



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

LA QUALITÀ NUTRIZIONALE DELLE PROTEINE DA INSETTI EDIBILI

THE NUTRITIONAL QUALITY OF PROTEINS FROM EDIBLE INSECTS

TIPO TESI: compilativa

Studente:
MICHELA MAZZOCCHI

Relatore:
PROF. NADIA RAFFAELLI

ANNO ACCADEMICO 2018-2019

Vorrei ringraziare la professoressa Nadia Raffaelli, relatrice di questa tesi, per la sua supervisione e per avermi guidata nella stesura del lavoro. Una dedica speciale va alla mia famiglia e a Paolo, che mi sono sempre vicini e mi supportano ogni giorno. In ultimo, ma non meno importante, dedico questa tesi a me stessa, per tutto l'impegno messo nel percorso di studi, frutto di passione e sacrificio costante.

INDICE

ELENCO DELLE TABELLE	4
ELENCO DELLE FIGURE	5
ACRONIMI E ABBREVIAZIONI	6
INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI	7
CAPITOLO 1 LE PROTEINE ALIMENTARI	9
1.1 Caratteristiche e funzioni	9
1.2 Qualità delle proteine alimentari	10
1.3 Fonti proteiche alimentari	12
CAPITOLO 2 IL POTENZIALE DEGLI INSETTI EDIBILI COME FONTE PROTEICA ALTERNATIVA	15
2.1 L'entomofagia	15
2.2 Il contenuto proteico degli insetti edibili	16
2.3 Determinazione del contenuto proteico attraverso il “metodo Kjeldahl”	19
CAPITOLO 3 LA QUALITÀ PROTEICA DEGLI INSETTI EDIBILI	22
3.1 Composizione amminoacidica	22
3.2 Digeribilità delle proteine e fattori antinutrizionali	26
3.3 Valutazione della qualità proteica degli insetti edibili attraverso il PDCAAS	30
3.4 Analisi della qualità proteica del pane arricchito di insetto	32
CONCLUSIONI	36
BIBLIOGRAFIA	38

ELENCO DELLE TABELLE

Tabella 3-1: contenuto medio di alcuni amminoacidi in <i>T. molitor</i> e nella carne di manzo (contenuto espresso in g/kg di sostanza secca)	25
Tabella 3-2: analisi della determinazione di fattori antinutrizionali (mg/100g) in due specie di insetti	29
Tabella 3-3: punteggi PDCAAS di alcune specie di insetti edibili	31

ELENCO DELLE FIGURE

Figura 1-1: punteggio PDCAAS di alcuni alimenti	13
Figura 2-1: contenuto proteico (media±SD) di vari insetti edibili suddivisi in base all'ordine	17
Figura 2-2: contenuto proteico in relazione allo stadio di sviluppo degli insetti	18
Figura 2-3: confronto del contenuto medio di proteine tra insetti, rettili, pesci e mammiferi	18
Figura 2-4: procedura per la determinazione del contenuto proteico digeribile	21
Figura 3-1: contenuto totale di amminoacidi essenziali (media±SD) in insetti edibili di diversi ordini	23
Figura 3-2: il contenuto degli amminoacidi essenziali (media±SD) triptofano a), lisina b) e leucina c) nei vari ordini di insetti	24
Figura 3-3: contenuto totale di EAA (mg/g di proteine) di specie di insetti edibili, confrontato con quello di fonti alimentari convenzionali	26
Figura 3-4: digeribilità proteica <i>in vitro</i> di specie di insetti edibili provenienti da Oaxaca, Messico	27
Figura 3-5: concentrazione di EAA nel sangue ($\mu\text{mol/L}$) dopo l'ingestione di isolati proteici di siero di latte, soia e insetto	28
Figura 3-6: composizione amminoacidica in % (AA/100 AA) della polvere di <i>A. domesticus</i> (CP), della farina di frumento (WF), del pane prodotto con la farina di frumento (WB) e del pane prodotto con farina di frumento addizionata del 10% di polvere di <i>A. domesticus</i> (CB ₁₀)	33
Figura 3-7: composizione amminoacidica (mg/100 mg di campione) della polvere di <i>T. molitor</i> (MP), della farina di frumento (WF), del pane prodotto con farina di frumento (WB) e del pane prodotto con farina addizionata con il 10% di polvere di <i>T. molitor</i> (MB ₁₀)	34

ACRONIMI E ABBREVIAZIONI

<i>FAO</i>	Organizzazione delle Nazioni Unite per l'Alimentazione e l'Agricoltura
<i>OMS</i>	Organizzazione Mondiale della Sanità
<i>UNU</i>	Università delle Nazioni Unite
<i>EFSA</i>	Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare
<i>FDA</i>	Food and Drug Administration

INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI

Il consumo di sufficienti quantità di proteine alimentari ottenute attraverso la dieta è di vitale importanza per l'uomo, in quanto è necessario per il mantenimento di un buono stato di salute. Infatti l'assunzione di alimenti di alta qualità proteica come il latte, la carne e le uova è indispensabile per soddisfare i requisiti proteici minimi necessari all'uomo per la sua sopravvivenza.

In questa tesi verrà affrontata la problematica della scarsità delle risorse proteiche tradizionali in vista dell'aumento della popolazione mondiale stimato dalla FAO per i prossimi anni e la ricerca di una potenziale soluzione. L'ipotesi consiste nella possibilità di riuscire a sostituire gli alimenti tradizionali con gli insetti edibili, recentemente proposti dalla FAO come fonti proteiche alternative a quelle classiche (FAO, 2010). Infatti il tenore di proteine degli insetti commestibili va dal 7% al 48% (g di proteine/100 g di sostanza fresca) (van Huis A., 2013) che è paragonabile a quello della carne di manzo (19%-26%) (Churchward-Venne T.A., 2017). Questi dati sono molto interessanti considerando che l'elevato consumo di carne è ipotizzato essere una delle cause dell'aumento di malattie come il cancro nei consumatori occidentali (Belluco S., 2013). Oltre a rappresentare una fonte innovativa di cibo ricca di proteine, gli insetti potrebbero portare vantaggi ambientali, economici e agricoli rispetto all'allevamento tradizionale. Ad esempio la percentuale di peso commestibile (80% per i grilli) è superiore rispetto al bestiame convenzionale (55% per il pollo e il maiale, 40% per i bovini) (van Huis, 2013), e il contributo alle emissioni di gas serra ed ammoniacale è inferiore rispetto a quello degli allevamenti animali (Oonincx D.G., 2010).

L'obiettivo di questa tesi è quello di analizzare il contenuto e la qualità delle proteine delle principali specie di insetti edibili e confrontare questi parametri con quelli delle proteine da fonti alimentari tradizionali. In questo modo sarà possibile verificare se l'entomofagia¹ possa essere effettivamente una valida alternativa alle risorse alimentari convenzionali, in grado di soddisfare il fabbisogno proteico nell'uomo. Infine verrà anche

¹ consumo di insetti edibili

discusso se l' arricchimento di prodotti alimentari con derivati degli insetti possa aumentarne il valore nutrizionale.

Capitolo 1

LE PROTEINE ALIMENTARI

1.1 Caratteristiche e funzioni

Le proteine sono delle macromolecole biologiche che rappresentano alcuni dei composti maggiormente presenti all'interno delle cellule e dei tessuti degli esseri viventi. L'elevato contenuto proteico nei costituenti dell'organismo è dovuto al loro coinvolgimento in molteplici processi cellulari nei quali assolvono diverse e vitali funzioni tra cui quelle di deposito e di trasporto, di sostegno meccanico ed anche di traduzione ed espressione dell'informazione genica. Sulla base delle caratteristiche fisiche e funzionali la maggior parte delle molecole proteiche può essere suddivisa in tre classi principali: le proteine fibrose, le proteine globulari e le proteine di membrana.

Questo grande gruppo di composti organici si trova in quantità differenti all'interno degli alimenti e ne costituisce le proprietà fisiche ed organolettiche caratteristiche. Il consumo di sufficienti quantità di proteine alimentari attraverso la dieta è di fondamentale importanza per la crescita dell'uomo e per la sua salute generale. Oltre che svolgere un ruolo importante nel migliorare la qualità della dieta, le proteine alimentari promuovono l'invecchiamento sano, sostengono la gestione del peso corporeo e ne migliorano la composizione, regolano l'appetito e permettono il mantenimento e l'aumento della massa muscolare scheletrica (ad esempio in anziani ed atleti). Pertanto, il consumo di proteine gioca un ruolo importante nella gestione delle attuali problematiche di salute pubblica come l'obesità e la perdita muscolare legata all'età (per esempio la sarcopenia) (Phillips S.M., 2016).

