junior et al., 2023 cit. Gonçalves et al., 2019; Pankaj et al., 2018; Suman, 2021). Algumas técnicas tradicionais são: misturá-los com outras substâncias de pH baixo ou ingredientes alimentares ricos em compostos bioativos, remoção de partes específicas com maior índice de contaminação, desidratação, fritura, branqueamento, cozimento, defumação, arrefecimento e congelação, entre outros (Bisconsin-Junior et al., 2023 cit. Rumpold et al., 2014).

Na produção de insetos, após a remoção de um substrato contaminado com micotoxinas, seguida de jejum durante pelo menos 24 h ou da substituição do substrato com micotoxinas por outro descontaminado durante pelo menos 24 h, observa-se uma redução dos níveis de micotoxinas e dos seus metabolitos nos insetos (Bisconsin-Junior et al., 2023).

Dependendo da micotoxina, existe uma tendência direta em relação ao aumento da sua concentração no substrato e ao nível de contaminação detetado nos insetos. No entanto, não existem provas de que estas micotoxinas se acumulam nos insetos através dos tecidos das larvas dos mesmos analisados. No caso dos insetos, verificou-se apenas que demonstram um aumento na mortalidade ou no desenvolvimento quando expostos a substratos altamente contaminados com ocratoxina, zearalenona e desoxinivalenol (Bisconsin-Junior et al., 2023).

No entanto, deve ocorrer um período de quarentena antes de os insetos serem abatidos. Estes serão submetidos a jejum ou colocados num substrato descontaminado para que as micotoxinas sejam eliminadas do organismo do inseto ou reduzidas a concentrações inferiores ao limite máximo de resíduos estabelecido para o consumo humano (Bisconsin-Junior et al., 2023).

Para os níveis de micotoxinas no pó de grilo, Turck et al. (2024) detetou valores abaixo dos limites legalmente definidos para outros alimentos:

- Aflatoxinas $\leq 1,6 \mu\text{g}/\text{kg}$
- Desoxinivalenol $\leq 10 \mu\text{g}/\text{kg}$
- Ocratoxina $\leq 0,3 \mu\text{g}/\text{kg}$
- Fumonisinias $\leq 40 \mu\text{g}/\text{kg}$
- Zearalenona $\leq 10 \mu\text{g}/\text{kg}$

2.1.1.9. Alergias

Uma preocupação na introdução de insetos na dieta dos países ocidentais é o risco alergénico que estes produtos podem conter.

Uma alergia alimentar é uma reação adversa a um antígeno alimentar específico, normalmente inofensivo para a população saudável, mediada por mecanismos imunológicos e surge em indivíduos suscetíveis a esse alergénio específico (De Martinis et al., 2020). As alergias alimentares podem provocar um amplo espectro de manifestações clínicas, desde formas ligeiras com localização orgânica até formas graves e potencialmente fatais com envolvimento sistémico (De Martinis et al., 2020).

Foram relatados vários casos de anafilaxia após a ingestão de insetos por indivíduos sem reações alérgicas anteriores a insetos (Cunha et al., 2023 cit. De Marchi et al., 2021; Lamberti et al., 2021). As reações alérgicas no consumo de insetos estão associadas a uma reatividade cruzada devido à relação filogenética dos insetos com crustáceos. Isto deve-se principalmente à presença de tropomiosina e arginina quinase, dois dos alergénios mais comuns entre os invertebrados (Cunha et al., 2023 cit. De Marchi et al., 2021).

A tropomiosina encontra-se tanto em células musculares como não musculares de todas as espécies de vertebrados e invertebrados. As tropomiosinas alergénicas encontram-se em invertebrados, como crustáceos, aracnídeos, insetos e moluscos, enquanto as tropomiosinas de vertebrados não são alergénicas (Reese et al., 1999).

A arginina quinase está amplamente distribuída em vários insetos, como o grilo-doméstico (*Acheta domestica*), o grilo-africano (*Gryllus bimaculatus*) e a larva-da-farinha (*Tenebrio molitor*), em camarões e em caranguejos (De Marchi et al., 2021).

Além destes alergénios de maior escala, também existem alergénios menores, como por exemplo: a hexamerina, a α -amilase, a apolipoforina III, entre outros (Cunha et al., 2023 cit. De Marchi et al., 2021; Delgado Calvo-Flores et al., 2022).

Alguns estudos permitiram reconhecer que após uma fritura existem casos em que os efeitos da alergenicidade de alguns alergénios reduziram (Phiriyangkul et al., 2015; van Broekhoven et al., 2016). Dong et al. (2021) conseguiram reduzir a alergenicidade de tropomiosina em 75% de camarões-de-patas-brancas (*Litopenaeus vannamei*) através de um tratamento por micro-ondas (1000 W e 2,45 GHz) a 125 °C. Esta redução foi possível através da modificação das estruturas secundárias da tropomiosina, devido ao tratamento por micro-ondas, o que fez com que os anticorpos tivessem uma maior dificuldade a reconhecer a proteína.

Por outro lado, também houve casos em que após um tratamento térmico houve um aumento da alergenicidade de certos alergénios (Jeong et al., 2016; Phiriyangkul et al., 2015). Através desta inconsistência de resultados, entende-se que serão necessários mais estudos para compreender como os processos térmicos podem realmente afetar os alergénios e a sua alergenicidade.

2.1.2. *Acheta domesticus*

2.1.2.1. Benefícios nutricionais

Como se pode observar na Figura 1 da página 4, o grilo-doméstico apresenta cerca de 36 g/100 g de proteína, sendo a leucina o aminoácido predominante na sua composição.

Relativamente à composição de gordura, o grilo-doméstico (*Acheta domesticus*) tem 29-31% de ácidos gordos polinsaturados. Além disso, devido à sua composição, os grilos podem ser considerados uma fonte valiosa de vitaminas (Fernandez-Cassi et al., 2019 cit. Rumpold & Schlüter, 2013).

2.1.2.2. Vantagens produtivas

No que toca à eficiência produtiva, o grilo-doméstico tem um rácio de conversão alimentar de 2,1, ou seja, são necessários 2,1 kg de alimento para produzir 1 kg de produto (Fernandez-Cassi et al., 2019 cit. van Huis, 2013). Comparativamente, em média são necessários 4,5, 9,1 e 25 kg de alimento para produzir 1 kg de produto de aves de capoeira, suínos e bovinos, respetivamente (Fernandez-Cassi et al., 2019 cit. van Huis, 2013). Para além da elevada eficiência de conversão alimentar, a produção de insetos também possui baixas emissões de gases com efeito de estufa (GEE), são eficientes no uso da água e do solo e são muito importantes para reduzir o desperdício alimentar (bioconservação) (Plano de Ação SPIN, 2023).

2.2. Insetos na alimentação humana

2.2.1. Legislação e usos alimentares

De acordo com o Regulamento (UE) 2015/2283, os insetos são novos alimentos e como tal requerem uma autorização de comercialização da Comissão Europeia antes de serem colocados no mercado da UE. Neste âmbito foram já autorizadas as seguintes espécies:

- ✓ *Tenebrio molitor*, em larvas desidratadas pelo Regulamento de Execução (UE) 2021/882 e em larvas congeladas, secas e em pó pelo Regulamento de Execução (UE) 2022/169;
- ✓ *Locusta migratoria*, em forma congelada, desidratada e em pó pelo Regulamento de Execução (UE) 2021/1975;
- ✓ *Acheta domesticus*, em forma congelada, desidratada e em pó pelo Regulamento de Execução (UE) 2022/188 e em pó parcialmente desengordurado pelo Regulamento de Execução (UE) 2023/5;
- ✓ *Alphitobius diaperinus*, em larvas na forma congelada, em pasta, desidratadas e em pó pelo Regulamento de Execução (UE) 2023/58.

Estes insetos podem ser consumidos inteiros ou usados como ingrediente num produto. Sendo que existe uma maior repulsa a insetos inteiros por parte dos consumidores, é muito mais comum consumir os insetos como ingrediente. O pó de inseto é um bom exemplo de uma maneira de integrar entomofagia na dieta, sendo usado, por exemplo, para incorporar proteína num pão. Produtos de pastelaria, barras de cereais, bolachas, molhos, entre outros, são outros exemplos de produtos possíveis de integrar os insetos na dieta.

2.2.2. Aplicações técnicas e funcionais

A utilização de pó de grilo tem vindo a revelar-se vantajosa, não só pela sua contribuição nutricional, mas também pelas suas propriedades tecnológicas. Sadeghi et al. (2025) indicam que a utilização de pó de grilo melhora a capacidade de retenção de água e óleo, emulsificação e formação de geles, resultando numa melhor textura, volume específico e estabilidade de armazenamento. Mais concretamente, ensaios com pães enriquecidos com 5 a 10% de pó de *Acheta domesticus* mostraram um aumento significativo em proteínas, fibras e ácidos gordos essenciais, bem como melhoria na textura, volume e aroma (Sadeghi et al., 2025).

2.2.3. Aceitação do consumidor

A aceitação dos consumidores permanece baixa, sendo limitada pela neofobia alimentar, pelo nojo e pelas perceções de risco associadas aos insetos (Nikravech et al., 2022), apesar de haver benefícios ambientais e nutricionais associados ao consumo e produção entomofágicos. A familiaridade, a visibilidade dos insetos no produto final, o tipo de preparação e os canais de comunicação utilizados são fatores importantes para melhorar a sua aceitação (Conti et al., 2025).

Alguns estudos com consumidores em Portugal, Alemanha e Itália revelaram que, apesar da baixa aceitação geral, existe uma parte da população disposta a pagar mais por produtos que se apresentam sustentáveis ou nutricionais, desde que os insetos não sejam visíveis e estejam integrados nos produtos (Nikravech et al., 2022).

2.3. Produção de insetos

2.3.1. Economia circular

Como foi mencionado, a produção de insetos é, comparativamente à produção convencional de animais, uma alternativa sustentável. Além do rácio de conversão baixo, das baixas emissões de GEE e do uso eficiente de água e solo, a produção de insetos assenta no princípio da economia circular, através da bioconversão. Portanto, a capacidade de converter material orgânico descartado de outras indústrias (especialmente do setor agroindustrial), transformando algo que seria desperdício em matéria-prima, é uma vertente muito importante na produção de insetos. Os resíduos gerados pela criação de insetos, como fezes e exoesqueletos, podem ser utilizados como fertilizante orgânico rico em azoto e fósforo (M. Li et al., 2023).

2.3.2. Substratos

Devido ao potencial de bioconversão, prevê-se que no futuro a quantidade de substratos a utilizar possa vir a aumentar com o desenvolvimento do processo de produção e o controlo de potenciais riscos químicos e microbiológicos que advenham destes substratos (Costa et al., 2018). O interesse no aumento da quantidade de substratos a utilizar na produção de insetos baseia-se no incremento da capacidade de produção das unidades - pelo aumento da matéria-prima disponível - e pelo impacto que o processo de bioconversão poderá ter na economia circular e a nível ambiental (Costa et al., 2018).

Só produtos que sejam seguros e não tenham um efeito adverso direto sobre o ambiente ou sobre o bem-estar dos animais são permitidos para utilização em alimentação animal de acordo com a regulamentação da UE, especificamente o Anexo III do Regulamento (CE) 767/2009, que define as matérias-primas proibidas em alimentação animal (Costa et al., 2018).

Os substratos para a alimentação de insetos só podem conter produtos e coprodutos de origem não animal ou produtos de origem animal, desde que provenientes de matérias da categoria 3. De acordo com o Manual de Boas Práticas na Produção,

Processamento e Utilização de Insetos na Alimentação Animal (Costa et al., 2018), estes são:

- farinha de peixe;
- produtos derivados do sangue de não ruminantes;
- fosfato dicálcico e fosfato tricálcico de origem animal;
- proteínas hidrolisadas provenientes de não ruminantes;
- proteínas hidrolisadas provenientes de couros e peles de ruminantes;
- gelatina e colagénio provenientes de não ruminantes;
- ovos e ovoprodutos;
- leite, produtos à base de leite, produtos derivados do leite e colostro;
- mel;
- gorduras fundidas.

2.3.3. Idade de abate

A idade de abate na produção de insetos para alimentação varia de acordo com a espécie e o objetivo da criação, afetando o conteúdo nutricional do produto. Isto permite perceber a eficiência da produção, podendo haver alterações no processo para efetivamente moldar o produto ao objetivo pretendido.

Como por exemplo, para o *Tenebrio molitor* a idade ideal para abate é antes da pupação, no estado larval, normalmente antes das larvas começarem a perder peso (por volta dos 100-110 mg) (Ghaly & Alkoaik, 2009).

De acordo com Morales-Ramos et al. (2018), a idade ótima para a colheita de *Acheta domesticus* foi ao fim de 8 semanas a 27 °C (87,9 mg ± 8,1 mg) e ao fim de 6 semanas a 29 °C (51 mg ± 7,1 mg), antes dos insetos chegarem à maturidade sexual.

3. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho baseia-se na avaliação do efeito de incorporação de pó de grilo-doméstico em bolachas de amendoim.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da incorporação de pó de grilo-doméstico em bolachas de amendoim, através da sua caracterização físico-química, nutricional, microbiológica, instrumental e sensorial. Este estudo decorreu no âmbito do projeto SPIN – Sustainable ProteIN e enquadra-se na procura de fontes proteicas alternativas, sustentáveis e nutricionalmente favoráveis, como resposta aos desafios globais presentes na produção alimentar.

Consequentemente, realizaram-se correlações entre os parâmetros analisados, verificando a influência da incorporação de pó de grilo-doméstico no produto desenvolvido.

Deste modo, será possível valorizar os grilos *Acheta domesticus* como fonte alternativa de proteína e, ligando-se aos objetivos do projeto SPIN, introduzi-los gradualmente na Dieta Mediterrânica.

4. METODOLOGIA

4.1. Matérias-primas e ingredientes

Neste estudo foi desenvolvida uma única formulação de bolachas de amendoim com incorporação de 10% de pó de *Acheta domesticus*, substituindo parcialmente a farinha de trigo. As análises comparativas foram baseadas em dados de referência de produtos semelhantes (bolachas de chocolate, amendoim) da Tabela de Composição de Alimentos do INSA. As bolachas de amendoim com incorporação de pó de grilo-doméstico têm na sua composição: amendoim (41,8%), farinha de trigo, açúcar, água, pó de grilo (10%), óleo vegetal de girassol, manteiga de amendoim, mel, levedantes (bicarbonato de sódio, difosfato de sódio), sal e vanilina.

Os grilos utilizados para fazer o pó, foram alimentados com farinha de subprodutos de pescado, subprodutos de origem vegetal e uma farinha comercial. Aos 50 dias

atingiram a maturidade e entraram na fase reprodutiva, durante a qual as fêmeas puseram ovos, com uma duração de 10 dias. Após estes 10 dias, no total 60 dias, os insetos foram abatidos. Para produzir o pó, os grilos foram pré-moídos, secos num micro-ondas industrial e, finalmente, moídos com um moinho.

