PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS E EFEITOS DA DIGESTÃO SOBRE AS PROPRIEDADES BIOATIVAS DE EXTRATOS OBTIDOS A PARTIR DAS LARVAS DA MOSCA SOLDADO-NEGRA (*HERMETIA ILLUCENS*) VIA PROCESSOS BIOTECNOLÓGICOS

Palavras-Chave: proteína de insetos, compostos fenólicos, enzimas, digestibilidade.

Autores(as):

Felipe Grisotto Mendes, FEA – UNICAMP, Yuri Matheus Silva Amaral, FEA – UNICAMP,

Prof. Dr. Ruann Janser Soares de Castro (orientador), FEA – UNICAMP

INTRODUÇÃO:

Projeções indicam que até 2050 a população mundial alcance 9,7 bilhões, fator este alarmante considerando que cerca de 30% (2,33 bilhões) da população global está em situação de insegurança alimentar e mais de 700 milhões de pessoas passam fome, o que representa quase 10% da sociedade (ONU, 2024; FAO et al., 2024). Frente à problemática apresentada, a entomofagia (consumo de insetos) se destaca como uma alternativa para garantir a segurança alimentar global devido aos seguintes fatores especialmente pela elevada concentração de proteínas e lipídeos em insetos e ao baixo impacto ambiental da sua produção quando comparada à práticas como a pecuária (ANYASI et al., 2025).

Neste contexto, a larva da mosca soldado-negra (*Hermetia illucens*) se destaca por ser um inseto comestível com alta eficiência produtiva e capacidade de converter compostos orgânicos de baixo valor agregado, como resíduos alimentares, em biomassa rica em proteínas (~50% em base seca) e lipídeos (~30% em base seca) (MATSAKIDOU et al., 2024). Além do elevado valor nutricional, os insetos também têm sido apontados como fonte de compostos benéficos à saúde humana, como peptídeos bioativos, ácidos graxos poli-insaturados, quitina (prebiótico), vitaminas e minerais, e mais recentemente, compostos fenólicos (AMARAL e DE CASTRO, 2025).

A presença dos fenólicos está relacionada com a capacidade de algumas espécies de inseto de bioacumular tais compostos da dieta. No entanto, geralmente os compostos fenólicos estão complexados com proteínas e com a quitina presente no exoesqueleto dos insetos reduzindo sua biodisponibilidade e, consequentemente, os benefícios do consumo (RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ et al., 2025). Neste contexto, procedimentos como a hidrólise enzimática e a fermentação podem incidir na melhoria da digestibilidade do material, aumentando a bioacessibilidade dos componentes de interesse.

METODOLOGIA:

A farinha de larvas da mosca soldado-negra (*Hermetia illucens* – BSFL) foi submetida a diferentes tratamentos: 1) extração com água e etanol, a partir da dispersão de 1 g de farinha integral em 10 mL de solvente, seguido de agitação (150 rpm/1h) e filtração; 2) hidrólise enzimática com mistura de proteases comerciais (2/3 Flavourzyme, 1/6 Alcalase e 1/6 Neutrase - 100 U/mL), por 2h a 50°C e pH 7,0, seguido de centrifugação e

liofilização do sobrenadante e 3) fermentação semissólida com *Aspergillus tubingensis* (5,05*10^6 esporos/g, 30°C e 45% de umidade por 72h), com extrato preparado através da dispersão do material fermentado em água e filtração em gaze. Todos os processos foram otimizados conforme estudos prévios. Os extratos obtidos foram estudados quanto à composição de fenólicos totais (PEREIRA, ARRUDA e PASTORE, 2018), flavonoides e taninos totais (ZHISHEN et al., 1999; BROADHURST e JONES, 1978)), além da identificação e quantificação de fenólicos por HPLC (DUTRA et al., 2017). Além disso, os efeitos da digestão in vitro (INFOGEST) sobre as propriedades bioativas da farinha integral e hidrolisada de BSFL também foram estudados. Como parâmetros de resposta, foram avaliados o grau de hidrólise pelo método TNBS (SOUSA, BORGES e PINTADO, 2020), atividade antioxidante (métodos ABTS, DPPH e FRAP) (RASERA et al., 2019), atividade anti-hipertensiva pela inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA) (DE MATOS, 2022) e atividade antidiabética, através da inibição de α-amilase e α-glicosidase (DRA et al., 2019).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os resultados da quantificação de fenólicos totais, flavonoides e taninos totais, além da identificação e quantificação por HPLC do perfil de compostos fenólicos de extratos obtidos de diferentes tratamentos na farinha de larvas da mosca soldado-negra estão dispostos na Tabela 1.