L'enorme importanza dell'assunzione di proteine alimentari per la crescita, lo sviluppo ed il mantenimento della salute nell'uomo e negli esseri viventi è strettamente legata alla loro composizione chimica. Infatti, le proteine sono biopolimeri formati da singole unità chiamate amminoacidi, aventi una sequenza unica per ciascuna molecola proteica. Gli amminoacidi che costituiscono le proteine sono in totale venti per tutti gli esseri viventi. Ciascun amminoacido è formato da una struttura organica "fissa" costituita da un atomo di carbonio legato ad un gruppo carbossilico (-COOH), un gruppo amminico (-NH₂), un atomo di

idrogeno (-H) ed una catena laterale (-R) diversa per ciascun amminoacido che ne determina specifiche caratteristiche fisico-chimiche.

Gli amminoacidi si classificano in due grandi gruppi: gli essenziali (EAA) ed i non essenziali (NEAA). Gli essenziali sono quegli amminoacidi che il corpo umano non è in grado di sintetizzare, per cui possono essere ricavati esclusivamente dalla dieta; ne fanno parte nove dei venti totali (leucina, isoleucina, lisina, istidina, metionina, fenilalanina, triptofano, treonina e valina). I restanti undici amminoacidi (alanina, arginina, asparagina, aspartato, cisteina, glutammato, glutammina, glicina, prolina, serina e tirosina) fanno parte dei non essenziali, così chiamati perché il nostro organismo riesce a sintetizzarli a partire da precursori semplici. La giusta assunzione di alimenti ricchi di proteine è fondamentale perché anche alcuni amminoacidi non essenziali possono divenire limitanti nell'organismo umano in speciali condizioni fisiologiche o patologiche; è il caso dei neonati prematuri: quando il fabbisogno metabolico non può essere soddisfatto, questi amminoacidi devono essere forniti in quantità adeguate con la dieta (Belluco S., 2013).

Riuscire a ricavare determinate quantità di questi monomeri dagli alimenti è di vitale importanza perché svolgono numerose funzioni all'interno del nostro corpo. Permettono infatti la sintesi di nuove proteine, tra cui gli enzimi e gli anticorpi (aventi ruolo di difesa immunitaria), oltre che la produzione di nutrienti quali gli acidi grassi ed il glucosio. Gli amminoacidi costituiscono anche delle biomolecole di fondamentale importanza per la regolazione del metabolismo come gli ormoni. Inoltre è dalla loro degradazione² che viene prodotta parte dell'energia necessaria per l'organismo.

1.2 Qualità delle proteine alimentari

Gli alimenti costituiscono le fonti proteiche di cui l'uomo ha bisogno per la sua sopravvivenza. Si parla infatti di "valore nutrizionale" degli alimenti per indicare la loro ricchezza in composti biologici essenziali per lo svolgimento delle funzioni vitali: fanno parte di questi composti i lipidi, i carboidrati, le fibre, le vitamine, i sali minerali ed anche le proteine. Prendendo in esame le proteine come unità che definiscono il valore biologico, per una qualsiasi fonte proteica alimentare la sua valenza nutrizionale dipenderà da due fattori: il

² attraverso il "catabolismo degli amminoacidi"

contenuto proteico e la qualità della proteina. Per permettere una maggiore comprensione dell'analisi del profilo proteico degli insetti e per valutarne la potenzialità come fonte proteica alternativa a quelle convenzionali, è necessario spiegare il significato del parametro della "qualità della proteina alimentare". La qualità della proteina alimentare è determinata dalla composizione in amminoacidi essenziali (EAA) e dalla digeribilità.

Per la corretta valutazione della qualità della proteina alimentare viene considerato sia il contenuto totale in EAA sia il rapporto tra EAA e NEAA: questi due valori indicano la capacità di una proteina di soddisfare il fabbisogno proteico. Tali valori sono stati stabiliti nei rapporti della OMS, della FAO e dell'UNU (WHO, 2007). “Secondo i criteri della FAO/OMS il contenuto di EAA deve raggiungere circa il 40% ed il rapporto EAA/NEAA deve essere uguale a 0,6 (FAO/OMS, 1990). I criteri dietetici della FAO/OMS/EFSA stabiliscono che ogni adulto deve consumare giornalmente 0,66 g di proteine/ kg di peso corporeo (EFSA, 2012)”. (Belluco S., 2013)

Per quanto riguarda invece la digeribilità proteica, questa è generalmente definita in termini di assorbimento degli amminoacidi attraverso l'intestino tenue (digestione dell'amminoacido ileale): infatti si riferisce alla disponibilità postprandiale degli aminoacidi derivanti dalla proteina (Churchward-Venne T.A., 2017).

Bisogna però considerare che la digeribilità di un qualsiasi nutriente è influenzata anche dalla presenza di fattori antinutrizionali all'interno di alcuni alimenti. Questi fattori possono essere sostanze “indigene”, cioè presenti negli alimenti perché derivanti dal metabolismo primario e secondario (ossalati, fitati, tannini ed inibitori delle proteasi), oppure possono derivare da processi di cottura o da trattamenti alcalini dei prodotti alimentari (prodotti della reazione di Maillard, forme ossidate di solfuri e formazione di legami covalenti tra proteine).

Secondo le raccomandazioni della FDA e seguendo il rapporto sulla qualità delle proteine della FAO/OMS del 1990, il metodo chimico più raccomandato per valutare la qualità di una proteina è il PDCAAS³. Il PDCAAS (Schaafsma G., 2000) è un indice standard che determina la qualità proteica sulla base sia della quantità relativa dell' EAA limitante nella proteina esaminata che della digeribilità della proteina basata sul contenuto di azoto fecale, espressa in relazione alla concentrazione dello stesso EAA limitante in una proteina di riferimento.

³ Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Score

$$\text{PDCAAS} = \frac{\text{mg di amminoacido essenziale limitante in 1 g di proteina esaminata}}{\text{mg dello stesso amminoacido in 1 g di proteina di riferimento}} \times \text{la vera digeribilità fecale (\%)} \times 100$$

Il punteggio massimo di PDCAAS che una proteina può raggiungere è di 1,0: questo valore indica che viene soddisfatto il 100% del fabbisogno di tutti gli EAA quando viene ingerita nel quantitativo di 0,66 g/kg di persona al giorno (Schaafsma G., 2000).

1.3 Fonti proteiche alimentari

Le fonti proteiche convenzionali sono tutti quei prodotti di origine sia animale che vegetale in cui le proteine sono presenti in una concentrazione elevata: rispetto agli altri alimenti in circolazione, questi sono definiti “ricchi di proteine”.

Notoriamente le fonti proteiche di origine animale sono considerate di alta qualità perché riescono a soddisfare totalmente la richiesta di EAA e sono facilmente digerite ed assorbite: ne fanno parte la carne (manzo, maiale, agnello e pollo), il latte ed i latticini, le uova ed il pesce. La maggior parte delle fonti proteiche vegetali (fagioli, cereali, mais, noci, piselli, patate, riso, semi, soia, verdure e grano) è invece di più bassa qualità perché alcuni di questi alimenti sono limitati nel contenuto di EAA; per esempio, i cereali hanno un basso contenuto di lisina, treonina e triptofano, mentre i legumi hanno un ridotto contenuto di cisteina e metionina.

Tra le proteine di origine vegetale le uniche che hanno un punteggio PDCAAS di 1.0 sono le proteine della soia, mentre tra le proteine animali raggiungono questo valore le proteine del latte, del siero del latte e delle uova. Le proteine della carne bovina presentano un valore leggermente inferiore.