4.2. Métodos analíticos e instrumentais

Para avaliar o efeito de incorporação de pó de grilo-doméstico em bolachas de amendoim, foram realizadas análises físico-químicas, nutricionais, microbiológicas e análises instrumentais como ensaios de textura e colorimetria, e avaliação sensorial.

Foram efetuados ensaios em três lotes diferentes deste produto. Na **Figura 2** é possível observar os três lotes de bolachas de amendoim com incorporação de pó de grilo.



Figura 2. Os três lotes analisados das bolachas de amendoim com incorporação de pó de grilo

4.2.1. Análises físico-químicas e nutricionais

Para a caracterização físico-química foram determinados o pH e a atividade da água (a_w). Para a análise proximal, os parâmetros foram determinados de acordo com os métodos oficiais da AOAC. Estes parâmetros foram: humidade e cinzas através de gravimetria, proteína bruta através do método analítico de Kjeldahl, lípidos totais

através do método analítico de Soxhlet, fibra total através do método analítico de Weende, o sal (NaCl) através de espectrofotometria de absorção atômica e cálculo e finalmente hidratos de carbono e energia através de cálculo. Também foram determinados os ácidos gordos, o conteúdo fenólico total e a atividade antioxidante.

4.2.1.1. pH

O valor do pH foi determinado de acordo com a ISO 11289:1993, tendo sido utilizado para a leitura um potenciómetro (PC 80 PRO Stirrer, XS, Carpi, Itália) com um eléctrodo da mesma marca e modelo 25-21, tendo sido este processo efetuado em triplicado para cada lote.

4.2.1.2. Atividade da água (a_w)

A a_w foi determinada de acordo com a ISO 18787:2017, sendo as bolachas picadas e, conseqüentemente retiradas amostras dessa massa para dois recipientes para serem medidas com um aparelho de determinação da atividade da água (Labswift-aw, Novasina, Lachen, Suíça) a 25 °C, tendo sido este processo efetuado em triplicado para cada lote.

4.2.1.3. Humidade

A humidade foi determinada de acordo com a AOAC 925.10. As amostras foram pesadas em cápsulas e foram colocadas a desidratar numa estufa com circulação forçada de ar (U40, Memmert GmbH, Schwabach, Alemanha), sendo arrefecidas de seguida num exsiccador, observando-se as perdas de peso da amostra, verificando o tempo de secagem até se obter um peso constante. Calculou-se a percentagem de humidade da seguinte forma:

$$\% \text{ Humidade} = \frac{(m_1 - m_2)}{(m_1 - m_0)} \times 100 \quad (1)$$

O m_0 representa a massa da cápsula vazia, o m_1 representa a massa da cápsula com a amostra antes da secagem e o m_2 representa a massa da cápsula com a amostra depois da secagem.

4.2.1.4. Cinzas

As cinzas foram determinadas de acordo com a AOAC 923.03. As amostras obtidas no processo de determinação da humidade foram aproveitadas para determinar as cinzas. As amostras foram colocadas em cadinhos e passaram por um processo de carbonização com uma chama baixa (cerca de 300 °C) tornando-se em cinza negra. De seguida, passaram por um processo de incineração numa mufla (51894, Lindberg, Watertown, Estados Unidos da América) (500 - 550 °C) tornando-se em cinza branca. A cinza branca foi arrefecida de seguida num exsiccador, observando-se as perdas de peso da amostra, verificando o tempo de secagem até se obter um peso constante. Calculou-se a percentagem das cinzas da seguinte forma:

$$\% \text{ Cinzas} = \frac{(m_2 - m_0)}{(m_1 - m_0)} \times 100 \quad (2)$$

O m_0 representa a massa do cadinho vazio, o m_1 representa a massa do cadinho com a amostra antes da carbonização e o m_2 representa a massa do cadinho com o resíduo (cinzas) depois da incineração.

4.2.1.5. Proteína bruta

A proteína bruta foi determinada de acordo com a AOAC 979.09. A determinação da proteína bruta realizou-se através da utilização de um digestor (DKL, VELP Scientifica, Usmate Velate, Itália) onde ocorreram os processos de digestão, destilação e titulação. Calculou-se a percentagem de proteína bruta da seguinte forma:

$$\% \text{ Proteína Bruta} = \% N \times F \quad (3)$$

O % N representa o teor de azoto total obtido pela titulação e o F representa o fator de conversão da matriz, que para bolachas é 6,25.

4.2.1.6. Lípidos totais

Os lípidos totais foram determinados de acordo com a AOAC 920.39C. Inicialmente, efetuou-se uma hidrólise dos lípidos recorrendo-se a uma manta de aquecimento elétrico. De seguida, efetuou-se uma neutralização do hidrolisado, após filtração e lavagem com várias e sucessivas porções de água destilada. Estas amostras sofreram uma secagem numa estufa com circulação forçada de ar (Memmert). Posteriormente, passaram por um arrefecimento num exsiccador, extraindo-se os lípidos utilizando um equipamento extrator semi-automático (SER 148, VELP Scientifica, Usmate Velate, Itália) onde o solvente foi o éter petróleo. Após a extração ter terminado, foi removido o excesso de solvente através de vaporização no equipamento extrator. O resíduo sofre uma secagem numa estufa de circulação forçada de ar (Memmert), sendo arrefecido de seguida num exsiccador. Calculou-se a percentagem de lípidos totais da seguinte forma:

$$\% \text{ Lípidos Totais} = \frac{\text{Massa da gordura extraída}}{\text{Massa da amostra inicial}} \times 100 \quad (4)$$

4.2.1.7. Fibra total

A fibra total foi determinada de acordo com a AOAC 962.09. Foram colocadas as amostras num equipamento para análises de fibras (FIWE, VELP Scientifica, Usmate Velate, Itália), adicionando-se 150 mL de ácido sulfúrico a 1,25%, mantendo-se a amostra em ebulição durante 30 min. A amostra foi, conseqüentemente, lavada com água destilada quente para a remoção de qualquer resíduo de ácido. De seguida, foram adicionados 150 mL de hidróxido de potássio a 1,25%, mantendo-se mais uma vez a amostra em ebulição durante 30 min. Conseqüentemente, a amostra foi lavada com acetona a vácuo. A amostra passou por uma secagem numa estufa (Memmert) a 103 °C e, de seguida, numa mufla a 550 °C. Calculou-se a percentagem de fibra total da seguinte forma:

$$\% \text{ Fibra Total} = \frac{\text{massa após secagem} - \text{massa após incineração}}{\text{massa da amostra}} \times 100 \quad (5)$$

4.2.1.8. Sal (NaCl)

O sal foi determinado através de espectrofotometria de absorção atômica, sendo a concentração do sódio determinada por um método interno no laboratório da ESAS adaptado do método AOAC 985.35, com as leituras realizadas num espectrofotômetro de absorção atômica (ZEE nit 700P, Analytik Jena, Jena, Alemanha) no comprimento de onda 589,60 nm. Utilizando as amostras obtidas da determinação do teor de cinzas, fez-se as soluções-mãe, sendo as cinzas dissolvidas nos pesa-filtros com 15 mL de ácido nítrico a 20%. De seguida, foram filtradas e lavadas com água destilada para um balão volumétrico de 100 mL. De seguida, foram adicionados 2 mL de óxido de lantânio, completando o volume com água destilada. Colocou-se 1 mL da solução num balão volumétrico de 25 mL, preenchendo-se o restante volume com água destilada. Este processo teve o propósito de diluir a amostra em 1:2500. A concentração de sódio é expressa em µg/g e foi calculado da seguinte forma:

$$Na = \frac{(Leitura - Leitura EB) \times Diluição}{m_1} \quad (6)$$

A Leitura representa a absorvância obtida para a amostra a analisar, a Leitura EB representa a absorvância obtida para a leitura de referência, portanto o ensaio em branco, a Diluição representa a diluição da amostra, que neste caso é 2500 e o m_1 representa a massa da amostra inicial (g). De seguida, passou-se o resultado para percentagem ao dividir o valor obtido anteriormente com 10000, passando de µg/g para g/100 g:

$$\% Na = \frac{Na}{10000} \quad (7)$$

Para calcular o teor de NaCl, multiplicou-se o resultado da fórmula anterior com um fator de ponderação, que se obtém pela razão entre as massas molares do NaCl (58,393 g/mol) e do Na (22,990 g/mol) que é 2,5399. Portanto, calculou-se o teor de sal da seguinte forma:

$$\% NaCl = \% Na \times 2,5399 \quad (8)$$

4.2.1.9. Hidratos de carbono

Os hidratos de carbono foram determinados por cálculo da seguinte forma:

$$\begin{aligned}
 & HC \\
 = & 100 - (\% \text{ Humidade} + \% \text{ Cinzas} + \% \text{ Proteína Bruta} \\
 & + \% \text{ Lípido Totais} + \% \text{ Fibra Total})
 \end{aligned}
 \tag{9}$$

4.2.1.10. Energia

A energia foi determinada através do cálculo do valor calórico da seguinte forma:

$$\text{Energia (kcal)} = (P \times 4) + (HC \times 4) + (L \times 9) + (F \times 2)
 \tag{10}$$

O P representa a percentagem de proteína bruta, o HC representa a percentagem de hidratos de carbono, o L representa a percentagem de lípidos totais e o F representa a percentagem de fibra total. Consequentemente determinou-se o valor da energia em kilojoules:

$$\text{Energia (kJ)} = \text{Energia (kcal)} \times 4,184
 \tag{11}$$

4.2.1.11. Ácidos gordos

Devido à existência de um problema com a coluna do GC-MS da Escola Superior Agrária de Santarém (ESAS), o perfil de ácidos gordos foi determinado através de cromatografia gasosa pelo Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV) Oeiras que teve como método de referência o descrito na ISO 12966-2:2017.

4.2.1.12. Conteúdo fenólico total

Para o conteúdo fenólico (CFT), fez-se a sua avaliação através do procedimento colorimétrico Folin-Ciocalteu como está descrito por Swain & Hillis (1959) com algumas modificações. O reagente de Folin-Ciocalteu foi preparado a 0,25 N, sendo diluído em 12,5 mL de reagente comercial 2 N em 100 mL de água destilada. Também se preparou uma solução de carbonato de sódio, sendo dissolvido 5,29 g de carbonato de sódio anidro em 100 mL de água destilada. Utilizou-se ácido gálico como padrão de referência para a curva de calibração, sendo preparada uma solução-mãe de ácido gálico a 0,600 mg/mL, dissolvendo 6 mg do composto em 10 mL de metanol. Através desta solução criaram-se diversas diluições entre as concentrações de 0,004 a 0,600 mg/mL. As leituras

espectrofotométricas (Analytik Jena) foram realizadas a 725 nm, com a realização de uma reta de calibração que relaciona a absorvância com a concentração de ácido gálico (**Anexo A**). Foram pesadas 2,5 g da amostra, onde se adicionou 10 mL de metanol a 100%, sendo a mistura homogeneizada durante 30-60 s e incubada em banho de ultrassons durante 20 min. Conseqüentemente, realizou-se uma centrifugação a 7000 rpm durante 20 min a 4 °C. O doseamento realizou-se em cuvettes com 2400 µL de água destilada, 75 µL do extrato metanólico, 75 µL de metanol e 150 µL do reagente Folin-Ciocalteu. Posteriormente, realizou-se uma agitação e incubação de 3 min, adicionando-se 300 µL de carbonato de sódio. As cuvettes foram incubadas no escuro a uma temperatura ambiente durante 2 h. De seguida fez-se as leituras espectrofotométricas. Expressa-se o CFT em mg equivalente a ácido gálico por 100 g de produto fresco. Calculou-se o CFT da seguinte forma:

$$CFT = \left(\frac{Abs_{725nm} - b}{m} \right) \times \left(\frac{amostra + solvente}{amostra} \right) \times FD \times 100 \quad (12)$$

A Abs_{725nm} representa o valor de absorvância a 725nm obtido pós-doseamento, o b representa a ordenada na origem e o m representa o declive da reta de calibração do padrão do ácido gálico, a amostra representa a toma inicial da amostra (g), o solvente representa o volume de solvente utilizado (mL) e o FD representa o fator de diluição aplicado, sendo neste caso 2.

4.2.1.13. Atividade antioxidante (método DPPH)

O método DPPH baseou-se na redução do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) como descrito por Brand-Williams et al. (1995), que evidencia uma diminuição da absorvância a 515 nm. Começou-se pela dissolução de 24 mg de DPPH em 100 mL de metanol a 100%, sendo esta solução mantida a -20 °C. De seguida, misturou-se 10 mL desta solução-mãe com 45 mL de metanol à temperatura ambiente, formando a solução de trabalho DPPH. O espectrofotómetro (Analytik Jena) foi ajustado para uma absorvância de $1,10 \pm 0,02$ a 515 nm. Utilizou-se soluções padrão Trolox, abrangendo uma gama de concentrações de 82 a 10 000 µmol, sendo dissolvidas 25 mg em 10 mL de metanol, que posteriormente sofreram subseqüentes diluições para gerar diversas soluções padrão de Trolox. Para a determinação da AOX das amostras, procedeu-se à

extração dos compostos antioxidantes, pensando-se 2,5 g da amostra, aos quais se adicionaram 10 mL de metanol a 100%, para extrair os antioxidantes hidrofílicos. Estas amostras foram homogeneizadas durante 30 a 60 s. Consequentemente, foram incubadas num banho de ultrassons durante 20 min. De seguida, foram centrifugadas a 7000 rpm durante 20 min a 4 °C. Os sobrenadantes obtidos foram recolhidos, sendo este o extrato metanólico. Foram colocados em cuvettes 2850 µL da solução de trabalho DPPH, 75 µL do extrato metanólico e 75 µL de metanol, tendo sido as cuvettes colocadas na incubadora à temperatura ambiente e no escuro durante 2 h. Realizou-se uma reta de calibração (**Anexo B**) através de leituras espectrofotométricas a 515 nm. Calculou-se em primeiro lugar o decréscimo da absorvância pela ação dos antioxidantes ($\Delta DPPH$) da seguinte forma:

$$\Delta DPPH = Abs_{515nm}DPPH_d - Abs_{515nm}amostra \quad (13)$$

A $Abs_{515nm}DPPH_d$ representa a absorvância da solução de trabalho DPPH e a $Abs_{515nm}amostra$ representa a absorvância registada para a amostra após a reação. Expressa-se a AOX em µmol equivalentes de Trolox por 100 gramas de produto fresco. Calculou-se a AOX da seguinte forma:

$$AOx = \left(\frac{\Delta DPPH - b}{m} \right) \times \left(\frac{amostra + solvente}{amostra} \right) \times FD \times 100 \quad (14)$$

O b representa a ordenada na origem da reta de calibração do padrão Trolox, o m representa o declive da reta de calibração do padrão Trolox, a amostra representa a toma inicial da amostra (g), o solvente representa o volume de solvente utilizado (mL) e o FD representa o fator de diluição aplicado, que neste caso foi 2.

4.2.1.14. Atividade antioxidante (método FRAP)

O método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) baseou-se na redução do complexo ferro-TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina) como descrito por Thaipong et al.