De acordo com o apresentado, a fermentação foi o método que resultou na liberação da maior concentração de fenólicos totais, atingindo até 1 mg/mL. Porém, a amostra fermentada possui um pequeno percentual de farelo de trigo (12,5%) necessário para o crescimento do micro-organismo, o que pode ter resultado no aumento de compostos fenólicos no extrato. Em contraponto, a extração convencional com água resultou na quantificação de até 0,54 mg/mL de compostos fenólicos totais, sendo superior à extração com etanol e à hidrólise enzimática.

Tabela 1. Quantificação dos compostos fenólicos extraídos de farinha de larvas da mosca soldado-negra por diferentes processos.

Tratamento	Fenólicos totais (mg/mL)	Flavonoides (mg/mL)	Taninos (mg/mL)	Ácido gálico (µg/g)	Catequina (µg/g)
Extração com etanol	0,36 ± 0,00	*Não detectado*	*Não detectado*	1314,18 ± 17,25	262,61 ± 10,43
Extração com água	0,54 ± 0,00			1958,78 ± 2,29	*Não detectado*
Hidrólise enzimática	0,44 ± 0,01			*Não detectado*	*Não detectado*
Fermentação	1,00 ± 0,02			2009,51 ± 294,79	34,87 ± 8,66

Todavia, não foi possível quantificar flavonoides e taninos em nenhuma amostra, possivelmente devido à ausência desses compostos na farinha ou em quantidades inferiores ao limite de detecção do método. Embora os resultados apontados na quantificação de compostos fenólicos totais tenham sido satisfatórios, a presença de proteínas na amostra pode atuar como um interferente do método, e portanto, extrapolar os valores obtidos. Desta forma, a análise minuciosa da identificação e quantificação real de compostos fenólicos por HPLC torna-se necessária.

Os resultados apresentados após a análise em HPLC evidenciaram a presença de compostos fenólicos, majoritariamente o ácido gálico e a catequina. Quando tratamos da presença de compostos fenólicos em insetos é importante notarmos que ela é altamente dependente do metabolismo do inseto, que pode ou não bioacumulá-los, mas também, é dependente da composição da ração (NINO et al., 2021). Isto é, a presença de apenas esses dois fenólicos, pode ser resultado da demanda metabólica do inseto, ou presença única deles na ração.

Ainda assim, o tipo de tratamento e ou extração resultou em perfis diferentes da obtenção desses fenólicos. A utilização de etanol como solvente de extração, por exemplo, resultou em maior recuperação de ácido gálico e catequina, enquanto a extração com água resultou em uma amostra somente com ácido gálico detectável; este é um comportamento esperado, uma vez que a catequina possui maior solubilidade em etanol (CUEVAS-VALENZUELA, 2014). Em relação aos processos biotecnológicos, a presença de compostos fenólicos na amostra hidrolisada não foi detectável, ficando abaixo do limite de quantificação do método HPLC. Já para a amostra fermentada, tanto o ácido gálico quanto a catequina foram detectados, embora seja importante considerar o possível incremento decorrente da adição de farelo de trigo. No entanto, é importante notar que comparativamente ao extrato obtido com água do material não fermentado, o incremento não é tão alto, evidenciando que a presença de ácido gálico e catequina da própria farinha de larvas representa uma fração importante do que foi quantificado.

Na segunda parte do trabalho, foi realizada a digestão *in vitro* das proteínas da farinha de larvas da mosca soldado-negra hidrolisadas e não hidrolisadas. O grau de hidrólise mensurado nas amostras digeridas e não digerida estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 2. Grau de hidrólise de diferentes amostras da farinha de larvas da mosca soldado-negra.

Amostra*	Grau de hidrólise (%)
NHC	$25,98 \pm 0,38^{d}$
NHD	$80,39 \pm 0,88^{b}$
HC	$58,98 \pm 3,23^{c}$
HD	$85,56 \pm 0,39^{a}$

*NHC – não hidrolisado controle; NHD – não hidrolisado digerido; HC – hidrolisado controle; HD – hidrolisado digerido.

Os resultados indicaram aumento significativo ($p < 0,05$) no grau de hidrólise das amostras digeridas, indicando elevada susceptibilidade das proteínas das larvas às enzimas digestivas. O maior grau de hidrólise foi obtido para o extrato hidrolisado digerido (HD), fator relacionado à hidrólise prévia das proteínas tornando o material mais suscetível à ação das enzimas digestivas. A hidrólise com as proteases comerciais é responsável pela quebra das ligações peptídicas, reduzindo as proteínas em peptídeos menores, o que pode facilitar a hidrólise posterior pelas proteases digestivas (SZOPA et al.,2024; SOUSA et al., 2020).