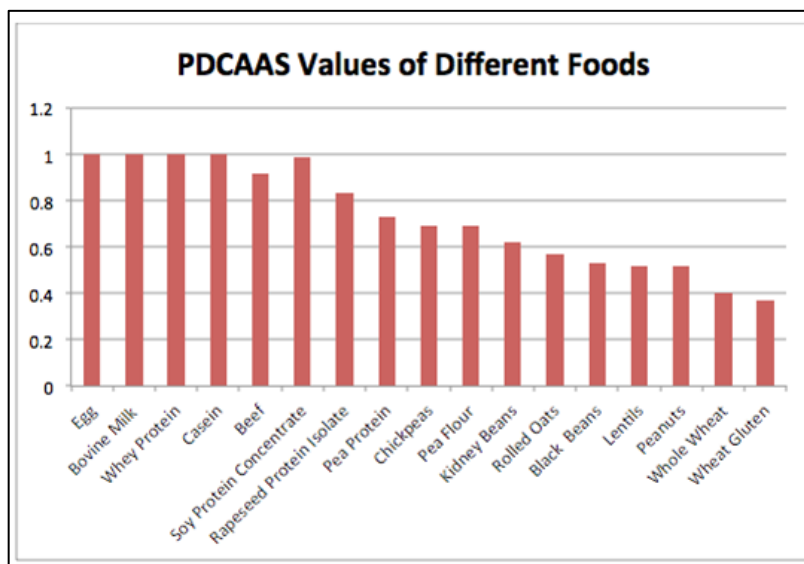


Figura 1-1: punteggio PDCAAS di alcuni alimenti (foodsafety.merieuxnutrisciences)

“Negli ultimi decenni, il consumo globale di proteine è aumentato significativamente. Tra il 1950 e il 2000, la popolazione umana globale è più che raddoppiata passando da 2,7 a 6 miliardi di persone, con un conseguente aumento della produzione della carne da 45 a 233 miliardi di kg all'anno” (van der Spiegel M., 2013).

Secondo la FAO, la popolazione globale è proiettata a raggiungere circa 9,6 miliardi entro il 2050 (van Huis A., 2013) con una produzione di carne stimata a 494 milioni di tonnellate per poter soddisfare le esigenze alimentari globali (Wu G., 2014). Di conseguenza anche la produzione mondiale di latte e uova è destinata allo stesso andamento insieme a quella di prodotti agricoli come mais, riso, grano e soia (si stima un aumento di circa il 60% -110% per le principali fonti proteiche vegetali) (Churchward-Venne T.A., 2017). Ne consegue che stando a questo andamento dell'aumento della popolazione globale, la produzione di quantità sufficienti di alimenti proteici tradizionali potrebbe non essere più attuabile, con un conseguente aggravarsi dell' inadeguatezza dell'apporto proteico e della malnutrizione nel mondo (Churchward-Venne T.A., 2017).

Per tutti questi motivi gli insetti edibili sono stati proposti come fonti proteiche alternative (van Huis A., 2013): visto il grande potenziale sotto l'aspetto del profilo proteico e quindi del valore nutrizionale, il loro consumo potrebbe aiutare a soddisfare le richieste

globali di proteine alimentari, contribuire alla sicurezza alimentare globale ed anche a combattere la fame nei paesi più poveri.

Capitolo 2

IL POTENZIALE DEGLI INSETTI EDIBILI COME FONTE PROTEICA ALTERNATIVA

2.1 L'entomofagia

L'entomofagia, cioè il consumo di insetti da parte dell'uomo, è una pratica diffusa in alcuni paesi del mondo e risale alla preistoria (Belluco S., 2013). Nonostante le origini antiche e la scarsa documentazione al riguardo, in alcune zone dell'Africa, Asia ed America circa 2 miliardi di persone consumano insetti come abitudine alimentare tradizionale.

Ad oggi, più di 2000 specie tra coleotteri, bruchi, api, vespe, formiche, cavallette e grilli vengono usate come cibo dall'uomo (Churchward-Venne T.A., 2017). In Madagascar, nel periodo tra l'esaurimento delle riserve di riso e la sua raccolta, la popolazione integra l'assunzione di proteine con i bruchi (van Huis A., 2013) a causa dei prezzi elevati del cibo (van Huis, 2016). Anche i mercati di Kinshasa, la capitale della Repubblica Democratica del Congo, vantano un'abbondante quantità di bruchi per tutto l'anno: si stima che ne vengano consumate circa 96 tonnellate all'anno come complemento nutrizionale dei cereali poveri di lisina (van Huis, 2016). Grilli, cavallette, scarafaggi, formiche ed il baco da seta sono alcuni degli insetti comunemente mangiati in Thailandia: a Bangkok, gli insetti possono essere acquistati quotidianamente nei grandi mercati come Talaad Thai, Khlong Toei e Si Mum Mueang (Köhler R., 2019).

Nel mondo occidentale l'ingestione di insetti è limitata al consumo di pochissimi prodotti da loro derivati come il miele e la pappa reale (Belluco S., 2013). Questo divario tra l'occidente e il resto del mondo potrebbe essere legato a diversità culturali e tradizionali, a problematiche di sicurezza riguardanti una fonte alimentare “nuova” nonché al pregiudizio da parte dei cittadini europei.

Negli ultimi anni in Europa sono state commercializzate alcune specie di insetti edibili come il verme della farina *Tenebrio molitor*, il verme della farina minore *Alphitobius diaperinus* e *Locusta migratoria* (van Huis, 2016). Questo dimostra una apertura

dell'occidente nei confronti dell'entomofagia e rende più concreto il possibile inserimento degli insetti nella nostra dieta.

2.2 Il contenuto proteico degli insetti edibili

L'ipotesi di poter utilizzare gli insetti come fonti alternative a quelle tradizionali è legata al loro contenuto proteico che è tale da poter essere paragonato a quello degli alimenti convenzionali consumati quotidianamente. Tra gli insetti edibili, le specie che si distinguono per il più alto contenuto proteico sono *Periplaneta americana* (65,60% - g di proteine/100 g di sostanza secca), ordine dei Blattodei, *Musca domestica* (63,95%), ordine dei Ditteri, *Atta mexicana* (66%), ordine degli Imenotteri e *Brunaea alcinoe* (74,35%), ordine dei Lepidotteri (Rumpold B. A., 2013).

La figura 2-1 mostra il contenuto proteico medio⁴ degli insetti edibili appartenenti a nove ordini. Questo varia dal 40% per l'ordine degli Isotteri al 64% per l'ordine dei Blattodei (Churchward-Venne T.A., 2017). Nonostante l'evidente diversità tra un ordine e l'altro, il contenuto proteico è complessivamente alto e nella maggior parte dei casi raggiunge lo stesso livello di alcuni alimenti proteici convenzionali. È da notare il fatto che il tenore proteico medio degli ordini dei Blattodei e degli Ortotteri è marcatamente più alto di quello delle fonti proteiche convenzionali, confermando la potenzialità degli insetti come validi sostituti degli alimenti ricchi di proteine.

⁴ g di proteine/100 g di sostanza secca

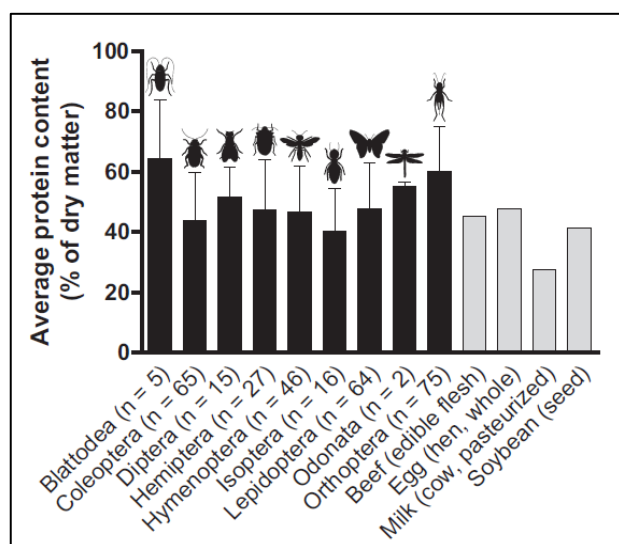


Figura 2-1: contenuto proteico (media±SD) di vari insetti edibili suddivisi in base all'ordine (Churchward-Venne T.A., 2017)

n = numero di esemplari analizzati

Il contenuto proteico può cambiare anche tra una specie e l'altra all'interno del medesimo ordine. Ad esempio nell'ordine dei Coleotteri il tenore proteico medio è del 41%, e va dal 71,10% per la specie *Rhantus atricolor* all'8,85% per la specie con il contenuto proteico più basso (Rumpold B. A., 2013); per riportare un ulteriore esempio, nell'ordine degli Ortoteri la specie *Melanoplus mexicanus* contiene circa il 77% di proteine (Ramos-ElorduyJ., 1997), mentre la specie *Brachytrupes spp* soltanto il 6% circa (Banjo A., 2006).