(2006), que evidencia uma alteração da absorvância a 593 nm. Preparou-se uma solução de ácido clorídrico a 40 mM (1 mM = 0,001 M), sendo dissolvidos 130 µL de HCl concentrado em 50 mL de água destilada, completando o volume até 100 mL com água destilada. De seguida, preparou-se a solução TPTZ a 10 mM, sendo dissolvidas 0,0624 g de TPTZ em 1 mL de HCl a 40 mM e ajustando-se o volume final para 20 mL com mais HCl a 40 mM. Preparou-se a solução de cloreto férrico a 20 mM, sendo dissolvidas 0,0649 g de cloreto férrico hexa-hidratado em 20 mL de água destilada. De seguida, foi preparada a solução-tampão de acetato de sódio a 0,3 M, com um pH ajustado para 3,6, sendo dissolvidas 5,152 g de acetato de sódio em 230 mL de água destilada, completando o volume para 250 mL com água destilada. A solução do reagente FRAP obteve-se através da mistura de 50 mL do tampão acetato de sódio a 0,3 M, 5 mL da solução TPTZ a 10 mM e 5 mL da solução de cloreto férrico a 20 mM. De seguida, preparou-se a solução stock de sulfato de ferro (II) hepta-hidrato ($\text{FeSO}_4(\text{H}_2\text{O})_7$) com concentração de 1000 mmol. Portanto, dissolveu-se 0,0070 g de $\text{FeSO}_4(\text{H}_2\text{O})_7$ em 25 mL de água destilada, sendo esta a solução padrão-mãe. Desenvolveu-se várias diluições para obter concentrações entre 10 e 1000 mmol. Realizou-se uma reta de calibração (**Anexo C**) através de leituras espectralométricas a 593 nm. Pesaram-se 2,5 g de cada amostra, adicionando-se 10 mL de metanol a 100% para a extração dos antioxidantes hidrofílicos. Estas amostras foram submetidas a um equipamento de dispersão para sofrer homogeneização durante 30 a 60 s. Em seguida, foram submetidas a ultrassons durante 10 min. De seguida, foram refrigeradas a uma temperatura entre 4 a 5 °C durante 12 a 24 h. Em seguida foram centrifugadas a 7000 rpm durante 20 min a 4 °C. Os sobrenadantes obtidos foram recolhidos, sendo este o extrato metanólico. Foram adicionados em cuvettes 1,8 mL da solução reagente FRAP, 50 µL de extrato metanólico e 150 µL de metanol, sendo as cuvettes incubadas durante 10 min. Expressa-se a AOX em mmol de $\text{FeSO}_4(\text{H}_2\text{O})_7$ por 100 g de produto fresco. Calculou-se a AOX da seguinte forma:

$$AOx = \left(\frac{Abs - b}{m} \right) \times \left(\frac{amostra + solvente}{amostra} \right) \times FD \times 100 \quad (15)$$

A Abs representa o valor de absorvância obtidos após o doseamento, o b representa a coordenada na origem da reta de calibração do padrão $\text{FeSO}_4(\text{H}_2\text{O})_7$, o m representa

o declive da reta de calibração do $\text{FeSO}_4(\text{H}_2\text{O})_7$, a amostra representa a toma inicial da amostra (g), o solvente representa o volume de solvente utilizado (mL) e o FD representa o fator de diluição aplicado, que neste caso foi 4.

4.2.2. Análises microbiológicas

A avaliação microbiológica foi realizada de acordo com as normas e regras para a análise microbiológica de alimentos, segundo a ISO 7218:2024. Para a caracterização microbiológica e avaliação da estabilidade foram realizadas análises microbiológicas a parâmetros de qualidade: contagem de microrganismos a 30 °C (ISO 4833-1:2013), contagem de bolores e leveduras (ISO 21527-2:2008), contagem de esporos de microrganismos a 30 °C (ISO 4833-1:2013) e contagem de *Bacillaceae* (ISO 7932:2004); e parâmetros de higiene: contagem de *Enterobacteriaceae* (ISO 21528-2:2017) e pesquisa de *Enterococcus* (método interno - ESAS). Os resultados são expressos em número de unidades formadoras de colónias por grama de alimento (log u.f.c./g).

Foram preparadas três subunidades de 25 g por lote, colocadas num caldo de triptona-sal (225 mL + 25 mL/amostra), onde de seguida sofreram uma homogeneização num homogeneizador de amostras (Stomacher 400 Circulator Lab Blender, Seward, Worthing, Inglaterra) criando assim uma solução. Desta solução ainda se fez a diluição a 1/10 e 1/100.

4.2.3. Ensaio de Textura

No caso dos ensaios de textura, foram ensaiadas 5 bolachas por lote, as mesmas que foram utilizadas na colorimetria. Relativamente à determinação da textura utilizou-se o texturómetro (TA.XTplusC, Stable Micro Systems, Godalming, Reino Unido) com uma célula de carga com capacidade máxima de 50 kg (500 N) e a sonda utilizada foi a

sonda WB (Blade Set with Knife). Para a obtenção dos valores dos ensaios de textura utilizou-se o software Exponent Connect desenvolvido pela Stable Micro Systems para este equipamento. Em face disso, as condições de ensaio e a sonda utilizadas já estão referenciadas no software. O qual fornece tabelas de valores e respectivos gráficos para os parâmetros: trabalho de rutura (N/mm.s) e a firmeza (N/mm). As condições de ensaio foram: velocidade pré-teste e durante teste a 1,50 mm/s, velocidade pós-teste a 10,00 mm/s e distância percorrida de 20,000 mm.

4.2.4. Colorimetria

Para a determinação de cor utilizou-se o colorímetro de refletância (CR 400, Konica Minolta, Tóquio, Japão), com o iluminante padrão D65 e o observador padrão CIE 1931 (XYZ) 2°. Fez-se a medição das coordenadas do espaço de cor CIEL*a*b* que de seguida foram convertidas para o espaço de cor CIEL*C*H°.

O equipamento foi calibrado com um azulejo de calibração branco em coordenadas Yxy. Foram feitas 5 leituras e o padrão, ou seja, 6 bolachas de cada lote, à temperatura ambiente.

Para poder obter os valores das coordenadas e, conseqüentemente, a reprodução da cor, utilizou-se o software SpectraMagic NX num computador que estava conectado ao colorímetro.

4.2.5. Análise sensorial

A análise sensorial foi efetuada recorrendo a provas hedónicas, com dois painéis, localizados um na ESAS e outro no INIAV. As provas decorreram numa sala especialmente preparada de acordo com a ISO 8586:2023. Na folha de prova constavam os seguintes atributos: tonalidade da cor, crocância, intensidade do sabor, teor de açúcar, sabor residual, aparência, textura, cor, sabor/aroma, apreciação global

e, por fim, intenção de compra. Cada atributo tinha uma escala de pontuação de 1 a 5, menos o atributo de intenção de compra que foi avaliado com as seguintes classificações: “Comprava”, “Talvez Comprasse” ou “Não Comprava”.

4.3. Análise estatística

O tratamento estatístico foi efetuado com o software Statistica™ V.7.0 da Statsoft. A identificação de outliers foi efetuada com recurso ao teste de Grubbs ($p < 0,05$). Foram obtidos os valores médios e os respetivos desvios-padrão. O nível de significância considerado foi de 5% ($p < 0,05$), de modo a verificar a existência ou não de diferenças significativas entre lotes, ou seja, se p for um valor inferior a 0,05 existem diferenças significativas. Quando o teste F da ANOVA foi significativo recorreu-se ao Teste *Post Hoc Honest Significant Difference* (HSD) de Tukey para a comparação múltipla de médias.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Parâmetros físico-químicos

No **Quadro 1** são apresentados os valores médios do pH e da a_w obtidos para cada lote e para o total dos três lotes com os respectivos desvios-padrão e valores mínimos e máximos.

Quadro 1. Valores médios (MED), desvios-padrão (DP), mínimos (MIN) e máximos (MAX) obtidos para o pH e para a a_w em cada um dos lotes e no total dos três lotes

Parâmetros	Lote 1				Lote 2				Lote 3				Total			
	n = 3				n = 3				n = 3				n = 9			
	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX
pH	6,21 ^a	0,02	6,19	6,23	6,07 ^b	0,06	6,00	6,11	6,22 ^a	0,03	6,20	6,25	6,17	0,08	6,00	6,25
a_w	0,095	0,001	0,094	0,096	0,096	0,002	0,095	0,098	0,094	0,001	0,094	0,095	0,095	0,001	0,094	0,098

Na mesma linha, as letras minúsculas diferentes (a-b) representam médias significativamente diferentes ($p < 0,05$). O valor de n indica o número de réplicas analisadas em cada lote.

Os valores médios do pH foram: 6,21 (Lote 1), 6,07 (Lote 2) e 6,22 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o lote 1 e o lote 3, porém houve diferenças significativas entre o lote 2 e os demais, sendo que o lote 2 apresentou valores significativamente inferiores.

Os valores médios da a_w foram: 0,095 (Lote 1), 0,096 (Lote 2) e 0,094 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes.

Os valores do pH das bolachas de amendoim (6,17) estão dentro da gama para bolachas simples (6-7) (Gouvea et al., 2021) e para bolachas suplementadas com outras farinhas que não a farinha de trigo (6-7,5) (Lima et al., 2019; Santos et al. 2023).

Os valores da a_w das bolachas de amendoim (0,095) são muito inferiores comparativamente com valores de bolachas simples (0,28-0,55) (Gouvea et al., 2021) e com valores de bolachas suplementadas com outras farinhas que não a farinha de trigo (0,43-0,66) (Lima et al., 2019; Santos et al. 2023). De facto, o valor da a_w (0,095) indica que as bolachas de amendoim apresentam uma matriz extremamente seca e estável, sugerindo uma estabilidade microbiológica e física, impedindo o crescimento de microrganismos e mantendo a crocância do produto.

5.2. Parâmetros nutricionais

No **Quadro 2** são apresentados os valores médios dos parâmetros da análise proximal obtidos para cada lote e para o total dos três lotes com os respectivos desvios-padrão e valores mínimos e máximos, sendo que os ácidos gordos se encontram no **Quadro 3** e o conteúdo fenólico total e os antioxidantes por método DPPH e FRAP no **Quadro 4**.

Quadro 2. Valores médios (MED), desvios-padrão (DP), mínimos (MIN) e máximos (MAX) obtidos para cada um dos parâmetros da análise nutricional em cada um dos lotes e no total dos três lotes

Parâmetros	Lote 1				Lote 2				Lote 3				Total			
	n = 3				n = 3				n = 3				n = 9			
	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX
Energia (kJ)	2225				2268				2275				2256	27	----	----
Energia (kcal)	530				540				542				537	6	----	----
Humidade (%)	1,91 ^{ab}	0,06	1,87	1,95	2,33 ^a	0,28	2,13	2,53	1,47 ^b	0,10	1,41	1,54	1,91	0,43	1,41	2,53
Proteína Bruta (%)	19,74	0,12	19,65	19,82	20,50	0,94	19,84	21,16	19,80	0,09	19,74	19,87	20,01	0,42	19,65	21,16
Lípidos Totais (%)	30,20	1,31	29,27	31,12	33,00	2,14	31,49	34,52	32,23	2,49	30,47	33,99	31,81	1,45	29,27	34,52
Hidratos de Carbono (%)	43,17				37,79				41,23				40,73	2,72	----	----
Fibra Total (%)	2,89	0,50	2,54	3,24	4,95				3,72				3,85	1,03	----	----
Cinzas (%)	1,75	0,20	1,61	1,89	1,42	0,32	1,19	1,65	1,54	0,02	1,53	1,55	1,57	0,17	1,19	1,89
Sal (NaCl) (%)	1,31				1,23				1,29				1,27	0,04	----	----

Na mesma linha, as letras minúsculas diferentes (a-b) representam médias significativamente diferentes ($p < 0,05$). O valor de n indica o número de réplicas analisadas em cada lote. Os espaços com um só valor representam o valor médio desse parâmetro no lote da coluna que se encontram.

Os valores médios da energia foram: 2225 kJ e 530 kcal (Lote 1), 2268 kJ e 540 kcal (Lote 2) e 2275 kJ e 542 kcal (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes. Comparativamente com valores de outras bolachas confeccionadas com farinha de trigo (1719 kJ e 411 kcal) (Ndife et al., 2014), as bolachas de amendoim apresentaram valores superiores de energia (2256 kJ e 537 kcal), devido à presença de amendoim na composição. Em contrapartida, os valores de energia das bolachas de amendoim encontram-se entre os valores de energia de bolachas enriquecidas com farinha de soja em diferentes percentagens (2125-2418 kJ e 508-578 kcal) (Ndife et al., 2014).

Os valores médios da humidade (%) foram: 1,91 (Lote 1), 2,33 (Lote 2) e 1,47 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o lote 1 e 2, nem entre o lote 1 e 3, porém houve diferenças significativas entre o lote 2 e o lote 3, sendo que o lote 2 apresentou valores significativamente superiores ao lote 3. Comparativamente com valores de outras bolachas confeccionadas com farinha de trigo (2,68-13,29) (Aquino et al., 2010; Ho & Abdul Latif, 2016; Nanyen et al., 2016; Ndife et al., 2014; Olagunju & Ifesan, 2013), as bolachas de amendoim apresentaram um valor inferior de humidade (1,91), possivelmente devido à presença elevada de proteína e de lípidos na sua composição e também o tempo de cozedura na confeção das bolachas.

Os valores médios da proteína bruta (%) foram: 19,74 (Lote 1), 20,50 (Lote 2) e 19,80 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes. Comparativamente com valores de outras bolachas confeccionadas com farinha de trigo (6,73-15,18) (Aquino et al., 2010; Ho & Abdul Latif, 2016; Nanyen et al., 2016; Ndife et al., 2014; Olagunju & Ifesan, 2013), as bolachas de amendoim apresentaram um valor superior de proteína bruta (20,01), devido à presença de amendoim e de pó de grilo-doméstico na sua composição.

Os valores médios dos lípidos totais (%) foram: 30,20 (Lote 1), 33,00 (Lote 2) e 32,23 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes. Comparativamente com valores de outras bolachas confeccionadas com farinha de trigo (3,23-26,62) (Aquino et al., 2010; Ho & Abdul Latif, 2016; Nanyen et al., 2016; Ndife et al., 2014; Olagunju & Ifesan, 2013), as bolachas de amendoim apresentaram um valor superior de lípidos totais (31,81), devido à presença de amendoim na sua composição.

Os valores médios dos hidratos de carbono (%) foram: 43,17 (Lote 1), 37,79 (Lote 2) e 41,23 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes. Comparativamente com valores de outras bolachas confeccionadas com farinha de trigo (59,58-70,45) (Aquino et al., 2010; Ho & Abdul Latif, 2016; Nanyen et al., 2016; Ndife et al., 2014; Olagunju & Ifesan, 2013), as bolachas de amendoim apresentaram um valor inferior de hidratos de carbono (40,73), devido à presença de amendoim na sua composição.

Os valores médios da fibra total (%) foram: 2,89 (Lote 1), 4,95 (Lote 2) e 3,72 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes. Comparativamente com valores de outras bolachas confeccionadas com farinha de trigo (0,07-3,29) (Ho & Abdul Latif, 2016; Nanyen et al., 2016; Ndife et al., 2014; Olagunju & Ifesan, 2013), as bolachas de amendoim apresentaram um valor superior de fibra total (3,85), devido à presença de amendoim na sua composição.