Além do grau de hidrólise, foram avaliadas as propriedades bioativas dos peptídeos liberados após a digestão das proteínas da farinha de larvas. As análises incluíram a atividade antioxidante, antidiabética (inibição das enzimas α-amilase e α-glicosidase) e anti-hipertensiva (inibição da ECA) das amostras digeridas e não digeridas (Tabela 3).

As propriedades antioxidantes das amostras por três métodos distintos (FRAP, ABTS e DPPH) mostraram que a amostra HC (hidrolisado controle) apresentou os maiores valores em todos os casos (55,84; 614,96 e 31,6 µmol TE/g, respectivamente), indicando que a hidrólise favoreceu a formação de peptídeos bioativos com capacidade de neutralização de radicais livres (MENG et al., 2025). Sabendo-se que a composição da larva da mosca soldado-negra é diretamente afetada por sua alimentação e por sua capacidade de bioacumulação, a presença de compostos com atividade antioxidante no substrato oferecido pode incorporar essa capacidade às farinhas obtidas a partir do inseto (OH et al., 2023). No entanto, observou-se uma redução significativa da atividade antioxidante na amostra hidrolisada após digestão (HD), possivelmente pela degradação dos peptídeos formados, devido à ação das proteases digestivas

Tabela 3. Propriedades antioxidantes, anti diabéticas (inibição das enzimas α-amilase e α-glicosidase) e e anti-hipertensiva (inibição da ECA) das proteínas de larvas da mosca soldado-negra digeridas e não digeridas.

Amostra (5 mg/mL)	Atividade antioxidante (µmol TE/g proteína)			Variação da atividade enzimática (%)		
	FRAP	ABTS	DPPH	ECA	α-amilase	α-glicosidase
NHC	30,16 ± 2,21[d]	491,06 ± 3,53[b]	23,88 ± 1,27[bc]	-34,24 ± 7,92[a]	-55,38 ± 1,07[a]	4,85 ± 1,42[a]
NHD	45,27 ± 1,43[b]	603,31 ± 6,31[a]	25,66 ± 1,52[b]	-49,63 ± 6,26[a]	-50,51 ± 0,70[b]	22,97 ± 2,05[b]
HC	55,84 ± 3,02[a]	614,96 ± 9,03[a]	31,60 ± 1,13[a]	-36,84 ± 14,65[a]	-52,39 ± 1,82[ab]	29,65 ± 2,27[c]
HD	38,17 ± 1,95[c]	442,41 ± 8,71[c]	21,67 ± 0,94[c]	-23,16 ± 9,29[a]	-33,05 ± 1,44[c]	19,90 ± 1,87[b]

*NHC – não hidrolisado controle; NHD – não hidrolisado digerido; HC – hidrolisado controle; HD – hidrolisado digerido.

A atividade antidiabética de compostos bioativos está diretamente associada à inibição das enzimas digestivas α-amilase e α-glicosidase, já que estas são responsáveis pela digestão de carboidratos e posterior liberação de glicose para absorção pelo intestino. A inibição é geralmente do tipo competitiva e ocorre quando moléculas de estrutura parecida com a dos substratos das enzimas ocupam seus sítios ativos, prevenindo com que a reação catalítica ocorra (JHA et al, 2025). De acordo com os resultados obtidos, todas as amostras (concentrações padronizadas de 5 mg/mL) inibiram a α-amilase, com destaque para NHC (-55,38 %) e HC (-52,39 %). Por outro lado, a digestão reduziu drasticamente o efeito na amostra HD (-33,05%), evidenciando uma possível sensibilização à digestão por parte dos compostos após a hidrólise. Nos ensaios com a enzima α-glicosidase, observou-se aumento da atividade em todas as amostras, sugerindo que os compostos presentes atuaram, possivelmente, como cofatores, substratos parciais ou efetores positivos da atividade desta enzima.

A atividade antihipertensiva das amostras foi avaliada pela capacidade de inibição da enzima conversora da angiotensina (ECA), que é responsável pela conversão de angiotensina I em angiotensina II, um vasoconstritor envolvido na regulação da pressão arterial (ACHARYA et al., 2024). Os resultados demonstraram capacidade de inibição da ECA por todas as amostras, com maior capacidade da amostra NHD (-49,63%), seguida por HC e NHC. A amostra HD apresentou menor inibição (-23,16%), reforçando que a digestão pode comprometer a estabilidade dos compostos bioativos.

CONCLUSÕES:

Os resultados obtidos confirmaram a presença de compostos fenólicos na farinha de larvas da mosca soldado negra, com destaque para o ácido gálico e a catequina e que a hidrólise enzimática e a fermentação não apresentaram efeitos tão significativos na liberação destes compostos da matriz integral. Por outro lado, a hidrólise enzimática mostrou-se uma importante aliada para agregação de funcionalidades, como as propriedades antioxidantes, antidiabéticas e anti-hipertensivas e em alguns caso, os peptídeos gerados a partir da hidrólise prévia das proteínas da larva da mosca soldado negra mantiveram-se estáveis ao longo do processo de digestão.