Inoltre il contenuto proteico dipende anche dallo stadio di sviluppo dell'insetto, dall'alimentazione, dal luogo e dalla stagione della raccolta. Perciò, l'effetto di queste variabili deve essere preso in considerazione nell'analisi globale della potenzialità proteica degli insetti edibili rispetto a tutte le altre fonti convenzionali (Nowak V., 2016).

In figura 2-2 sono riportati i contenuti proteici di insetti appartenenti a diversi ordini in vari stadi di sviluppo (uova, larva, pupa ed adulto). Sarà quindi necessario tenere in considerazione tutti questi fattori quando si confronta il contenuto proteico delle varie specie tra loro e con quello degli alimenti convenzionali. Per esempio, il contenuto proteico della specie *Locusta migratoria* allo stadio di adulto (13-28 g di proteine/100 g di sostanza fresca) è molto simile a quello della carne di manzo (19-26 g /100 g), mentre nello stadio larvale il contenuto è inferiore (14-18 g/100 g) (figura 2-3). Questo conferma l'importanza di

specificare lo stadio del ciclo vitale degli insetti durante il confronto dei vari tenori proteici tra le diverse fonti.

Insect order	Stage	Range (% protein)
Coleoptera	Adults and larvae	23 – 66
Lepidoptera	Pupae and larvae	14 – 68
Hemiptera	Adults and larvae	42 – 74
Homoptera	Adults, larvae and eggs	45 – 57
Hymenoptera	Adults, pupae, larvae and eggs	13 – 77
Odonata	Adults and naiad	46 – 65
Orthoptera	Adults and nymph	23 – 65

Source: Xiaoming et al., 2010.

Figura 2-2: contenuto proteico in relazione allo stadio di sviluppo degli insetti (van Huis A., 2013)

Animal group	Species and common name	Edible product	Protein content (g/100 g fresh weight)
Insects (raw)	Locusts and grasshoppers: <i>Locusta migratoria</i> , <i>Acridium melanorhodon</i> , <i>Ruspolia differens</i>	larva	14–18
	Locusts and grasshoppers: <i>Locusta migratoria</i> , <i>Acridium melanorhodon</i> , <i>Ruspolia differens</i>	Adult	13–28
	<i>Sphenarium purpurascens</i> (chapulines – Mexico)	Adult	35–48
	Silkworm (<i>Bombyx mori</i>)	Caterpillar	10–17
	Palmworm beetles: <i>Rhynchophorus palmarum</i> , <i>R. phoenicis</i> , <i>Callipogon barbatus</i>	Larva	7–36
	Yellow mealworm (<i>Tenebrio molitor</i>)	Larva	14–25
	Crickets	Adult	8–25
	Termites	Adult	13–28
Cattle		Beef (raw)	19–26
Reptiles (cooked)	Turtles: <i>Chelodina rugosa</i> , <i>Chelonia depressa</i>	Flesh	25–27
		Intestine	18
		Liver	11
		Heart	17–23
Fish (raw)	Finfish	Liver	12–27
		Tilapia	16–19
		Mackerel	16–28
	Crustaceans	Catfish	17–28
		Lobster	17–19
	Molluscs	Prawn (Malaysia)	16–19
		Shrimp	13–27
		Cuttlefish, squid	15–18

Source: FAO, 2012f.

Figura 2-3: confronto del contenuto medio di proteine tra insetti, rettili, pesci e mammiferi (van Huis A., 2013)

2.3 Determinazione del contenuto proteico attraverso il “metodo Kjeldahl”

Per determinare il contenuto proteico degli insetti viene utilizzato il “metodo Kjeldahl” così come suggerito dalla FAO (Jonas-Levi A., 2017). Questa procedura determina il contenuto di azoto totale (N) attraverso la conversione di tutti i composti che lo contengono in ammoniaca, che viene poi quantificata mediante una titolazione acido-base (Jonas-Levi A., 2017). Il valore del contenuto di azoto totale viene poi convertito nel valore della concentrazione proteica moltiplicandolo per un fattore di conversione che è specifico per ogni alimento, assumendo che tutto l’azoto misurato sia di origine proteica. Il fattore utilizzato per gli insetti è 6,25 (lo stesso della carne) ed è basato sull’assunzione che 100 g di proteine di insetto/carne contengano circa 16 g di azoto (Merrill A.L., 1973).

Tuttavia non tutto l’azoto rilevato da questo metodo proviene esclusivamente da proteine: questa osservazione è particolarmente significativa per gli insetti. Infatti l’esoscheletro degli insetti, ed in particolare la cuticola, è costituito principalmente da chitina, un polisaccaride formato da unità di glucosammina ed N-acetilglucosammina, entrambe contenenti azoto. Inoltre, non tutte le proteine degli insetti sembrano essere digeribili dall’uomo e dagli animali: durante lo stadio di sclerotizzazione, numerose e diverse proteine della cuticola ne determinano l’indurimento legandosi alla chitina (Andersen S.O., 1995). Queste proteine indigeribili non vengono distinte da quelle digeribili nella determinazione delle proteine totali. Quindi, il contenuto proteico degli insetti calcolato attraverso l’analisi Kjeldahl con il fattore di conversione 6,25 è sovrastimato, in quanto non c’è distinzione tra proteine facilmente digeribili, proteine indigeribili ed azoto non proteico (Jonas-Levi A., 2017).

Per consentire la corretta quantificazione del contenuto proteico si è cercato di determinare un fattore di conversione specifico per gli insetti (Kp) che tenga conto di tutti questi fattori. È molto importante considerare che la quantità di chitina e di proteine non digeribili presenti nella cuticola degli insetti è molto variabile: le ninfe e gli adulti di alcuni insetti (per esempio cavallette e grilli) hanno le cuticole dure, caratterizzate da un contenuto proteico elevato ed un basso contenuto di chitina, mentre alcune larve (ad esempio di mosche) hanno la cuticola morbida contenente circa il 50% di chitina e proteine (Chapman R.F., 2013). Di conseguenza, il contenuto proteico può variare enormemente e sarebbe necessario sviluppare specifici fattori di conversione per ogni specie di insetto e per ogni fase di sviluppo del ciclo vitale.

Renske H., et al. (2017) hanno condotto una ricerca per calcolare il Kp specifico per tre specie di insetti edibili allo stadio larvale, determinando i seguenti valori: per *Tenebrio molitor* il Kp è 4,75, per *Alphitobius diaperinus* il Kp è 4,86 e per *Hermetia illucens* il Kp è 4,67. Questi nuovi fattori di conversione forniscono una stima più accurata del contenuto proteico perché prendono in considerazione la presenza dell'azoto non proteico; è da notare come per tutte e tre le specie i Kp sono valori più bassi di quello utilizzato per la carne.

Infine, è stato proposto di quantificare il contenuto proteico degli insetti attraverso il calcolo del contenuto proteico digeribile, ottenuto sottraendo all'azoto totale il contenuto di azoto non digeribile (proveniente da chitina e dalle proteine legate alla matrice della cuticola) e moltiplicando il risultato per il fattore di conversione specifico (figura 2-4) (Jonas-Levi A., 2017).

$$\text{Contenuto proteico digeribile} = (\text{N totale} - \text{N non digeribile}) \times \text{fattore di conversione}$$

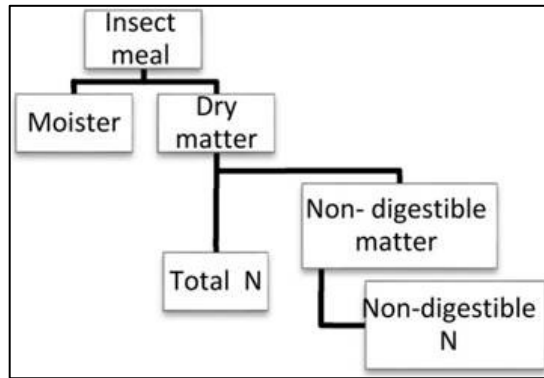


Figura 2-4: procedura per la determinazione del contenuto proteico digeribile (Jonas-Levi A., 2017)

In conclusione, questa procedura dovrebbe sostituire il metodo utilizzato fino ad ora per quantificare il contenuto proteico degli insetti, in quanto specifica e più corretta perché basata sulla determinazione del contenuto proteico digeribile e non esclusivamente dell'azoto totale.