Os valores médios das cinzas (%) foram: 1,75 (Lote 1), 1,42 (Lote 2) e 1,54 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes. Comparativamente com valores de outras bolachas confeccionadas com farinha de trigo (1,43-2,56) (Aquino et al., 2010; Ho & Abdul Latif, 2016; Nanyen et al., 2016; Ndife et al., 2014; Olagunju & Ifesan, 2013), as bolachas de amendoim apresentaram um valor de cinzas dentro da gama.

Os valores médios do sal (NaCl) (%) foram: 1,31 (Lote 1), 1,23 (Lote 2) e 1,29 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes. Comparativamente com valores de outras bolachas confeccionadas com farinha de trigo (0,092) (Sanni et al., 2020), as bolachas de amendoim apresentaram um valor superior de sal (1,27).

No **Quadro 3** são apresentados os valores médios dos ácidos gordos na totalidade, divididos em saturados, monoinsaturados e polinsaturados, e dos ácidos gordos mais presentes em cada divisão, obtidos para cada lote e para o total dos três lotes com os respectivos desvios-padrão e valores mínimos e máximos.

Quadro 3. Valores médios (MED), desvios-padrão (DP), mínimos (MIN) e máximos (MAX) obtidos para cada um dos parâmetros dos ácidos gordos na totalidade, divididos em saturados, monoinsaturados e polinsaturados, e dos ácidos gordos mais presentes em cada divisão, em cada um dos lotes e no total dos três lotes

Parâmetros (g/100g de ácidos gordos)	Lote 1				Lote 2				Lote 3				Total			
	n = 3				n = 3				n = 3				n = 9			
	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX
Ácidos Gordos Saturados	13,24 ^a	0,28	12,95	13,52	13,59 ^a	0,13	13,49	13,74	12,41 ^b	0,31	12,12	12,74	13,08	0,57	12,12	13,52
Dos quais ácido Palmítico (C16)	6,79	0,35	6,43	7,13	6,80	0,36	6,58	7,21	6,60	0,35	6,20	6,80	6,73	0,32	6,20	7,21
Ácidos Gordos Monoinsaturados	67,35 ^b	0,74	66,86	68,16	67,08 ^b	0,31	66,67	67,33	69,41 ^a	0,27	69,06	69,58	67,95	1,18	66,67	69,58
Dos quais ácido Oleico (C18:1 (cis-9))	65,46 ^b	0,78	64,88	66,35	65,09 ^b	0,35	64,83	65,49	67,65 ^a	0,18	67,48	67,83	66,06	1,27	64,83	67,83
Ácidos Gordos Polinsaturados	19,14 ^a	0,46	18,48	19,40	19,06 ^a	0,19	18,66	18,96	17,66 ^b	0,52	17,00	18,00	18,62	0,80	17,00	19,40
Dos quais ácido Linoleico (C18:2 (cis-9,12))	18,68 ^a	0,17	18,48	18,79	18,66 ^a	0,03	18,64	18,70	17,48 ^b	0,50	17,00	18,00	18,27	0,65	17,00	18,79

Na mesma linha, as letras minúsculas diferentes (a-b) representam médias significativamente diferentes ($p < 0,05$). O valor de n indica o número de réplicas analisadas em cada lote.

Entre os ácidos gordos, os principais são: C18:1 (cis-9) – ácido oleico – com 66,06 g/100g, C18:2 (cis-9,12) – ácido linoleico – com 18,27 g/100g e C16 – ácido palmítico – com 6,73 g/100g. Estes três ácidos gordos representam mais de 90% do conteúdo total de ácidos gordos.

Os valores médios dos ácidos gordos saturados (g/100g de ácidos gordos) foram: 13,24 (Lote 1), 13,59 (Lote 2) e 12,41 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o Lote 1 e 2, porém o entre o Lote 3 e os restantes houve diferenças significativas, tendo o Lote 3 um valor inferior. Estes valores são maioritariamente justificados pela presença de ácido palmítico, que é um ácido gordo saturado.

Os valores médios dos ácidos gordos monoinsaturados (g/100g de ácidos gordos) foram: 67,35 (Lote 1), 67,08 (Lote 2) e 69,41 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o Lote 1 e 2, porém entre o Lote 3 e os restantes houve diferenças significativas, tendo o Lote 3 um valor superior. Estes valores são maioritariamente justificados pela presença de ácido oleico, que é um ácido gordo monoinsaturado.

Os valores médios dos ácidos gordos polinsaturados (g/100g de ácidos gordos) foram: 19,14 (Lote 1), 19,06 (Lote 2) e 17,66 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o Lote 1 e 2, porém entre o Lote 3 e os restantes houve diferenças significativas, tendo o Lote 3 um valor inferior. Estes valores são maioritariamente justificados pela presença de ácido linoleico, que é um ácido gordo polinsaturado.

Os valores para os ácidos gordos saturados das bolachas de amendoim (13,08 g/100 g de ácidos gordos) são muito inferiores, comparativamente com valores de outros produtos de panificação simples (40-70 g/100g de ácidos gordos), porém os valores para os ácidos gordos monoinsaturados (67,95 g/100 g de ácidos gordos) são muito superiores (produtos de panificação simples: 20-40 g/100 g de ácidos gordos). Já os valores de ácidos gordos polinsaturados das bolachas de amendoim (18,62 g/100 g de ácidos gordos) encontram-se dentro da gama para valores de produtos de panificação simples (10-30 g/100 g de ácidos gordos) (Daglioglu et al., 2000; Livsmedelsverket, 2011).

No **Quadro 4** são apresentados os valores médios do conteúdo fenólico total e da atividade antioxidante pelo método DPPH e pelo método FRAP, obtidos para cada lote e para o total dos três lotes com os respectivos desvios-padrão e valores mínimos e máximos.

Quadro 4. Valores médios (MED), desvios-padrão (DP), mínimos (MIN) e máximos (MAX) obtidos para o conteúdo fenólico total e para a atividade antioxidante pelo método DPPH e pelo método FRAP, em cada um dos lotes e no total dos três lotes

Parâmetros	Lote 1				Lote 2				Lote 3				Total			
	n = 3				n = 3				n = 3				n = 9			
	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX
Conteúdo Fenólico Total (mg EAG/100 g de produto fresco)	37,01	0,91	36,04	38,23	37,11	0,99	36,25	38,50	36,89	0,76	35,82	37,44	37,01	0,90	35,82	38,50
AOx - método DPPH (µmol Trolox/100 g produto fresco)	4932 ^b	308,7	4678	5366	6812 ^a	444,5	6251	7338	4415 ^b	262,0	4046	4627	5386	1087	4046	7338
AOx - método FRAP (mmol FeSO ₄ (H ₂ O) ₇ /100 g de produto fresco)	21,03 ^a	0,65	20,29	21,87	19,05 ^b	0,74	18,33	20,06	21,06 ^a	0,42	20,70	21,65	20,38	1,12	18,33	21,87

Na mesma linha, as letras minúsculas diferentes (a-b) representam médias significativamente diferentes ($p < 0,05$). O valor de n indica o número de réplicas analisadas em cada lote.

Os valores médios do conteúdo fenólico total (mg EAG/100 g de produto fresco) foram: 37,01 (Lote 1), 37,11 (Lote 2) e 36,89 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes.

Os valores médios da atividade antioxidante pelo método DPPH ($\mu\text{mol Trolox}/100\text{ g}$ produto fresco) foram: 4932 (Lote 1), 6812 (Lote 2) e 4415 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o Lote 1 e 3, porém entre o Lote 2 e os restantes houve diferenças significativas, tendo o Lote 2 um valor superior.

Os valores médios da atividade antioxidante pelo método FRAP ($\text{mmol FeSO}_4(\text{H}_2\text{O})_7/100\text{ g}$ de produto fresco) foram: 21,03 (Lote 1), 19,05 (Lote 2) e 21,06 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o Lote 1 e 3, porém entre o Lote 2 e os restantes houve diferenças significativas, tendo o Lote 2 um valor inferior.

Embora não tenham sido observadas diferenças significativas no conteúdo fenólico total, no que respeita à atividade antioxidante, o mesmo lote evidencia diferenças significativas, destacando-se pelo valor médio mais elevado no método DPPH e, em contraste, por um valor médio inferior no método FRAP. Este fenómeno pode ser explicado pelo facto de que a atividade antioxidante não depende exclusivamente da concentração global de compostos fenólicos, mas também da sua composição qualitativa, estrutura química e da sua interação diferencial com os mecanismos avaliados em cada ensaio.

Os valores para o conteúdo fenólico total (37,01 mg EAG/100 g) encontram-se dentro da gama para valores de produtos de panificação simples (20-50 mg EAG/100 g) (Beta et al., 2005), mas são inferiores aos valores de produtos ricos em fenóis, como por exemplo os mirtilos (200-500 mg EAG/100 g) (Prior et al., 1998). Porém os valores da atividade antioxidante em ambos os métodos (DPPH e FRAP) são muito elevados (5386 $\mu\text{mol Trolox}/100\text{ g}$ e 20,38 $\text{mmol FeSO}_4(\text{H}_2\text{O})_7/100\text{ g}$), sendo muito superiores ao esperado para valores de produtos de panificação simples ou até mesmo enriquecidos (150-2200 $\mu\text{mol Trolox}/100\text{ g}$ e 5-20 $\text{mmol FeSO}_4(\text{H}_2\text{O})_7/100\text{ g}$) (Nguyen et al., 2025; Tu et al., 2021), podendo mesmo até serem comparados com valores de frutas de elevado poder antioxidante, como por exemplo a romã ou o mirtilo.

Sendo um produto novo, não existem valores de referência que permitem a comparação com os resultados obtidos. Portanto, foi feita uma comparação com bolacha de chocolate e com amendoim. Os valores de referência foram retirados da Tabela de Composição de Alimentos (TCA) do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA). No **Quadro 5** são apresentados os valores médios da análise nutricional das bolachas de amendoim comparativamente com os valores de referência da Tabela de Composição de Alimentos para a bolacha de chocolate e para o amendoim.

Quadro 5. Valores médios dos parâmetros nutricionais analisados para as bolachas de amendoim suplementadas com pó de grilo-doméstico e valores de referência da Tabela de Composição de Alimentos para a bolacha de chocolate e para o amendoim

Parâmetros	Bolachas de amendoim suplementadas com pó de grilo-doméstico	Bolacha de chocolate	Amendoim
Energia (kJ)	2256	1970	2440
Energia (kcal)	537	469	589
Humidade (%)	1,91	5,20	5,70
Proteína Bruta (%)	20,01	5,70	25,40
Lípidos Totais (%)	31,81	19,80	47,70
Ácidos Gordos Saturados (g/100g de ácidos gordos)	13,08	62,63	17,81
Ácidos Gordos Monoinsaturados (g/100g de ácidos gordos)	67,95	28,28	45,69
Ácidos Gordos Polinsaturados (g/100g de ácidos gordos)	18,62	6,57	31,03
Hidratos de Carbono (%)	40,73	64,40	10,10
Fibra Total (%)	3,85	3,00	8,80
Cinzas (%)	1,57	0,80	2,60
Sal (NaCl) (%)	1,27	0,20	0,00

Os valores da energia das bolachas de amendoim (2256 kJ e 537 kcal) situam-se entre os valores de energia da bolacha de chocolate (1970 kJ e 469 kcal) e do amendoim (2440 kJ e 589 kcal), sendo o valor energético do amendoim o mais elevado.

O valor da humidade (%) da bolacha de amendoim (1,91) é muito inferior comparativamente ao valor de ambos os produtos de referência (5,20 para bolacha de chocolate e 5,70 para amendoim). Existem duas possibilidades para esta situação: influência do pó de grilo na composição das bolachas de amendoim ou o tempo de cozedura na confeção das bolachas de amendoim.

O valor da proteína bruta (%) da bolacha de amendoim (20,01) situa-se entre o valor da bolacha de chocolate (5,70) e o valor do amendoim (25,40), sendo o valor do amendoim o mais elevado. A influência do amendoim e do pó de grilo na composição das bolachas de amendoim, permitem explicar o porquê do valor da proteína bruta da bolacha de amendoim ser mais elevado comparativamente com o valor da bolacha de chocolate.

O valor dos lípidos totais (%) da bolacha de amendoim (31,81) situa-se entre o valor da bolacha de chocolate (19,80) e o valor do amendoim (47,70), sendo o valor do amendoim o mais elevado. A incorporação do amendoim na composição das bolachas de amendoim explica este valor tão elevado comparativamente com as bolachas de chocolate.

O valor dos ácidos gordos saturados (g/100 g de ácidos gordos) da bolacha de amendoim (13,08) é mais inferior comparativamente com o valor da bolacha de chocolate (62,63) e o valor do amendoim (17,81). A incorporação do pó de grilo e de amendoim na composição das bolachas de amendoim contribuiu para a diminuição de ácidos gordos saturados.

O valor dos ácidos gordos monoinsaturados (g/100 g de ácidos gordos) da bolacha de amendoim (67,95) é mais elevado comparativamente com o valor da bolacha de chocolate (28,28) e o valor do amendoim (45,69). A incorporação de pó de grilo e de amendoim na composição das bolachas de amendoim contribuiu para o aumento de ácidos gordos monoinsaturados.

O valor dos ácidos gordos polinsaturados (g/100 g de ácidos gordos) da bolacha de amendoim (18,62) situa-se entre o valor da bolacha de chocolate (6,57) e o valor do amendoim (31,03), sendo o valor do amendoim o mais elevado. A incorporação de pó de grilo e de amendoim na composição das bolachas de amendoim contribui para o valor dos ácidos gordos polinsaturados ser mais elevado comparativamente ao valor das bolachas de chocolate.

Dos ácidos gordos analisados, os mais presentes na composição das bolachas foram: o ácido oleico (C18:1 (cis-9)), o ácido linoleico (C18:2 (cis-9,12)) e o ácido palmítico (C16). O ácido oleico está associado à redução do colesterol LDL, a efeitos anti-inflamatórios, à sensibilidade à insulina e à contribuição para a saúde cardiovascular (Pravst, 2014). O ácido linoleico está associado à formação de membranas celulares e é precursor de eicosanoides - moléculas reguladoras de inflamação e imunidade (Jandacek, 2017; J. Li et al., 2020). O ácido palmítico é uma fonte de energia, mas que em excesso pode aumentar o colesterol LDL e risco cardiovascular, podendo também induzir resistência à insulina e inflamação quando substitui ácidos gordos insaturados na dieta (Annevelink et al., 2023).

O valor dos hidratos de carbono (%) da bolacha de amendoim (40,73) situa-se entre o valor da bolacha de chocolate (64,40) e o valor do amendoim (10,10), sendo o valor da bolacha de chocolate o mais elevado.

O valor da fibra total (%) da bolacha de amendoim (3,85) situa-se entre o valor da bolacha de chocolate (3,00) e o valor do amendoim (8,80), sendo o valor do amendoim mais elevado.