BIBLIOGRAFIA

ACHARYA, K. Ravi; GREGORY, Kyle S.; STURROCK, Edward D. Advances in the structural basis for angiotensin-1 converting enzyme (ACE) inhibitors. **Bioscience reports**, v. 44, n. 8, p. BSR20240130, 2024.

AMARAL, Y. M. S.; DE CASTRO, R. J. S. Transforming insects into a conventional food source using biotechnological processes. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 66, n. April, p. 103598, 2025.

ANYASI, Tonna Ashim; ACHARYA, Parag; UDENIGWE, Chibuike C. Edible insects as an alternative protein source: Nutritional composition and global consumption patterns. **Future Foods**, p. 100699, 2025.

BROADHURST, R. B.; JONES, W. T. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 29, n. 9, p. 788–794, 1978.

CUEVAS-VALENZUELA, José et al. Solubility of (+)-catechin in water and water-ethanol mixtures within the temperature range 277.6–331.2 K: Fundamental data to design polyphenol extraction processes. **Fluid Phase Equilibria**, v. 382, p. 279-285, 2014.

DE MATOS, F. M. et al. Production of black cricket protein hydrolysates with α-amylase, α-glucosidase and angiotensin I-converting enzyme inhibitory activities using a mixture of proteases. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 39, n. May 2021, 2022.

DRA, L. A. et al. Exploring Caralluma europaea (Guss.) N.E.Br. as a potential source of bioactive molecules: In vitro antioxidant and antidiabetic properties, and phenolic profile of crude extracts and fractions. **Industrial Crops and Products**, v. 139, n. June, p. 111527, 2019.

DUTRA, R. L. T. et al. Bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic compounds in frozen pulps of Brazilian exotic fruits exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 100, n. July, p. 650–657, 2017.

FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO. The State of Food Security and Nutrition in the World 2024 – **Financing to end hunger, food insecurity and malnutrition in all its forms**. Rome, FAO, 2024.

JHA, Ritesh et al. Dual α-amylase and α-glucosidase inhibitors: recent progress from natural and synthetic resources. **Bioorganic Chemistry**, p. 108762, 2025.

MATSAKIDOU, Anthia et al. Compositional, volatile, and structural features of *Hermetia illucens* (black soldier fly) flours: The effect of population and life stages. **Future Foods**, v. 9, p. 100320, 2024.

MENG, Leying et al. Structural characterization, HepG2 cell cytoprotective ability, and antioxidant mechanism of novel antioxidant peptides identified from black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.). **Food Chemistry**, v. 463, p. 141462, 2025.

NINO, M. C. et al. Insects as a source of phenolic compounds and potential health benefits. **Journal of Insects as Food and Feed**, v. 7, n. 7, p. 1077–1087, 2021.

OH J, H. KARADENIZ, F. YANG, J. LEE, H. CHOI, M. JEON, S. PARK, G, KIM, J. PARK, K. KONG, C. Antioxidant, anti-inglammatory, anti-adipogenesis activities and proximate composition of Hermetia illucens larvae reared on food waste enriched with different wastes. **JAST (Journal of Animal Science and Technology)**, 2023.

ONU. World population prospects 2024: online edition. **Department of Economic and Social Affairs, Population Division**, 2024.

PEREIRA, G. A.; ARRUDA, H. S.; PASTORE, G. M. Modification and validation of Folin-Ciocalteu assay for faster and safer analysis of total phenolic content in food samples. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 9, n. 1, p. 125, 2018.

RASERA, G. B. et al. Biologically active compounds from white and black mustard grains: An optimization study for recovery and identification of phenolic antioxidants. **Industrial Crops and Products**, v. 135, n. 3, p. 294–300, 2019.

RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, Esther et al. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae accumulate bioactive compounds that modulate antioxidant activity when reared with bioactive agrifood by-products. **Food Research International**, p. 117013, 2025.

SOUSA, P.; BORGES, S.; PINTADO, M. Enzymatic hydrolysis of insect: Alphitobius diaperinus towards the development of bioactive peptide hydrolysates. **Food and Function**, v. 11, n. 4, p. 3539–3548, 2020.

SOUSA, Raquel et al. Protein digestion of different protein sources using the INFOGEST static digestion model. **Food Research International**, v. 130, p. 108996, 2020.

SZOPA, Daniel et al. Evaluation of the feasibility of using inorganic and organic acids for the extraction of amino acids from high-protein material (mealworm larvae) by chemical hydrolysis. **Journal of Environmental Management**, v. 349, p. 119479, 2024.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, 1999.