Capitolo 3

LA QUALITÀ PROTEICA DEGLI INSETTI EDIBILI

3.1 Composizione amminoacidica

Come detto nei precedenti capitoli, secondo i criteri FAO/OMS/UNU relativi alle proteine alimentari il contenuto di EAA deve essere del 40% ed il rapporto EAA/NEAA deve essere uguale a 0,6. Quando una fonte alimentare raggiunge questi due valori è capace di soddisfare il fabbisogno proteico nell'alimentazione di un adulto.

Nella figura 3-1 viene confrontato il contenuto di EAA (espresso in mg AA⁵/g di proteine) di “n”⁶ individui appartenenti ad otto ordini con quello di fonti alimentari tradizionali, ricche di proteine. Considerando che il fabbisogno di questi amminoacidi nell'alimentazione umana è indicato nella figura 3-1 dalla linea orizzontale, si può osservare come in generale tutti gli ordini soddisfino tale fabbisogno. Inoltre, per tutti gli ordini ad eccezione di Blattoidei e Rincoti, le quantità di EAA sono paragonabili a quelle riscontrate nella carne di manzo, nelle uova, nel latte e nella soia.

⁵ AA = amminoacidi

⁶ n = numero di esemplari analizzati

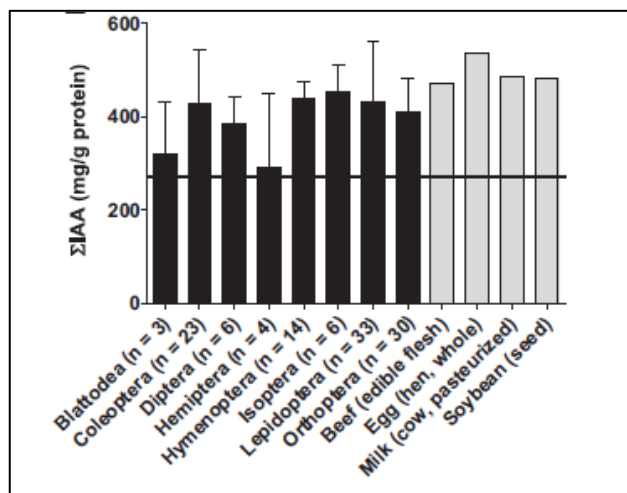


Figura 3-1: contenuto totale di aminoacidi essenziali (media \pm SD) in insetti edibili di diversi ordini (Churchward-Venne T.A., 2017)

Anche la composizione amminoacidica è un aspetto importante di cui tener conto per la qualità proteica. Nella figura 3-2 è mostrato il contenuto medio (mg di AA/g di proteine) di triptofano, lisina e leucina all'interno dei vari ordini. In tutti gli ordini, il triptofano (figura 3-2, a) soddisfa i fabbisogni nutrizionali nell'uomo; addirittura, negli ordini dei Ditteri e Lepidotteri, il contenuto di triptofano supera quello delle fonti proteiche tradizionali. In tutti gli ordini, ad eccezione dei Rincoti, la lisina soddisfa i requisiti dietetici della FAO (figura 3-2, b). E' riportato che la specie di termiti *Macrotermes bellicosus* dell'ordine degli Isotteri è particolarmente ricca di triptofano e lisina e, pertanto, rappresenta un'utile fonte di proteine per integrare diete a base di cereali notoriamente poveri in questi aminoacidi (Churchward-Venne T.A., 2017). La leucina occupa un posto particolare tra gli aminoacidi essenziali perchè è capace di stimolare la sintesi delle proteine muscolari e favorire l'accrescimento del muscolo (Phillips S.M., 2016). Come si osserva in figura (3-2, c) questo aminoacido è carente soltanto negli ordini dei Blattodei e dei Rincoti; in tutti gli altri invece soddisfa i fabbisogni nell'alimentazione umana.

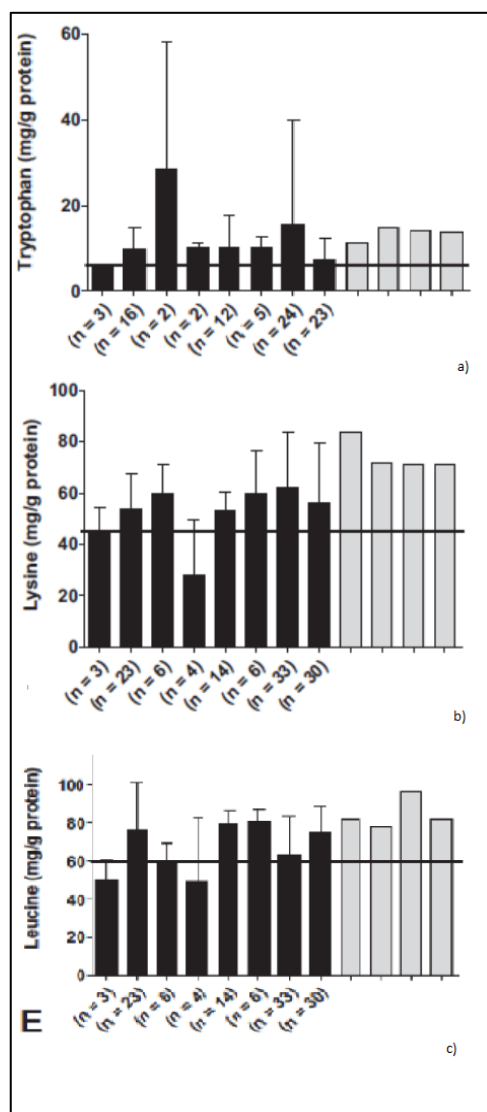


Figura 3-2: il contenuto degli aminoacidi essenziali (media \pm SD) triptofano a), lisina b) e leucina c) nei vari ordini di insetti (Churchward-Venne T.A., 2017)

Nella tabella 3-1 il contenuto dei tre aminoacidi nel *Tenebrio molitor*, che è tra le principali specie edibili dell'ordine dei Coleotteri, è confrontato con quello della carne di manzo. Si osserva che entrambe le fonti alimentari sono ricche in leucina; la carne di manzo ha un contenuto di lisina più elevato, ma non contiene triptofano che invece è presente in *T. molitor* (van Huis A., 2013).

Tabella 3-1: contenuto medio di alcuni amminoacidi in *T. molitor* e nella carne di manzo (contenuto espresso in g/kg di sostanza secca) (van Huis A., 2013)

EAA	<i>T. molitor</i>	Carne di manzo
Lisina	26,8	45
Triptofano	3,9	-
Leucina	52,2	42

Analizzando e confrontando quattro delle più note specie di insetti edibili provenienti dalla Thailandia sono emerse notevoli differenze in termini di composizione amminoacidica. Tra le specie *Patanga succincta* (locusta di Bombay), lo scarabeo *Holotrichia sp.*, il grillo *Acheta domesticus* ed il baco da seta del gelso *Bombyx mori*, solo quest'ultima soddisfa i requisiti minimi stabiliti dalla FAO, con un contenuto di EAA pari al 43,94% ed un rapporto EAA/NEAA di 0,78 (Köhler R., 2019).

In merito alle specie edibili commercializzate in Europa, sono state fatte delle analisi su *Acheta domesticus*, *Locusta migratoria* (entrambe dell'ordine degli Ortotteri) e *Tenebrio molitor* (ordine dei Coleotteri). Nell'ordine degli Ortotteri, il contenuto di EAA è del 47% ed il rapporto EAA/NEAA è pari a 0,9⁷; nell'ordine dei Coleotteri il 50% degli amminoacidi sono essenziali ed il rapporto EAA/NEAA è di 1.0 (Osimani A., 2016). Questi valori soddisfano ampiamente i criteri dietetici FAO/OMS e confermano che tutte queste specie analizzate sono buone fonti di amminoacidi essenziali.

Infine, come mostrato nella figura 3-3, i contenuti totali degli amminoacidi essenziali delle specie di insetti disponibili commercialmente sono confrontati tra loro e con quelli delle fonti proteiche tradizionali (Churchward-Venne T.A., 2017). Si osserva che in generale tutte le specie esaminate soddisfano il fabbisogno nutrizionale proteico. Tuttavia, è opportuno notare che tutte le specie presentano livelli di EAA notevolmente più bassi delle proteine della carne di manzo, delle uova, del latte e della soia.