O valor das cinzas (%) da bolacha de amendoim (1,57) situa-se entre o valor da bolacha de chocolate (0,80) e o valor do amendoim (2,60), sendo o valor do amendoim o mais elevado.

O valor do sal (NaCl) (%) da bolacha de amendoim (1,27) é muito elevado comparativamente com o valor da bolacha de chocolate (0,20) e com o valor do amendoim (0,00).

É possível afirmar que devido ao facto das bolachas de amendoim terem um elevado teor de amendoim na sua composição (41,8%), muitos parâmetros da sua

composição são influenciados pela presença do amendoim, mais especificamente os lípidos totais e os ácidos gordos.

Não obstante, a presença combinada do pó de grilo e de amendoim na formulação das bolachas contribuiu muito para a melhoria qualitativa da composição dos ácidos gordos, com o aumento de ácidos gordos insaturados, com benefícios potenciais para a qualidade nutricional do produto.

5.3. Parâmetros microbiológicos

Para a determinação microbiológica foram medidos 6 parâmetros: contagem de microrganismos a 30 °C, contagem de esporos de microrganismos a 30 °C, contagem de *Bacillaceae*, contagem de *Enterobacteriaceae*, contagem de bolores e leveduras em produtos com a_w inferior a 0,95 e pesquisa de *Enterococcus* - e destes parâmetros verificou-se se cumpriam os valores-guia do INSA (**Quadro 7**), que servem de base para a interpretação de resultados de ensaios microbiológicos obtidos em amostras de alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar, no contexto de programas de vigilância microbiológica (INSA, 2019). Foram analisadas 3 amostras por cada lote. No **Quadro 6** são apresentados os valores médios dos parâmetros microbiológicos obtidos para cada lote e para o total dos três lotes com os respectivos desvios-padrão e valores mínimos e máximos.

Quadro 6. Valores médios (MED), desvios-padrão (DP), mínimos (MIN) e máximos (MAX) obtidos para cada um dos parâmetros microbiológicos em cada um dos lotes e no total dos três lotes

Parâmetros	Lote 1				Lote 2				Lote 3				Total			
	n = 3				n = 3				n = 3				n = 9			
	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX
Contagem de microrganismos a 30 °C (log u.f.c./g)	2,07 ^b	0,20	1,85	2,23	2,38 ^b	0,07	2,32	2,46	3,08 ^a	0,07	3,00	3,15	2,51	0,46	1,85	3,15
Contagem de esporos de microrganismos a 30 °C (log u.f.c./g)	1,72 ^b	0,20	1,60	1,95	1,78 ^b	0,15	1,70	1,95	2,72 ^a	0,10	2,60	2,78	2,07	0,50	1,60	2,78
Contagem de <i>Bacillaceae</i> (log u.f.c./g)	<1				<1				<1				<1			
Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i> (log u.f.c./g)	<1				<1				<1				<1			
Contagem de bolores e leveduras em produtos com a _w inferior a 0,95 (log u.f.c./g)	<1				<1				<1				<1			
Pesquisa de <i>Enterococcus</i> (Presente;Ausente)	Presente ¹				Presente ¹				Presente ²				—			

Na mesma linha, as letras minúsculas diferentes (a-b) representam médias significativamente diferentes (p<0,05). O valor de n indica o número de réplicas analisadas em cada lote.

1 - Detetado em 10⁻¹ g em todas as amostras

2 - Detetado em 1 g nas amostras 1 e 3 e detetado em 10⁻¹ g na amostra 2

No **Quadro 7** são apresentados os parâmetros microbiológicos analisados e se estes cumprem os valores-guia do INSA, para cada amostra de cada lote. As bolachas são consideradas alimentos totalmente cozinhados, manuseados após o tratamento térmico, pertencendo assim ao Subgrupo 1B dos valores-guia do INSA (INSA, 2019).

Quadro 7. Parâmetros microbiológicos analisados e os respectivos valores-guia do INSA para cada amostra de cada lote

Parâmetros	Valores-guia satisfatórios (1B)	Lote 1			Lote 2			Lote 3		
		Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Contagem de microrganismos a 30 °C	<10 ⁴ u.f.c./g	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório
Contagem de esporos de microrganismos a 30 °C	<10 ⁴ u.f.c./g	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório
Contagem de <i>Bacillaceae</i>	Para <i>Bacillus cereus</i> : <10 ³ u.f.c./g Para outros <i>Bacillus spp.</i> : <10 ⁴ u.f.c./g	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório
Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	<10 ² u.f.c./g	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório
Contagem de bolores e leveduras em produtos com a _w inferior a 0,95	Para leveduras: <10 ³ u.f.c./g Para bolores: <5x10 ² u.f.c./g	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório
Pesquisa de <i>Enterococcus</i>	Não detetado	Não satisfatório	Não satisfatório	Não satisfatório	Não satisfatório	Não satisfatório	Não satisfatório	Não satisfatório	Não satisfatório	Não satisfatório

Para a contagem de microrganismos a 30 °C, os valores obtidos nas análises cumprem os requerimentos dos indicadores de higiene dos valores-guia do INSA nos três lotes analisados (INSA, 2019). Houve diferenças significativas entre o Lote 3 e os restantes, tendo o lote 3 um valor significativamente superior.

Para a contagem de esporos de microrganismos a 30 °C, os valores obtidos nas análises cumprem os requerimentos dos indicadores de higiene dos valores-guia do INSA nos três lotes analisados (INSA, 2019), não estando refletidos na contagem de esporos de *Bacillus* spp. patogénicos. Houve diferenças significativas entre o Lote 3 e os restantes, tendo o lote 3 um valor significativamente superior.

Para a contagem de *Bacillaceae*, os valores obtidos nas análises cumprem os requerimentos da qualidade microbiológica dos valores-guia do INSA nos três lotes analisados (INSA, 2019).

Para a contagem de *Enterobacteriaceae*, os valores obtidos nas análises cumprem os requerimentos dos indicadores de higiene dos valores-guia do INSA nos três lotes analisados (INSA, 2019), assegurando que a produção decorreu de acordo com as boas práticas de higiene.

Para a contagem de bolores e leveduras em produtos com a_w inferior a 0,95, os valores obtidos nas análises cumprem os requerimentos dos indicadores de higiene dos valores-guia do INSA nos três lotes analisados (INSA, 2019).

No entanto, a presença de *Enterococcus* nos três lotes sugere que seja seguida a recomendação do SciCom (2014): como não pode ser excluído que bactérias patogénicas (e esporos) do ambiente de produção possam infetar os insetos e seus consumidores, uma etapa de aquecimento é indispensável antes de os produtos serem colocados no mercado ou consumidos. Porém, este aspeto esteve salvaguardado na produção das bolachas.

Apesar de neste conjunto de análises não se ter efetuado a pesquisa de *Salmonella* spp., a análise deste indicador no pó de grilo usada nestas bolachas, estava de acordo com os valores referidos no Regulamento de Execução (EU) 2022/188.

5.4. Parâmetros da textura

Para a determinação da textura foram medidos apenas dois parâmetros: trabalho de rutura e firmeza. Foram analisadas 5 amostras por cada lote. No **Quadro 8** são apresentados os valores médios dos parâmetros da textura obtidos para cada lote e para o total dos três lotes com os respectivos desvios-padrão e valores mínimos e máximos.

Quadro 8. Valores médios (MED), desvios-padrão (DP), mínimos (MIN) e máximos (MAX) obtidos para cada um dos parâmetros da textura em cada um dos lotes e no total dos três lotes

Parâmetros	Lote 1				Lote 2				Lote 3				Total			
	n = 5				n = 5				n = 5				n = 15			
	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX
Trabalho de rutura (N/mm.s)	6,248	1,399	5,070	8,550	6,320	0,770	5,180	7,290	6,562	1,548	5,190	8,900	6,377	1,197	5,070	8,900
Firmeza (N/mm)	7,276	1,689	5,200	9,150	6,568	1,944	4,740	9,720	8,150	2,538	5,750	11,960	7,331	2,045	4,740	11,960

O trabalho de rutura (N/mm.s), que representa a energia total necessária para deformar/romper um produto alimentar, teve valores médios de: 6,249 (Lote 1), 6,320 (Lote 2) e 6,562 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes.

A firmeza (N/mm), que representa a força necessária para produzir uma deformação inicial num produto alimentar, teve valores médios de: 7,276 (Lote 1), 6,568 (Lote 2) e 8,150 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes.

Na **Figura 3** são apresentados os valores médios do trabalho de rutura e da firmeza relativos aos três lotes. É possível constatar que não se verificaram diferenças significativas entre os três lotes em qualquer dos parâmetros.

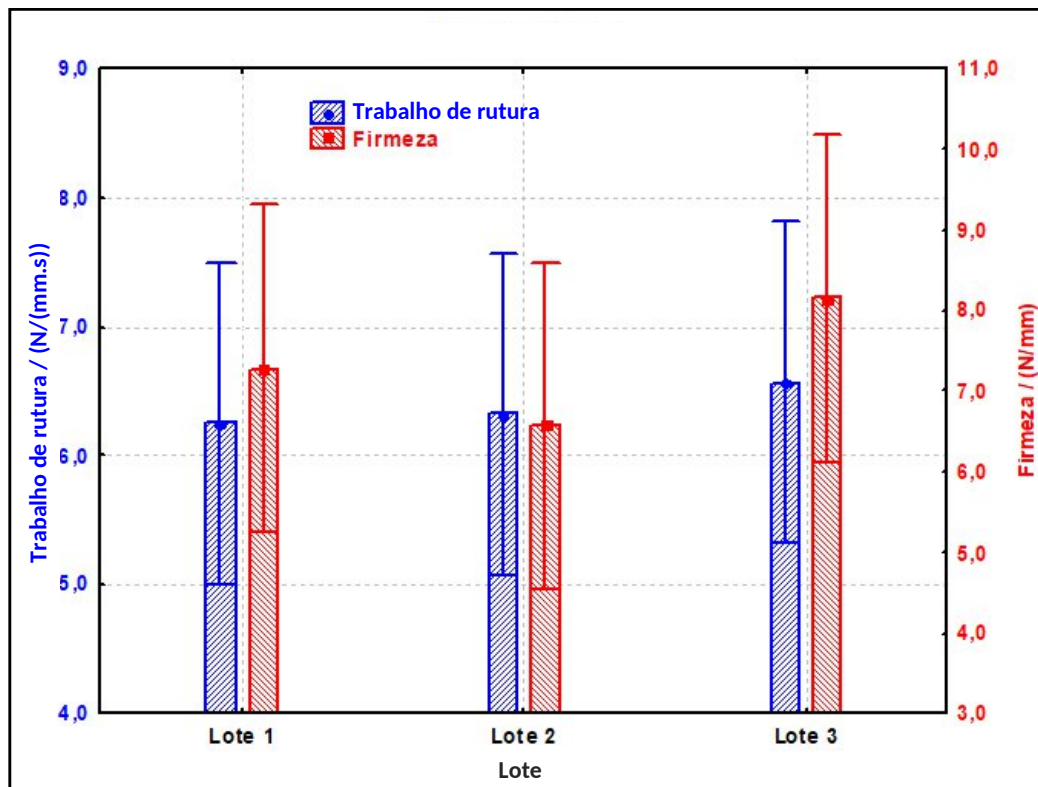


Figura 3. Valores médios do trabalho de rutura (N/mm.s) e da firmeza (N/mm) para os três lotes

5.5. Parâmetros da cor

Para a determinação da cor foram medidas as coordenadas de cor (L^* , a^* e b^*) e calculadas mais duas coordenadas de cor (C^* e H°). Foram medidas 5 amostras por cada lote, sendo analisados ambos os lados de cada bolacha (A – superior e B – inferior). No **Quadro 9** e **10** são apresentados os valores médios das coordenadas de cor obtidos respectivamente para o lado A e para o lado B de cada bolacha analisada para cada lote e para o total dos três lotes com os respectivos desvios-padrão e valores mínimos e máximos.

Quadro 9. Valores médios (MED), desvios-padrão (DP), mínimos (MIN) e máximos (MAX) obtidos para cada um dos parâmetros da cor em cada um dos lotes e no total dos três lotes para o lado A e a cor média para cada um dos lotes para o lado A

Parâmetros	Lote 1				Lote 2				Lote 3				Total			
	n = 5				n = 5				n = 5				n = 15			
	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX
L^*	48,56	6,67	39,44	56,4	46,35	7,15	35,33	55,18	51,53	7,11	42,17	59,96	48,81	6,82	35,33	59,96
a^*	7,50	2,14	5,71	10,78	8,24	1,83	5,88	9,79	7,19	2,86	4,4	11,46	7,64	2,20	4,4	11,46
b^*	26,75	4,15	20,97	30,85	26,64	4,13	19,80	29,68	28,26	1,33	26,77	30,20	27,22	3,30	19,8	30,85
C^*	27,86	4,05	21,97	32,00	27,98	3,76	21,97	30,57	29,28	1,15	28,27	31,25	28,37	3,09	21,97	32,00
H°	74,16	4,71	67,08	79,48	72,42	5,42	64,30	78,79	75,75	5,79	66,82	81,26	74,11	5,13	64,30	81,26
Cor																

A coordenada L^* , representa a luminosidade e varia entre 0 e 100 (preto e branco, respetivamente), apresentou valores médios no lado A das bolachas de: 48,56 (Lote 1), 46,35 (Lote 2) e 51,53 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes, sendo o lote 3 o mais claro com valor mais elevado, evidenciado na linha da Cor do **Quadro 9**.

A coordenada a^* , que corresponde ao eixo vermelho/verde (vermelho para valores positivos e o verde para valores negativos), apresentou valores médios no lado A das bolachas de: 7,50 (Lote 1), 8,24 (Lote 2) e 7,19 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes. Faz sentido os três valores serem baixos e positivos, pois a cor do lado A da bolacha parece alaranjada/amarelada, evidenciado na linha da Cor do **Quadro 9**.

A coordenada b^* , que corresponde ao eixo amarelo/azul (amarelo para valores positivos e o azul para valores negativos), apresentou valores médios no lado A das bolachas de: 26,75 (Lote 1), 26,64 (Lote 2) e 28,26 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes. Faz sentido os três valores serem positivos e elevados, pois a cor do lado A das bolachas é mais amarelado, evidenciado na linha da Cor do **Quadro 9**.

A coordenada C^* representa a saturação da cor (brilho) e inicia em zero no centro, teve valores médios no lado A das bolachas de: 27,86 (Lote 1), 27,98 (Lote 2) e 29,28 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) para este parâmetro entre os três lotes. Os valores do lote 3 são mais elevados, sendo por isso mais brilhante comparativamente aos lotes 1 e 2, evidenciado na linha da Cor do **Quadro 9**.

A coordenada H° , representa a tonalidade e varia entre 0° e 360° no sentido contrarrelógio, apresentou valores médios no lado A das bolachas de: 74,16 (Lote 1), 72,42 (Lote 2) e 75,75 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes. Os valores de H° entre 0° e 90° representam os vermelhos, os laranjas e alguns amarelos, sendo que faz sentido o valor de H° para os três lotes ser entre os 72° e os 76° , pois o lado A das bolachas apresenta uma cor alaranjada/amarelada, evidenciado na linha da Cor do **Quadro 9**.