⁷ media dei valori delle due specie

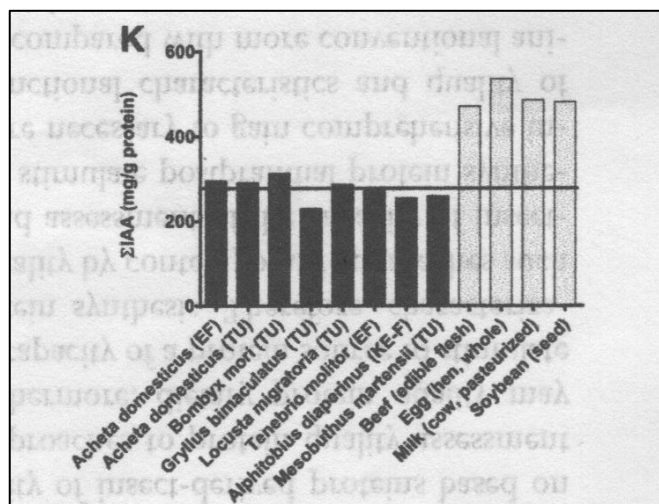


Figura 3-3: contenuto totale di EAA (mg AA/g di proteine) di specie di insetti edibili, confrontato con quello di fonti alimentari convenzionali (Churchward-Venne T.A., 2017)

Le sigle EF, TU ed KE-F indicano le ditte che producono e vendono le polveri/farine di insetto: EF, ENTOMO Farms; TU, Thailand Unique; KE-F, Kreca Ento-Food BV.

3.2 Digeribilità delle proteine e fattori antinutrizionali

Oltre alla composizione amminoacidica, anche la digeribilità proteica determina la qualità delle proteine. Quest'ultima tiene conto dell'assorbimento degli amminoacidi a livello dell'intestino tenue (digestione dell'amminoacido ileale) e si riferisce alla disponibilità postprandiale degli amminoacidi derivanti dalla proteina (Churchward-Venne T.A., 2017). Nel complesso, le informazioni sulla digeribilità proteica degli insetti sono piuttosto limitate.

Ramos-Elorduy J., et al. (1998) hanno determinato attraverso sistemi *in vitro* il grado di digeribilità delle proteine di diverse specie di insetti commestibili dello stato di Oaxaca (figura 3-4), ottenendo valori che variano da circa il 77% (g di proteine digerite/100 g di

proteine totali) per la specie *Vespula squamosa*, al 93,5% per la specie *Eucheira socialis*, fino al 98% per *Axayacatl* (Ramos-ElorduyJ., 1997).

SPECIES	PERCENTAGE OF TOTAL PROTEIN	PERCENTAGE OF DIGESTIBLE PROTEIN	PERCENTAGE OF DIGESTIBILITY
<i>Sphenarium histrio</i>	77.1	66.1	85.6
AXAYACATL *	58.0	56.9	98.0
AHUAHUTLE **	61.9	55.3	89.3
<i>Xyleutes redtembacheri</i>	42.7	39.5	92.4
<i>Eucheira socialis</i>	46.7	43.7	93.5
<i>Atta mexicana</i>	46.3	40.6	87.6
<i>Brachygastra mellifica</i>	52.8	45.0	85.2
<i>Vespula squamosa</i>	62.9	48.1	76.6
<i>Polybia parvulina</i>	61.4	53.0	86.4

* = Adults of aquatic bugs of the genus *Krizousacorixa*, *Corisella* and *Notonecta*
 ** = Eggs of aquatic bugs of the genus *Krizousacorixa*, *Corisella* and *Notonecta*

Figura 3-4: digeribilità proteica in vitro di specie di insetti edibili provenienti da Oaxaca, Messico (Ramos-ElorduyJ., 1997)

Uno dei fattori che può influenzare la digeribilità proteica degli insetti è la presenza di chitina: è stato infatti riportato che la sua rimozione dagli insetti interi essiccati aumenta la digeribilità delle proteine e quindi anche la qualità. Perciò, le proteine delle specie di insetti con una minore quantità di chitina hanno una digeribilità superiore (Churchward-Venne T.A., 2017).

Oibiokpa F. I., et al. (2017) hanno determinato *in vivo* (nei ratti) la digestione dell'amminoacido ileale in % (mg di azoto digeriti/100 mg di azoto totale) sia per quattro specie edibili provenienti dalla Nigeria che per la caseina: quest'ultima ha la maggiore digeribilità proteica con il 98,19%, mentre le specie *Gryllus assimilis* l'80,82%, *Cirina forda* l'81,71%, *Melanoplus foedus* l'84,98% e *Macrotermes nigeriensis* il 90,66%. Si tratta in tutti i casi, di insetti con una elevata digeribilità proteica e quindi con una buona qualità proteica.

La maggior parte delle ricerche eseguite sulla digeribilità proteica degli insetti sono state condotte *in vitro* o *in vivo* sugli animali: questo è un grande limite per la valutazione di queste fonti alimentari come valida alternativa all'alimentazione umana, poiché la digeribilità di una proteina è un fattore essenziale per stabilirne la qualità (Churchward-Venne T.A., 2017).

Vangsoe M.T., et al. (2018) hanno eseguito per la prima volta uno studio sull'uomo per determinare la disponibilità postprandiale degli amminoacidi derivanti da proteine di insetti. A tale scopo hanno analizzato il profilo degli amminoacidi nel sangue nei 120 minuti seguenti l'ingestione di isolati proteici (25 g di proteina) da *Tenebrio molitor*, dal siero di latte e dalla soia.

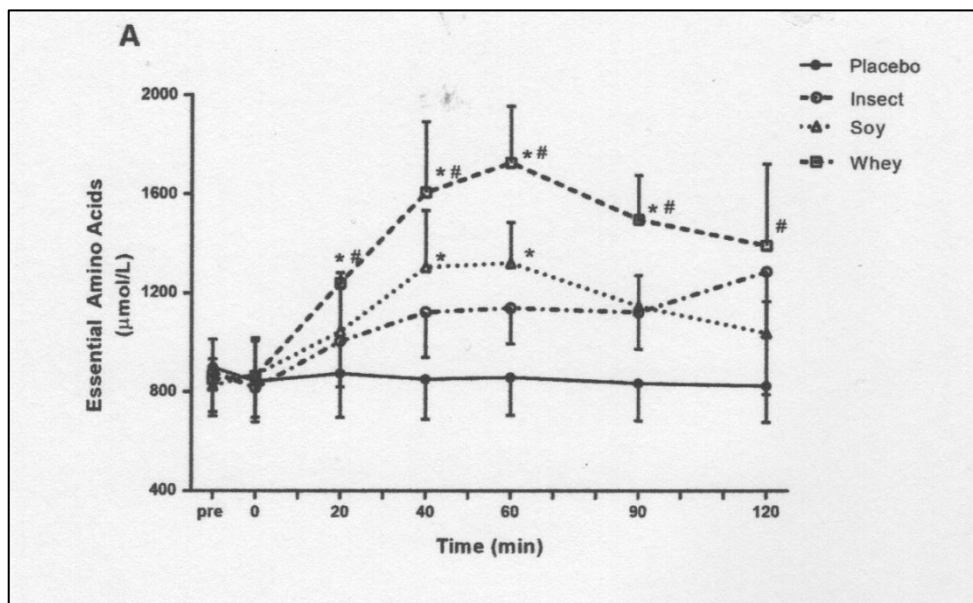


Figura 3-5: concentrazione di EAA nel sangue ($\mu\text{mol/L}$) dopo l'ingestione di isolati proteici di siero di latte, soia e insetto (Vangsoe M. T., 2018)

* Differenza significativa dalla proteina di insetto ($P < 0,05$)

Differenza significativa dalla proteina della soia ($P < 0,05$)

Tutti i valori sono espressi come medie \pm SD

Come mostrato nella figura 3-5, è stato riscontrato un aumento significativo della concentrazione ematica totale degli EAA nei 120 minuti seguenti l'ingestione di tutti gli isolati proteici. L'aumento più significativo si è osservato a seguito dell'ingestione delle proteine di siero, seguito da quello derivante dalle proteine di soia. Più basso è stato

l'aumento degli EAA circolanti derivanti dalle proteine di insetto. Tuttavia negli ultimi 30 minuti, questi continuano ad aumentare determinando a 120 minuti dall'ingestione una concentrazione ematica superiore a quella riscontrata con le proteine di soia. Questo suggerisce che le proteine di insetti abbiano una digestione più lenta rispetto alle proteine delle altre fonti (Vangsoe M. T., 2018). In conclusione, secondo il presente studio, l'ingestione della proteina di insetto determina un aumento di concentrazioni ematiche di EAA paragonabile a quello della soia, suggerendo che potrebbe essere una sua valida alternativa nella nutrizione umana per quanto riguarda la digeribilità (Vangsoe M. T., 2018). Tuttavia, vista la tendenza ad aumentare le concentrazioni di AA nel sangue nel lungo periodo dopo l'ingestione, la proteina di insetto può essere considerata come una fonte proteica a digeribilità lenta (Vangsoe M. T., 2018).