Quadro 10. Valores médios (MED), desvios-padrão (DP), mínimos (MIN) e máximos (MAX) obtidos para cada um dos parâmetros da cor em cada um dos lotes e no total dos três lotes para o lado B e a cor média para cada um dos lotes para o lado B

Parâmetros	Lote 1				Lote 2				Lote 3				Total			
	n = 5				n = 5				n = 5				n = 15			
	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX	MED	±DP	MIN	MAX
L*	32,53	1,30	31,15	34,12	31,59	1,38	29,4	32,86	32,84	1,86	31,1	35,82	32,32	1,52	29,4	35,82
a*	14,11	0,46	13,87	14,94	13,96	1,05	12,84	15,53	14,05	0,45	13,4	14,59	14,04	0,66	12,84	15,53
b*	19,45	1,04	18,64	21,18	19,05	1,67	17,09	21,66	19,54	1,14	18,21	21,25	19,35	1,24	17,09	21,66
C*	24,03	1,10	23,28	25,92	23,62	1,91	21,73	26,65	24,07	1,18	22,61	25,78	23,91	1,35	21,73	26,65
H°	54,02	0,72	53,19	54,80	53,73	1,26	51,86	55,03	54,25	0,76	53,65	55,53	54,00	0,91	53,19	55,53
Cor																

A coordenada L* apresentou valores médios no lado B das bolachas de: 32,53 (Lote 1), 31,59 (Lote 2) e 32,84 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes. Era expectável os valores do lado B serem mais baixos que os valores do lado A, pois a cor do lado B da bolacha é mais escura comparativamente com a cor do lado A, evidenciado na linha da Cor do **Quadro 10**.

A coordenada a* apresentou valores médios no lado B das bolachas de: 14,11 (Lote 1), 13,96 (Lote 2) e 14,05 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes. Faz sentido os três valores serem positivos, pois a cor do lado B da bolacha é avermelhada, tendo um tom castanho, evidenciado na linha da Cor do **Quadro 10**.

A coordenada b^* apresentou valores médios no lado B das bolachas de: 19,45 (Lote 1), 19,05 (Lote 2) e 19,54 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes. Faz sentido os três valores serem positivos, pois a cor do lado A das bolachas é amarelado, tendo um tom castanho, evidenciado na linha da Cor do **Quadro 10**.

A coordenada C^* apresentou valores médios no lado B das bolachas de: 24,03 (Lote 1), 23,62 (Lote 2) e 24,07 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes. Não existem grandes diferenças entre os lados A e B relativamente à saturação.

A coordenada H° apresentou valores médios no lado B das bolachas de: 54,02 (Lote 1), 53,73 (Lote 2) e 54,25 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes. Faz sentido o valor de H° para os três lotes ser entre os 53° e os 55° , pois o lado B das bolachas apresenta uma cor acastanhada, estando corretamente no ângulo que representa os vermelhos, evidenciado na linha da Cor do **Quadro 10**.

O lado B apresenta cores mais escuras e mais avermelhadas/acastanhadas devido ao facto de que o lado B é o lado que está em contacto com o forno durante o processo de cozedura das bolachas.

5.6. Parâmetros sensoriais

As provas sensoriais foram realizadas por dois painéis, com um total de 24 pessoas. Cada atributo tinha uma escala de pontuação de 1 a 5, menos o atributo de intenção de compra que foi avaliado com as seguintes classificações: “Comprava”, “Talvez Comprasse” ou “Não Comprava”.

Na **Figura 4** são apresentadas as variações verificadas dos atributos avaliados sendo comparados os valores médios de cada parâmetro entre os três lotes, sendo que a intenção de compra foi separada para uma melhor apresentação no **Gráfico 1**.

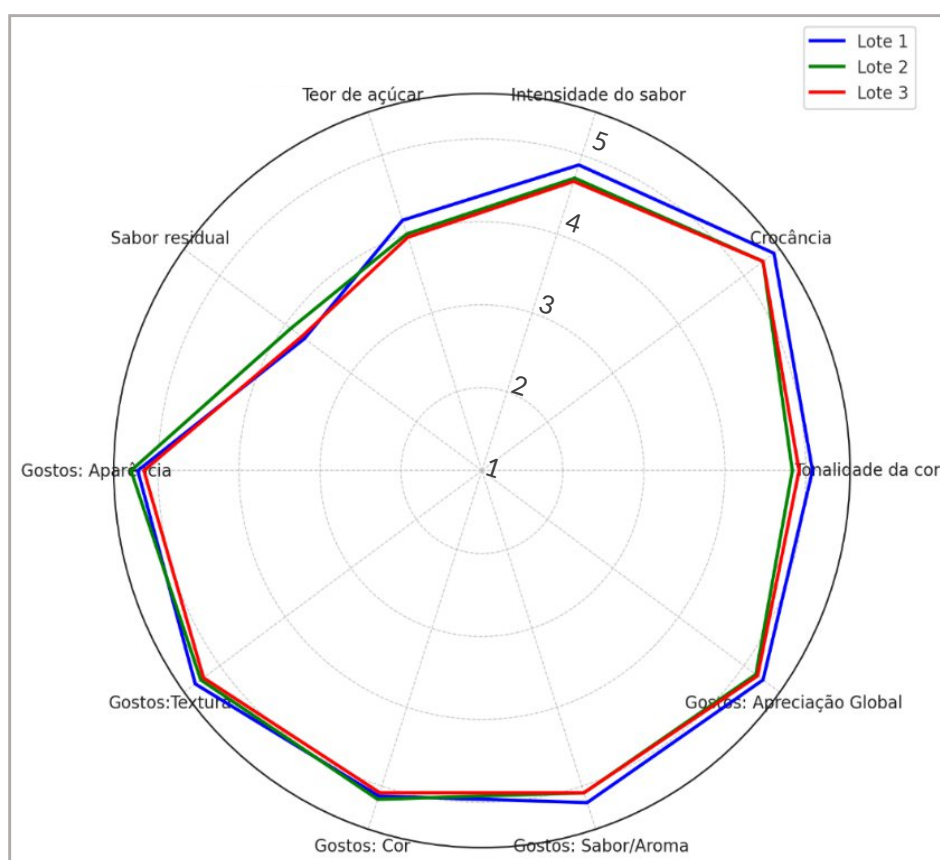


Figura 4. Variação das características avaliadas entre os três lotes

Os valores médios da tonalidade da cor (0 a 5) foram: 4,1 (Lote 1), 3,8 (Lote 2) e 3,9 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes, sendo o valor do Lote 1 o mais elevado.

Os valores médios da crocância (0 a 5) foram: 4,5 (Lote 1), 4,3 (Lote 2) e 4,3 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes, sendo o valor do Lote 1 o mais elevado.

Os valores médios da intensidade do sabor (0 a 5) foram: 3,9 (Lote 1), 3,7 (Lote 2) e 3,7 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes, sendo o valor do Lote 1 o mais elevado.

Os valores médios do teor de açúcar (0 a 5) foram: 3,2 (Lote 1), 3,0 (Lote 2) e 3,0 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes, sendo o valor do Lote 1 o mais elevado.

Os valores médios do sabor residual (0 a 5) foram: 2,7 (Lote 1), 3,0 (Lote 2) e 2,7 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes, sendo o valor do Lote 2 o mais elevado.

Os valores médios da aparência (0 a 5) foram: 4,3 (Lote 1), 4,4 (Lote 2) e 4,2 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes, sendo o valor do Lote 2 o mais elevado.

Os valores médios da textura (0 a 5) foram: 4,4 (Lote 1), 4,3 (Lote 2) e 4,2 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes, sendo o valor do Lote 1 o mais elevado.

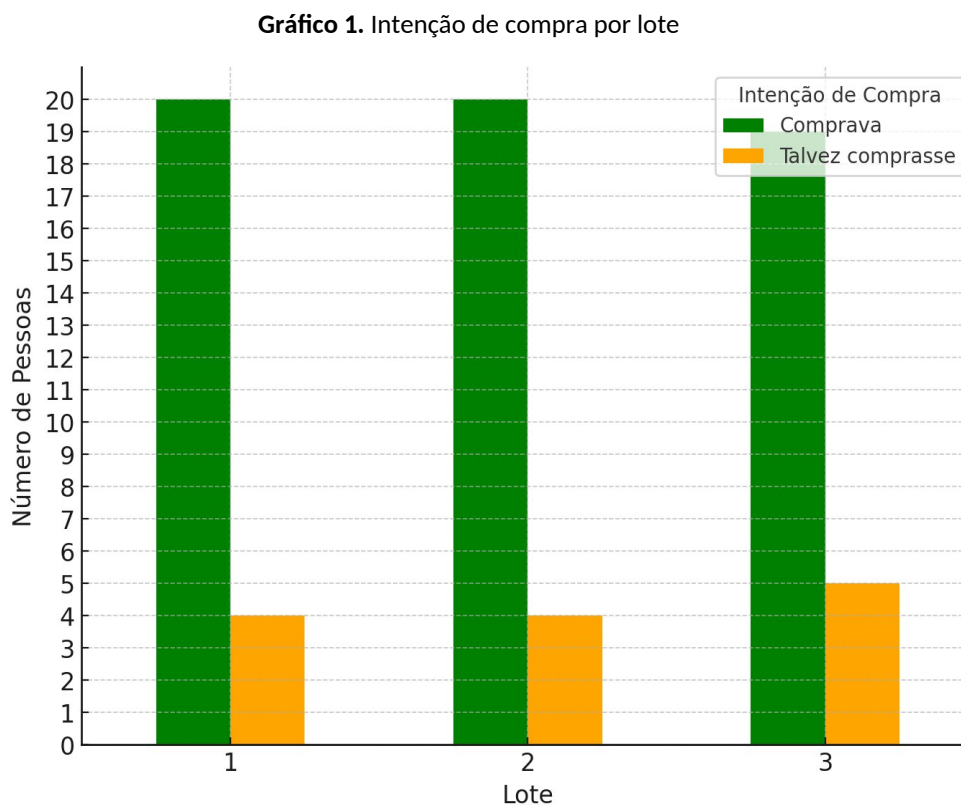
Os valores médios da cor (0 a 5) foram: 4,1 (Lote 1), 4,2 (Lote 2) e 4,0 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes, sendo o valor do Lote 2 o mais elevado.

Os valores médios do sabor/aroma (0 a 5) foram: 4,2 (Lote 1), 4,1 (Lote 2) e 4,1 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes, sendo o valor do Lote 1 o mais elevado.

Os valores médios da apreciação global (0 a 5) foram: 4,3 (Lote 1), 4,2 (Lote 2) e 4,2 (Lote 3), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os três lotes, sendo o valor do Lote 1 o mais elevado.

Contudo, perante esta discussão de resultados, verifica-se que as bolachas do lote 1 foram mais apreciadas para todos os atributos à exceção do sabor residual.

No **Gráfico 1** são apresentadas as classificações médias para a intenção de compra entre os três lotes.



Para a intenção de compra o número de pessoas que responderam “Comprava” foi a maioria, podendo observar um número de 20 pessoas para o Lote 1 e Lote 2 e um número de 19 pessoas para o Lote 3 que responderam “Comprava”. O número de pessoas que responderam “Talvez comprasse” foi muito baixo, podendo observar um número de 4 pessoas para o Lote 1 e 2 e um número de 5 pessoas para o Lote 3 que responderam “Talvez comprasse”. Não houve casos onde houvesse a resposta “Não comprava”.

Os três lotes apresentaram uma classificação semelhante em todos os atributos, podendo afirmar que para a análise sensorial não houve diferenças significativas.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo foi avaliado um produto com incorporação de pó de grilo-doméstico, caracterizando o produto ao nível físico-químico, nutricional, microbiológico, instrumental e sensorial.

O valor da a_w obtido para as bolachas de amendoim indica uma matriz extremamente seca, estável e pouco suscetível ao crescimento microbiano. A baixa a_w contribui para a conservação e crocância do produto.

Relativamente à proteína bruta, verificou-se um valor muito superior nas bolachas de amendoim, comparativamente ao valor de referência das bolachas de chocolate. Isto é possível devido à presença de dois ingredientes na composição das bolachas: pó de grilo-doméstico e amendoim. Para poder perceber a verdadeira influência do pó de grilo na proteína da bolacha, seria necessário haver valores de uma bolacha padrão sem pó de grilo e/ou diferentes percentagens de pó na sua composição.

Relativamente aos lípidos totais, o valor obtido para as bolachas de amendoim foi muito superior, comparativamente com o valor de referência das bolachas de chocolate. A presença de amendoim na composição da bolacha justifica este valor elevado.

As bolachas de amendoim têm uma maior percentagem de ácidos gordos insaturados em comparação com os valores de referência das bolachas de chocolate, o que é uma mais-valia a nível nutricional para o produto e pode ser um fator importante na escolha do consumidor.

Relativamente ao conteúdo fenólico total é possível concluir que as bolachas apresentam valores normais comparativamente com outras bolachas ou produtos de panificação simples, porém, relativamente à atividade antioxidante, é possível concluir que as bolachas apresentam valores superiores ao que seria normal para outras bolachas ou produtos de panificação simples. Possivelmente a presença de amendoim permite justificar estes valores superiores.

A nível microbiológico, existiram diferenças significativas no Lote 3, tendo sido obtidos valores mais elevados nos parâmetros de contagem de microrganismos a 30 °C e de esporos de microrganismos a 30 °C. Sendo que estes valores cumprem os

requerimentos dos indicadores de higiene dos valores-guia do INSA, é possível determinar que as bolachas de amendoim suplementados com pó de grilo-doméstico são microbiologicamente estáveis.

Relativamente à textura, não existem grandes conclusões a serem retiradas, sendo que não houve diferenças significativas entre os três lotes. A textura poderá ter sido afetada pela presença de amendoins na parte superior das bolachas.

Relativamente à cor, os três lotes apresentaram valores semelhantes. É possível concluir que a cor foi afetada por duas coisas: os amendoins presentes no lado A das bolachas e o pó de grilo presente na composição da bolacha. Os amendoins deram às bolachas uma cor mais amarelada e brilhante. Por outro lado, o pó de grilo escureceu a cor da bolacha.

Após a análise dos resultados, é possível concluir que entre os três lotes houve diferenças significativas para alguns dos parâmetros analisados, sendo que esta variabilidade não afetou realmente o produto no final, como é possível considerar tendo em atenção os valores das análises sensoriais, apresentando uma boa aceitação geral.

Através da caracterização das bolachas de amendoim com incorporação de pó de grilo-doméstico a nível físico-químico, nutricional, microbiológico, instrumental e sensorial, este estudo pretendeu valorizar o grilo-doméstico como fonte alternativa de proteína, porém não só permitiu valorizar o potencial proteico como também outros parâmetros nutricionais e, através da pesquisa, permitiu conhecer outros fatores benéficos na utilização de insetos para a alimentação humana.