Infine nella valutazione della digeribilità di una proteina bisogna tener conto della presenza di fattori antinutrizionali che abbassano la digeribilità stessa. Principalmente queste sostanze sono "indigene", cioè derivanti dal metabolismo primario e secondario degli insetti. Adesina A. J., et al. (2012) hanno svolto una analisi sullo scarafaggio *Heteroligus meles* e sul punteruolo *Rhynchophorus phoenicis* determinandone il contenuto dei fattori antinutrizionali come mostrato nella tabella 3-2.

Tabella 3-2: analisi della determinazione di fattori antinutrizionali (mg/100 g di sostanza secca) in due specie di insetti edibili (Adesina A. J., 2012)

Parametri	<i>H. meles</i>	<i>R. phoenicis</i>
HCN (a. cianidrico)	2,651	2,531
Ossalati totali	29,00	19,32
Fitati	0,311	0,276
Tannini	0,421	0,481

Si osserva come nello scarafaggio e nel punteruolo ci siano livelli di ossalati più alti rispetto agli altri componenti antinutrizionali, ma si tratta di valori che comunque rientrano in quelli di tossicità accettabile per l'uomo (Adesina A. J., 2012). Sia i fitati che i tannini, in grado di ridurre le proteine disponibili e indurre la sindrome da deficit proteico (Ekop A. S., 2009), sono presenti in tracce, con valori inferiori ai livelli tossici nell'uomo (Adesina A. J., 2012). L' HCN é normalmente molto tossico per gli animali, ma la dose contenuta nelle due specie

analizzate é molto lontana da quella letale per l'uomo. Perciò il contenuto dei fattori antinutrizionali dei due insetti commestibili studiati risulta essere basso e di un livello tale da garantire la sicurezza del consumatore oltre che non alterare la digeribilità proteica (Adesina A. J., 2012).

3.3 Valutazione della qualità proteica degli insetti edibili attraverso il PDCAAS

Come detto nei precedenti capitoli, il metodo chimico più raccomandato per valutare la qualità proteica degli insetti edibili é il PDCAAS, un indice standard che la determina sulla base sia della quantità dell'EAA limitante che della digeribilità della proteina; entrambi questi parametri vengono poi rapportati al fabbisogno proteico minimo dello stesso EAA limitante secondo i criteri della FAO.

Yang Q., et al. (2014) hanno eseguito delle analisi per la determinazione della qualità proteica del coleottero *Holotrichia parallela* attraverso il calcolo del PDCAAS. Secondo i dati raccolti, questa specie edibile presenta un elevato contenuto proteico netto⁸ (66,4 g/100 g di sostanza secca). É anche una buona fonte di EAA, caratterizzata da alti livelli di lisina: con il contenuto di EAA del 47,39% ed il rapporto EAA/NEAA di 0,9 soddisfa in entrambi i casi i fabbisogni proteici nell'alimentazione dell'uomo. Inoltre, la sua digeribilità proteica calcolata in vitro é del 78,4% (g di proteine digerite/100 g di proteine totali) (Yang Q., 2014). Il valore PDCAAS è risultato essere di 0,89⁹ (Yang Q., 2014); questo punteggio sta a significare che viene soddisfatto l'89% del fabbisogno di tutti gli EAA quando la proteina viene ingerita nel quantitativo di 0,66 g/kg di persona al giorno. Si tratta di un alto valore di

⁸ senza la chitina

⁹ calcolato sul contenuto proteico netto

PDCAAS, a dimostrazione che questa specie può essere considerata una buona fonte di proteine alternativa a quelle convenzionali.

Oibiokpa F.I., et al. (2018) hanno determinato il PDCAAS di quattro specie edibili provenienti dalla Nigeria (tabella 3-3).

Tabella 3-3: punteggi PDCAAS di alcune specie di insetti edibili (Oibiokpa F.I., 2018)

Specie	PDCAAS
<i>Gryllus assimilis</i>	0,73
<i>Cirina forda</i>	0,42
<i>Melanoplus foedus</i>	0,46
<i>Macrotermes nigeriensis</i>	0,42

Questi punteggi PDCAAS sono simili o superiori a quelli di molte proteine di origine vegetale, come le proteine del grano (0,45), dell'avena (0,57) e del pisello (0,67) (Churchward-Venne T.A., 2017). Inoltre lo scarabeo *Holotrichia sp.* ed il baco da seta del gelso *Bombyx mori*, rispettivamente con il punteggio PDCAAS di 0,92 e di 1,00¹⁰ (Köhler R., 2019), raggiungono i valori di PDCAAS delle proteine di origine animale come quelle di latte e uova (1,0) e della carne bovina (0,92) (Churchward-Venne T.A., 2017) e figurano come le specie edibili di miglior qualità proteica tra tutte quelle considerate.

Ulteriori studi saranno sicuramente necessari per valutare la qualità proteica degli insetti edibili secondo sia la capacità di aumento della sintesi proteica nel muscolo che del mantenimento della massa muscolare, entrambi non rilevabili dal metodo PDCAAS (Churchward-Venne T.A., 2017).

¹⁰ media dei punteggi calcolati su campioni acquistati in luoghi diversi

3.4 Analisi della qualità proteica del pane arricchito di insetto

Vista la ricchezza in proteine e amminoacidi essenziali delle principali specie di insetti edibili, l'industria alimentare sta valutando l'idea di utilizzare i loro derivati come “ingredienti innovativi” con l'obiettivo di migliorare le caratteristiche nutrizionali di alcuni alimenti. In questo paragrafo verrà discusso se l'arricchimento con i derivati di insetti possa effettivamente migliorare il valore nutritivo degli alimenti in termini di qualità proteica.

A tale scopo è stato analizzato uno studio fatto sulla composizione amminoacidica del pane (Osimani A., 2018). Visto che sia il contenuto che la qualità proteica del prodotto finito dipendono dalle caratteristiche della farina utilizzata per l'impasto, si è pensato di aggiungere alla farina di frumento diverse quantità di polvere di grillo (*Acheta domesticus*).

Come mostrato dalla figura 3-6, la farina di frumento (WF) utilizzata per la produzione del pane ha un contenuto in EAA del 37,20% (AA/100 AA) caratterizzato da buoni livelli di treonina e leucina ma da un bassissimo contenuto di lisina (1,56%). Il pane prodotto con questa farina (WB) ha un contenuto in EAA molto simile a quello della farina stessa, con un valore del 36,42%. Questo livello di EAA non soddisfa il fabbisogno per l'uomo; inoltre la lisina, in conseguenza al suo basso contenuto, appare come l'amminoacido limitante.

Dall'analisi amminoacidica condotta sulla polvere di grillo (CP) è emerso un contenuto in EAA del 50,60% (AA/100 AA); in particolare, i livelli di treonina, tirosina, valina e metionina e soprattutto di lisina (7,0%) sono significativamente superiori a quelli misurati nella farina di frumento. Ne consegue che questo substrato ha una qualità proteica più elevata della farina. Il pane preparato con farina addizionata del 10% di polvere di *A. domesticus* (CB₁₀) presenta un contenuto di EAA del 44,60%, superiore ai requisiti FAO relativi alle proteine alimentari. In particolare, il livello degli EAA tirosina, valina, metionina e lisina aumenta significativamente rispetto al pane comune; perciò dai risultati ottenuti è possibile affermare che l'aggiunta di polvere di grillo all'impasto per la panificazione abbia effettivamente migliorato la qualità proteica del pane, con un contenuto in amminoacidi essenziali superiore rispetto a quello prodotto con la classica farina di frumento (Osimani A., 2018).