A incorporação de pó de grilo-doméstico permitiu o desenvolvimento de um produto alimentar nutricionalmente enriquecido, microbiologicamente seguro e sensorialmente bem aceite. Estes resultados demonstram o potencial do grilo-doméstico como fonte alternativa de proteína e reforçam a sua aplicabilidade no desenvolvimento de novos produtos alimentares, contribuindo para a diversificação de fontes proteicas e para a promoção da aceitação gradual de insetos na alimentação humana.

7. BIBLIOGRAFIA

- Acosta-Estrada, B. A., Reyes, A., Rosell, C. M., Rodrigo, D., & Ibarra-Herrera, C. C. (2021). Benefits and Challenges in the Incorporation of Insects in Food Products. *Frontiers in Nutrition*, 8. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.687712>
- Annevelink, C. E., Sapp, P. A., Petersen, K. S., Shearer, G. C., & Kris-Etherton, P. M. (2023). Diet-derived and diet-related endogenously produced palmitic acid: Effects on metabolic regulation and cardiovascular disease risk. *Journal of Clinical Lipidology*, 17(5), 577–586. <https://doi.org/10.1016/j.jacl.2023.07.005>
- Aquino, A., Mões, R., Leão, K., Figueiredo, A., & Castro, A. (2010). Avaliação físico-química e aceitação sensorial de biscoitos tipo cookies elaborados com farinha de resíduos de acerola. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 69(3), 379-386. <https://doi.org/10.53393/rial.2010.v69.32640>
- Beta, T., Nam, S., Dexter, J. E., & Sapistein, H. D. (2005). Phenolic Content and Antioxidant Activity of Pearled Wheat and Roller-Milled Fractions. *Cereal Chemistry*, 82(4), 390–393. <https://doi.org/10.1094/CC-82-0390>
- Bisconsin-Junior, A., Feitosa, B. F., Silva, F. L., & Mariutti, L. R. B. (2023). Mycotoxins on edible insects: Should we be worried? *Food and Chemical Toxicology*, 177. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2023.113845>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Bruttomesso, D., & Tessari, P. (2019). A High-Fiber Diet Decreases Postabsorptive Protein Turnover but Does Not Alter Insulin Sensitivity in Men with Type 1 Diabetes Mellitus. *The Journal of Nutrition*, 149(4), 596–604. <https://doi.org/10.1093/jn/nxy300>
- Calder, P. C. (2010). Omega-3 Fatty Acids and Inflammatory Processes. *Nutrients*, 2(3), 355–374. <https://doi.org/10.3390/nu2030355>
- Caparros Megido, R., Desmedt, S., Blecker, C., Béra, F., Haubruge, É., Alabi, T., & Francis, F. (2017). Microbiological Load of Edible Insects Found in Belgium. *Insects*, 8(1), 12. <https://doi.org/10.3390/insects8010012>
- Chapman, R. F., Simpson, S. J., & Douglas, A. E. (2013). *The insects: structure and function*. Cambridge University Press.
- Conti, C., Hall, A., Moallemi, E. A., Laila, A., Bene, C., Fanzo, J., Gibson, M. F., Gordon, L., Hicks, C., Kok, K., Rao, N., Laxminarayan, R., & Mason-D’Croz, D. (2025). Top-down vs bottom-up processes: A systematic review clarifying roles and patterns of interactions in food system transformation. *Global Food Security*, 44, 100833. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2025.100833>
- Costa, J. M., Murta, D. M., & de Magalhães, T. O. N. L. (2018). *Manual de Boas Práticas na Produção, Processamento e Utilização de Insetos na Alimentação Animal*.
- Cunha, N., Andrade, V., Ruivo, P., & Pinto, P. (2023). Effects of Insect Consumption on Human Health: A Systematic Review of Human Studies. In *Nutrients* (Vol. 15, Issue 14). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/nu15143076>

- Daglioglu, O., Taşan, M., & Tunçel, B. (2000). Determination of fatty acid composition and total trans fatty acids of Turkish biscuits by capillary gas-liquid chromatography. *European Food Research and Technology*, 211(1), 41-44. <https://doi.org/10.1007/s002170050586>
- Dai, J., Lov, J., Martin-Arrowsmith, P. W., Gritsas, A., & Churchward-Venne, T. A. (2022). The acute effects of insect vs. beef-derived protein on postprandial plasma aminoacidemia, appetite hormones, appetite sensations, and energy intake in healthy young men. *European Journal of Clinical Nutrition*, 76(11), 1548–1556. <https://doi.org/10.1038/s41430-022-01157-8>
- De Marchi, L., Wangorsch, A., & Zoccatelli, G. (2021). Allergens from Edible Insects: Cross-reactivity and Effects of Processing. *Current Allergy and Asthma Reports*, 21(5), 35. <https://doi.org/10.1007/s11882-021-01012-z>
- De Martinis, M., Sirufo, M. M., Suppa, M., & Ginaldi, L. (2020). New Perspectives in Food Allergy. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), 1474. <https://doi.org/10.3390/ijms21041474>
- Delgado Calvo-Flores, L., Garino, C., Moreno, F. J., & Broll, H. (2022). Insects in food and their relevance regarding allergenicity assessment. *EFSA Journal*, 20. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.e200909>
- Dong, X., Wang, J., & Raghavan, V. (2021). Impact of microwave processing on the secondary structure, in-vitro protein digestibility and allergenicity of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) proteins. *Food Chemistry*, 337, 127811. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127811>
- EFSA. (2015). Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. *EFSA Journal*, 13(10), 4257. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4257>
- Eilenberg, J., Vlak, J. M., Nielsen-LeRoux, C., Cappellozza, S., & Jensen, A. B. (2015). Diseases in insects produced for food and feed. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1(2), 87–102. <https://doi.org/10.3920/JIFF2014.0022>
- Fernandez-Cassi, X., Supeanu, A., Vaga, M., Jansson, A., Boqvist, S., & Vagsholm, I. (2019). The house cricket (*Acheta domestica*) as a novel food: A risk profile. In *Journal of Insects as Food and Feed* (Vol. 5, Issue 2, pp. 137–157). Wageningen Academic Publishers. <https://doi.org/10.3920/JIFF2018.0021>
- Galland, L. (2010). Diet and Inflammation. *Nutrition in Clinical Practice*, 25(6), 634–640. <https://doi.org/10.1177/0884533610385703>
- Ghaly, A. E., & Alkoaik, F. N. (2009). The Yellow Mealworm as a Novel Source of Protein. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 4(4), 319–331.
- Gonçalves, B. L., Coppa, C. F. S. C., Neeff, D. V. de, Corassin, C. H., & Oliveira, C. A. F. (2019). Mycotoxins in fruits and fruit-based products: occurrence and methods for decontamination. *Toxin Reviews*, 38(4), 263–272. <https://doi.org/10.1080/15569543.2018.1457056>
- Gouvea, I. F. S., Maciel, M. P. R., Carvalho, E. E. N., Cirillo, M. Â., Vilas Boas, B. M., & Nachtigall, A. M. (2021). Physical, chemical and sensory characteristics of cookies made with a mixture of flours. *Research, Society and Development*, 10(5), e39410515182. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i5.15182>
- Gravel, A., & Doyen, A. (2020). The use of edible insect proteins in food: Challenges and issues related to their functional properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 59,

102272. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102272>

- Gullan, P. J., & Cranston, P. S. (2014). *THE IMPORTANCE, DIVERSITY AND CONSERVATION OF INSECTS*. www.wiley.com/go/gullan/insects
- Handley, M. A., Hall, C., Sanford, E., Diaz, E., Gonzalez-Mendez, E., Drace, K., Wilson, R., Villalobos, M., & Croughan, M. (2007). Globalization, Binational Communities, and Imported Food Risks: Results of an Outbreak Investigation of Lead Poisoning in Monterey County, California. *American Journal of Public Health*, 97(5), 900–906. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2005.074138>
- Ho, L. H., & Abdul Latif, N. W. binti. (2016). Nutritional composition, physical properties, and sensory evaluation of cookies prepared from wheat flour and pitaya (*Hylocereus undatus*) peel flour blends. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1136369>
- House, J. (2016). Consumer acceptance of insect-based foods in the Netherlands: Academic and commercial implications. *Appetite*, 107, 47–58. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2016.07.023>
- Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA). (2019). *Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar: valores-guia*. Lisboa. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/5610>
- Jandacek, R. J. (2017). Linoleic Acid: A Nutritional Quandary. *Healthcare*, 5(2), 25. <https://doi.org/10.3390/healthcare5020025>
- Jeong, K. Y., Son, M., Lee, J. Y., Park, K. H., Lee, J.-H., & Park, J.-W. (2016). Allergenic Characterization of 27-kDa Glycoprotein, a Novel Heat Stable Allergen, from the Pupa of Silkworm, *Bombyx mori*. *Journal of Korean Medical Science*, 31(1), 18. <https://doi.org/10.3346/jkms.2016.31.1.18>
- Klunder, H. C., Wolkers-Rooijackers, J., Korpela, J. M., & Nout, M. J. R. (2012). Microbiological aspects of processing and storage of edible insects. *Food Control*, 26(2), 628–631. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.02.013>
- Köhler, R., Kariuki, L., Lambert, C., & Biesalski, H. K. (2019). Protein, amino acid and mineral composition of some edible insects from Thailand. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 22(1), 372–378. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2019.02.002>
- Lamberti, C., Nebbia, S., Cirrincione, S., Brussino, L., Giorgis, V., Romito, A., Marchese, C., Manfredi, M., Marengo, E., Giuffrida, M. G., Rolla, G., & Cavallarin, L. (2021). Thermal processing of insect allergens and IgE cross-recognition in Italian patients allergic to shrimp, house dust mite and mealworm. *Food Research International*, 148, 110567. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110567>
- Lebeer, S., Claes, I., Tytgat, H. L. P., Verhoeven, T. L. A., Marien, E., von Ossowski, I., Reunanen, J., Palva, A., de Vos, W. M., De Keersmaecker, S. C. J., & Vanderleyden, J. (2012). Functional Analysis of *Lactobacillus rhamnosus* GG Pili in Relation to Adhesion and Immunomodulatory Interactions with Intestinal Epithelial Cells. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(1), 185–193. <https://doi.org/10.1128/AEM.06192-11>
- Leidy, H. J., Armstrong, C. L. H., Tang, M., Mattes, R. D., & Campbell, W. W. (2010). The Influence of Higher Protein Intake and Greater Eating Frequency on Appetite Control in Overweight and Obese Men. *Obesity*, 18(9), 1725–1732. <https://doi.org/10.1038/oby.2010.45>
- Li, J., Guasch-Ferré, M., Li, Y., & Hu, F. B. (2020). Dietary intake and biomarkers of linoleic acid and

- mortality: systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 112(1), 150–167. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqz349>
- Li, M., Mao, C., Li, X., Jiang, L., Zhang, W., Li, M., Liu, H., Fang, Y., Liu, S., Yang, G., & Hou, X. (2023). Edible Insects: A New Sustainable Nutritional Resource Worth Promoting. *Foods*, 12(22), 4073. <https://doi.org/10.3390/foods12224073>
- Liang, Z., Zhu, Y., Leonard, W., & Fang, Z. (2024). Recent advances in edible insect processing technologies. *Food Research International*, 182, 114137. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114137>
- Liceaga, A. M., Aguilar-Toalá, J. E., Vallejo-Cordoba, B., González-Córdova, A. F., & Hernández-Mendoza, A. (2022). Insects as an Alternative Protein Source. *Annual Review of Food Science and Technology*, 13, 19–34. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-052720-112443>
- Liew, W.-P.-P., & Mohd-Redzwan, S. (2018). Mycotoxin: Its Impact on Gut Health and Microbiota. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00060>
- Lima, A., Câmara, G., Oliveira, T., Alencar, W., Vasconcelos, S., Soares, T., Soares, T., Cavalcanti, M. (2019). Caracterização Físico-Química e Microbiológica de Biscoitos Confeccionados com Farinha de Resíduos de Frutas. *Research, Society and Development*, 8(11), 01-18. <https://doi.org/10.33448/rsd-v8i11.1452>
- Livsmedelsverket. (2011). Commercial biscuits (Sweden) [Report 27/2011]. Livsmedelsverket – National Food Agency. <https://www.livsmedelsverket.se>
- Ma, Z., Mondor, M., Goycoolea Valencia, F., & Hernández-Álvarez, A. J. (2023). Current state of insect proteins: extraction technologies, bioactive peptides and allergenicity of edible insect proteins. *Food & Function*, 14(18), 8129–8156. <https://doi.org/10.1039/D3FO02865H>
- Mason, J. B., Black, R., Booth, S. L., Brentano, A., Broadbent, B., Connolly, P., Finley, J., et al. (2018). Fostering Strategies to Expand the Consumption of Edible Insects: The Value of a Tripartite Coalition between Academia, Industry, and Government. *Current Developments in Nutrition*, 2(8), nzy056. <https://doi.org/10.1093/cdn/nzy056>
- Morales-Ramos, J. A., Rojas, M. G., & Dossey, A. T. (2018). Age-dependent food utilisation of *Acheta domesticus* (Orthoptera: Gryllidae) in small groups at two temperatures. *Journal of Insects as Food and Feed*, 4(1), 51–60. <https://doi.org/10.3920/JIFF2017.0062>
- Morell, P., & Fiszman, S. (2017). Revisiting the role of protein-induced satiation and satiety. *Food Hydrocolloids*, 68, 199–210. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.003>
- Mwangi, M. N., Oonincx, D. G., Hummel, M., Utami, D. A., Gunawan, L., Veenenbos, M., Zeder, C., Cercamondi, C. I., Zimmermann, M. B., van Loon, J. J., Dicke, M., & Melse-Boonstra, A. (2022). Absorption of iron from edible house crickets: a randomized crossover stable-isotope study in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 116(4), 1146–1156. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqac223>
- Nanyen, D., Dooshima, I. B., Julius, A., & Benbella, I. (2016). Nutritional Composition, Physical and Sensory Properties of Cookies from Wheat, Acha and Mung Bean Composite Flours. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 5(6), 401-406. <https://doi.org/10.11648/j.ijnfs.20160506.15>
- Ndife, J., Kida, F., & Fagbemi, S. (2014). Production and Quality Assessment of Enriched Cookies

from Whole Wheat and Full Fat Soya. *European Journal of Food Science and Technology*, 2(1), 19-28

- Nguyen, C. M., Nguyen, K. D., Tran, T. N. T., Trang, T. H., Ton, N. M. N., Le, V. V. M., & Tran, T. T. T. (2025). Low-glycemic index cookies supplemented with *Cordyceps militaris* substrate: Nutritional values, physicochemical properties, antioxidant activity, bioactive constituents, and bioaccessibility. *Food Chemistry: X*, 27, 102494. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2025.102494>
- Nikravech, M., Rumpold, B., Costa, A., Zanolli, R., & Langen, N. (2022). Consumer acceptance of insect-based food and feed products. https://www.researchgate.net/publication/384925794_Consumer_acceptance_of_insect-based_food_and_feed_products
- Olagunju, A. I., & Ifesan, B. O. T. (2013). Nutritional Composition and Acceptability of Cookies Made from Wheat Flour and Germinated Sesame (*Sesamum indicum*) Flour Blends. *British Journal of Applied Science & Technology*, 3(4), 702-713. <https://doi.org/10.9734/BJAST/2013/3547>
- Palumbo, R., Crisci, A., Venâncio, A., Cortiñas Abrahantes, J., Dorne, J.-L., Battilani, P., & Toscano, P. (2020). Occurrence and Co-Occurrence of Mycotoxins in Cereal-Based Feed and Food. *Microorganisms*, 8(1), 74. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010074>
- Pankaj, S. K., Shi, H., & Keener, K. M. (2018). A review of novel physical and chemical decontamination technologies for aflatoxin in food. *Trends in Food Science & Technology*, 71, 73-83. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.007>
- Phiriyangkul, P., Srinroch, C., Srisomsap, C., Chokchaichamnankit, D., & Punyarit, P. (2015). Effect of Food Thermal Processing on Allergenicity Proteins in Bombay Locust (*Patanga succincta*). *ETP International Journal of Food Engineering*. <https://doi.org/10.18178/ijfe.1.1.23-28>
- Plano de Açaõ SPIN. (2023).
- Poma, G., Cuykx, M., Amato, E., Calaprice, C., Focant, J. F., & Covaci, A. (2017). Evaluation of hazardous chemicals in edible insects and insect-based food intended for human consumption. *Food and Chemical Toxicology*, 100, 70-79. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.12.006>
- Pravst, I. (2014). Oleic acid. Production, uses and potential health effects. In *Oleic acid and its potential health effects* (pp. 35-54).
- Prior, R. L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E., McEwen, J., O'Brien, C., Lischner, N., Ehlenfeldt, M., Kalt, W., Krewer, G., & Mainland, C. M. (1998). Antioxidant Capacity As Influenced by Total Phenolic and Anthocyanin Content, Maturity, and Variety of *Vaccinium* Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(7), 2686-2693. <https://doi.org/10.1021/jf980145d>
- Quah, Y., Tong, S.-R., Bojarska, J., Giller, K., Tan, S.-A., Ziora, Z. M., Esatbeyoglu, T., & Chai, T.-T. (2023). Bioactive Peptide Discovery from Edible Insects for Potential Applications in Human Health and Agriculture. *Molecules*, 28(3), 1233. <https://doi.org/10.3390/molecules28031233>
- Quintieri, L., Nitride, C., De Angelis, E., Lamonaca, A., Pilolli, R., Russo, F., & Monaci, L. (2023). Alternative Protein Sources and Novel Foods: Benefits, Food Applications and Safety Issues. In *Nutrients* (Vol. 15, Issue 6). NLM (Medline). <https://doi.org/10.3390/nu15061509>
- Reese, G., Ayuso, R., & Lehrer, S. B. (1999). Tropomyosin: An Invertebrate Pan-Allergen. *International Archives of Allergy and Immunology*, 119(4), 247-258. <https://doi.org/10.1159/000024201>

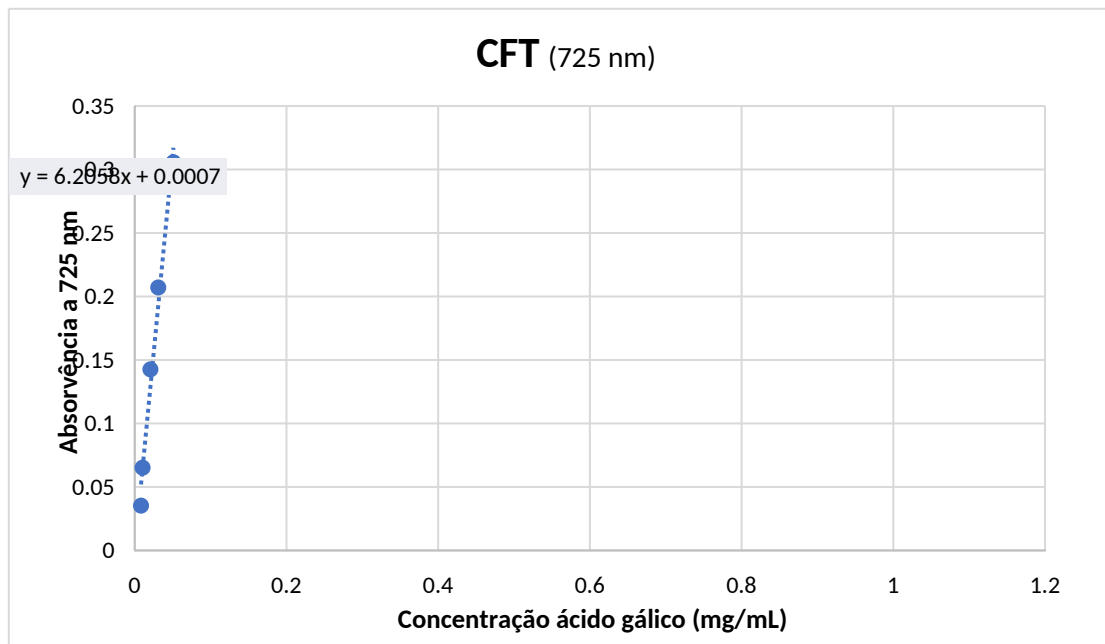
- Ribeiro, J. C. R. (2017). Estudo do potencial dos insetos comestíveis para aplicação na indústria alimentar.
- Rumpold, B. A., Fröhling, A., Reineke, K., Knorr, D., Boguslawski, S., Ehlbeck, J., & Schlüter, O. (2014). Comparison of volumetric and surface decontamination techniques for innovative processing of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *26*, 232–241. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.09.002>
- Rumpold, B. A., & Schlüter, O. K. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular Nutrition & Food Research*, *57*(5), 802–823. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201200735>
- Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Assadpour, E., & Jafari, S. M. (2025). Application of edible insects in bread enrichment; emerging techno-functional opportunities and potential challenges. *Future Foods*, *11*, 100638. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2025.100638>
- Sanni, T. A., Gbolagade, O. H., Ogunbusola, M. E., & Araoye, K. T. (2020). Quality Assessment of Cookies Made from Composite Flour of Wheat, Sorrel Seed Protein Isolate and Yellow Cassava Flours. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, *9*(6), 1073-1079. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2020.9.6.1073-1079>
- Santos, J., Ferro, M., Nascimento M., Guimarães V., Soares J., Jerônimo H., Viera V., Pontes E., & Martins A. (2023). Desenvolvimento e caracterização de biscoitos tipo cookie adicionados da farinha da casca de banana. *Inovações tecnológicas: Aproveitamento integral dos Alimentos*, 18-30. <https://doi.org/10.53934/00002023-2>
- Schlüter, O., Rumpold, B., Holzhauser, T., Roth, A., Vogel, R. F., Quasigroch, W., Vogel, S., Heinz, V., Jäger, H., Bandick, N., Kulling, S., Knorr, D., Steinberg, P., & Engel, K. (2017). Safety aspects of the production of foods and food ingredients from insects. *Molecular Nutrition & Food Research*, *61*(6). <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600520>
- Scientific Committee of the Federal Agency for the Safety of the food chain (SciCom). (2014). *Food safety aspects of insects intended for human consumption*. https://scicom.favv-afsca.be/scientificcommittee/opinions/2014/_documents/Advice14-2014_ENG_DOSSIER2014-04.pdf
- Stull, V. J., Finer, E., Bergmans, R. S., Febvre, H. P., Longhurst, C., Manter, D. K., Patz, J. A., & Weir, T. L. (2018). Impact of Edible Cricket Consumption on Gut Microbiota in Healthy Adults, a Double-blind, Randomized Crossover Trial. *Scientific Reports*, *8*(1), 10762. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29032-2>
- Suman, M. (2021). Last decade studies on mycotoxins' fate during food processing: an overview. *Current Opinion in Food Science*, *41*, 70–80. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.02.015>
- Sun-Waterhouse, D., Waterhouse, G. I. N., You, L., Zhang, J., Liu, Y., Ma, L., Gao, J., & Dong, Y. (2016). Transforming insect biomass into consumer wellness foods: A review. *Food Research International*, *89*, 129–151. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.001>
- Swain, T., & Hillis, W. E. (1959). The phenolic constituents of *Prunus domestica* —The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *10*(1), 63–68. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Hawkins Byrne, D. (2006).

- Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6–7), 669–675. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>
- Tu, J., Brennan, M. A., Wu, G., Bai, W., Cheng, P., Tian, B., & Brennan, C. S. (2021). Delivery of Phenolic Compounds, Peptides and β -Glucan to the Gastrointestinal Tract by Incorporating Dietary Fibre-Rich Mushrooms into Sorghum Biscuits. *Foods*, 10(8), 1812. <https://doi.org/10.3390/foods10081812>
- Turck, D., Bohn, T., Castenmiller, J., De Henauw, S., Hirsch-Ernst, K. I., Maciuk, A., Mangelsdorf, I., McArdle, H. J., Naska, A., Pentieva, K., Siani, A., Thies, F., Tsabouri, S., Vinceti, M., Aguilera-Gómez, M., Cubadda, F., Frenzel, T., Heinonen, M., Maradona, M. P., ... Knutsen, H. K. (2024). Safety of *Acheta domesticus* powder as a Novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. *EFSA Journal*, 22(7). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.8919>
- Turroni, F., Peano, C., Pass, D. A., Foroni, E., Severgnini, M., Claesson, M. J., Kerr, C., Hourihane, J., Murray, D., Fuligni, F., Gueimonde, M., Margolles, A., De Bellis, G., O'Toole, P. W., van Sinderen, D., Marchesi, J. R., & Ventura, M. (2012). Diversity of Bifidobacteria within the Infant Gut Microbiota. *PLoS ONE*, 7(5), e36957. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036957>
- van Broekhoven, S., Bastiaan-Net, S., de Jong, N. W., & Wichers, H. J. (2016). Influence of processing and in vitro digestion on the allergic cross-reactivity of three mealworm species. *Food Chemistry*, 196, 1075–1083. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.033>
- van Huis, A. (2013). Potential of Insects as Food and Feed in Assuring Food Security. *Annual Review of Entomology*, 58(1), 563–583. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153704>
- Vandeweyer, D., Crauwels, S., Lievens, B., & Van Campenhout, L. (2017). Microbial counts of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) and crickets (*Acheta domesticus* and *Gryllobates sigillatus*) from different rearing companies and different production batches. *International Journal of Food Microbiology*, 242, 13–18. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.11.007>
- Vangsoe, M., Thogersen, R., Bertram, H., Heckmann, L.-H., & Hansen, M. (2018). Ingestion of Insect Protein Isolate Enhances Blood Amino Acid Concentrations Similar to Soy Protein in A Human Trial. *Nutrients*, 10(10), 1357. <https://doi.org/10.3390/nu10101357>
- Veldkamp, T., Dong, L., Paul, A., & Govers, C. (2022). Bioactive properties of insect products for monogastric animals – a review. *Journal of Insects as Food and Feed*, 8(9), 1027–1040. <https://doi.org/10.3920/JIFF2021.0031>
- Vijver, M., Jager, T., Posthuma, L., & Peijnenburg, W. (2003). Metal uptake from soils and soil-sediment mixtures by larvae of *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54(3), 277–289. [https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(02\)00027-1](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00027-1)
- Walters, D. M., Mills, M. A., Fritz, K. M., & Raikow, D. F. (2010). Spider-Mediated Flux of PCBs from Contaminated Sediments to Terrestrial Ecosystems and Potential Risks to Arachnivorous Birds. *Environmental Science & Technology*, 44(8), 2849–2856. <https://doi.org/10.1021/es9023139>
- Zhuang, P., Zou, H., & Shu, W. (2009). Biotransfer of heavy metals along a soil-plant-insect-chicken food chain: Field study. *Journal of Environmental Sciences*, 21(6), 849–853.

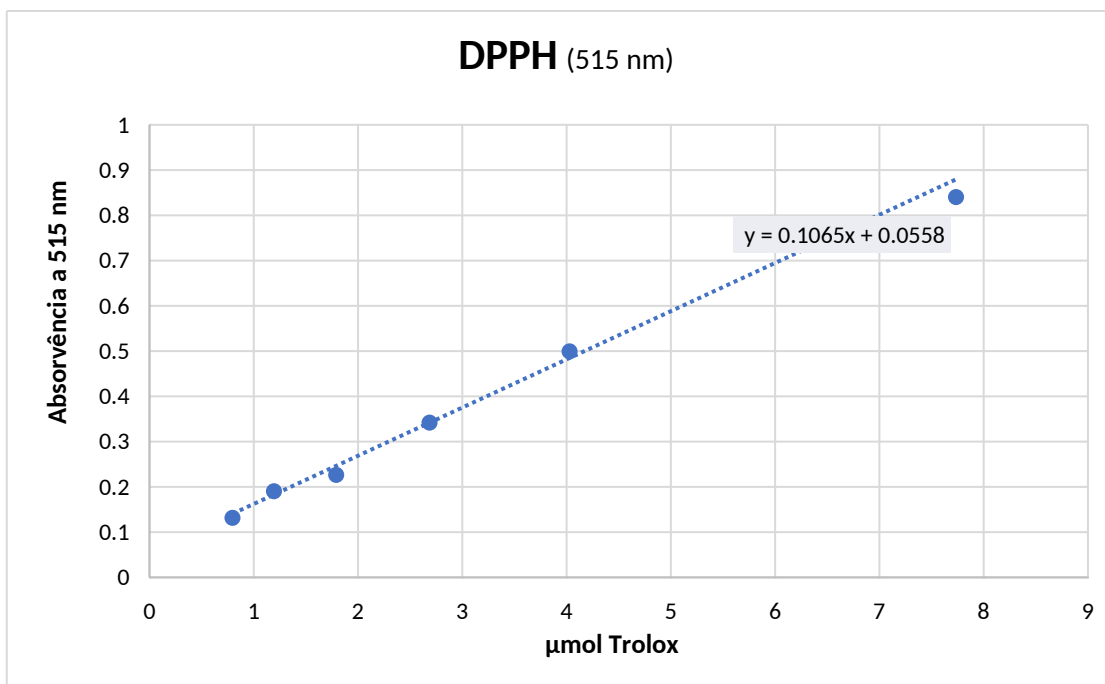
[https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(08\)62351-7](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(08)62351-7)

8. APÊNDICE

Anexo A. Reta de calibração obtida com soluções padrão de ácido gálico, numa gama de concentrações de 0,004 – 0,600 mg/mL, a um comprimento de onda de 725 nm. Esta curva foi utilizada para estimar conteúdo fenólico total das amostras.



Anexo B. Reta de calibração obtida com soluções padrão de Trolox, numa gama de concentrações de 82 a 10000 μmol , a um comprimento de onda de 515 nm. Esta curva foi utilizada para estimar a capacidade antioxidante (AOx) das amostras pelo método DPPH.



Anexo C. Retra de calibração obtida com soluções padrão de $\text{FeSO}_4(\text{H}_2\text{O})_7$, numa gama de concentrações de 10 a 1000 mmol, a um comprimento de onda de 593 nm. Esta curva foi utilizada para estimar a capacidade antioxidante (AOx) das amostras pelo método FRAP.