Amino acids	CP	WF	WB	CB ₁₀
<i>Essential amino acids (% of total amino acids)</i>				
Histidine	2.34 ± 0.7 ^a	3.84 ± 0.9 ^a	2.40 ± 1.3 ^a	2.24 ± 0.6 ^a
Threonine	9.82 ± 0.3 ^a	6.05 ± 1.2 ^b	7.27 ± 0.6 ^{ab}	7.86 ± 0.4 ^{ab}
Tyrosine	7.20 ± 0.4 ^a	2.05 ± 0.1 ^c	1.84 ± 0.7 ^c	4.81 ± 0.1 ^b
Valine + methionine	8.92 ± 0.1 ^a	6.75 ± 0.1 ^b	6.35 ± 0.1 ^b	8.64 ± 0.1 ^a
Phenylalanine	3.28 ± 0.3 ^b	4.72 ± 0.4 ^{ab}	5.08 ± 0.2 ^{ab}	4.27 ± 0.9 ^{ab}
Isoleucine	3.69 ± 0.8 ^a	4.11 ± 0.1 ^a	4.38 ± 0.6 ^a	4.26 ± 0.1 ^a
Leucine	8.34 ± 0.2 ^a	8.15 ± 0.1 ^a	7.87 ± 0.3 ^a	8.83 ± 0.9 ^a
Lysine	7.00 ± 0.6 ^a	1.56 ± 0.2 ^{cd}	1.23 ± 0.1 ^d	3.69 ± 0.5 ^{bc}
Total EAA	50.60	37.20	36.42	44.60
<i>Non essential amino acid (% of total amino acids)</i>				
Aspartic acid + asparagine	7.52 ± 0.7 ^a	3.90 ± 0.6 ^b	4.02 ± 1.4 ^b	6.82 ± 0.3 ^{ab}
Glutamic acid + glutamine	10.37 ± 0.5 ^c	34.05 ± 2.0 ^a	34.88 ± 1.8 ^a	20.15 ± 0.01 ^b
Serine	3.95 ± 0.5 ^a	4.56 ± 1.0 ^a	4.04 ± 1.1 ^a	3.89 ± 0.0 ^a
Glycine	3.58 ± 0.2 ^a	1.59 ± 0.1 ^c	1.97 ± 0.2 ^{bc}	2.36 ± 0.5 ^{bc}
Arginine	5.98 ± 0.6 ^a	3.84 ± 0.9 ^a	3.83 ± 1.0 ^a	4.43 ± 0.7 ^a
Alanine	10.73 ± 0.8 ^a	2.56 ± 0.6 ^c	2.98 ± 0.9 ^c	8.23 ± 0.9 ^{ab}
Proline	7.27 ± 1.5 ^c	12.30 ± 0.2 ^a	11.86 ± 0.0 ^a	9.52 ± 0.8 ^{abc}
Total NEAA	49.40	62.80	63.58	55.40

Figura 3-6: composizione amminoacidica in % (AA/100 AA) della polvere di *A. domesticus* (CP), della farina di frumento (WF), del pane prodotto con la farina di frumento (WB) e del pane prodotto con farina di frumento addizionata del 10% di polvere di *A. domesticus* (CB₁₀) (Osimani A., 2018)

I valori di ciascun AA sono riportati come medie ± SD; all'interno di ogni riga, le medie seguite da lettere diverse sono significativamente differenti (P < 0,05).

La stessa ricerca è stata condotta sul pane preparato con la farina arricchita di polvere del verme *Tenebrio molitor* (MP) (Roncolini A., 2019).

Come riportato in figura 3-7, il contenuto in EAA di questa polvere è superiore a quello della farina di frumento (WF), denotandola come il substrato di miglior qualità proteica tra i due. Come accaduto nello studio citato in precedenza, il pane prodotto con la sola farina di frumento (WB) presenta una composizione in EAA molto simile a quella della farina di partenza, con un tenore talmente basso da non riuscire a soddisfare il contenuto minimo del 40%.

Anche in questo caso, il pane ottenuto dall'aggiunta del 10% di polvere di insetto alla farina (MB₁₀) ha il miglior profilo proteico, dato da un contenuto maggiore (statisticamente significativo) in EAA ed in particolare di treonina, tirosina, metionina, fenilalanina, isoleucina, leucina e triptofano rispetto al pane comune. Ne consegue che l'aggiunta di *T. molitor* ha incrementato il contenuto di alcuni EAA¹¹, migliorando la qualità proteica del pane (Roncolini A., 2019).

Amino acids (mg/100 mg)	Samples			
	MP	WF	WB	MB ₁₀
<i>Essential</i>				
His	1.23 ± 0.19	0.23 ± 0.03 ^a	0.18 ± 0.02 ^a	0.20 ± 0.05 ^a
Thr	3.81 ± 0.45	0.67 ± 0.12 ^{bc}	0.60 ± 0.08 ^{bc}	0.82 ± 0.05 ^{ab}
Tyr	2.58 ± 0.35	0.25 ± 0.04 ^b	0.25 ± 0.01 ^b	0.40 ± 0.05 ^a
Val	0.43 ± 0.22	0.12 ± 0.01 ^a	0.12 ± 0.01 ^a	0.15 ± 0.04 ^a
Met	3.20 ± 0.66	0.51 ± 0.07 ^{bc}	0.49 ± 0.02 ^c	0.74 ± 0.04 ^a
Phe	1.43 ± 0.20	0.53 ± 0.07 ^b	0.47 ± 0.01 ^b	0.57 ± 0.07 ^{ab}
Iso	1.73 ± 0.25	0.35 ± 0.05 ^c	0.32 ± 0.01 ^c	0.46 ± 0.05 ^{ab}
Leu	2.99 ± 0.50	0.75 ± 0.08 ^c	0.68 ± 0.02 ^c	0.92 ± 0.08 ^{ab}
Lys	2.21 ± 0.22	0.20 ± 0.09 ^a	0.13 ± 0.03 ^a	0.21 ± 0.03 ^a
Trp	0.44 ± 0.00	0.21 ± 0.01 ^a	0.07 ± 0.03 ^c	0.14 ± 0.02 ^{ab}
Total EAA	20.05 ± 3.05	3.83 ± 0.56^{bc}	3.31 ± 0.12^c	4.61 ± 0.45^{ab}
<i>Non essential</i>				
Asp + Asn	3.12 ± 0.45	0.43 ± 0.05 ^{bcd}	0.40 ± 0.02 ^d	0.71 ± 0.07 ^a
Glu + Gln	4.22 ± 0.61	3.75 ± 0.42 ^{ab}	3.38 ± 0.06 ^b	3.68 ± 0.24 ^{ab}
Ser	1.79 ± 0.23	0.38 ± 0.05 ^b	0.39 ± 0.02 ^b	0.45 ± 0.04 ^{ab}
Gly	1.28 ± 0.30	0.18 ± 0.01 ^c	0.17 ± 0.01 ^c	0.24 ± 0.01 ^b
Arg	2.22 ± 0.36	0.37 ± 0.04 ^{bc}	0.33 ± 0.02 ^c	0.52 ± 0.02 ^a
Ala	3.09 ± 0.55	0.32 ± 0.04 ^{bc}	0.31 ± 0.02 ^{bc}	0.52 ± 0.06 ^a
Pro	3.50 ± 0.58	1.11 ± 0.02 ^{bc}	1.20 ± 0.16 ^{abc}	1.55 ± 0.27 ^{ab}
Total NEAA	19.21 ± 3.09	6.53 ± 0.63^{bc}	6.17 ± 0.24^c	7.66 ± 0.71^{ab}
Total AA	39.27 ± 6.13	10.37 ± 1.19^{bc}	9.48 ± 0.33^c	12.28 ± 1.16^{ab}

Figura 3-7: composizione amminoacidica (mg/100 mg di campione) della polvere di *T. molitor* (MP), della farina di frumento (WF), del pane prodotto con farina di frumento (WB) e del pane prodotto con farina addizionata con il 10% di polvere di *T. molitor* (MB₁₀) (Roncolini A., 2019)

I valori sono riportati come medie ± SD;

i valori nella stessa riga con lettere diverse (a,b,c,d) sono significativamente differenti (P < 0,05)

¹¹ che non soddisfa comunque i fabbisogni stabiliti dalla FAO

Questi studi dimostrano che, visto il miglioramento della qualità proteica dei pani arricchiti di polveri di insetti in termini di contenuto in EAA, l'industria alimentare potrebbe utilizzare i derivati di insetti edibili come materie prime per produrre prodotti di maggior valore nutrizionale rispetto a quelli ottenuti solo con ingredienti tradizionali come la farina di frumento.

CONCLUSIONI

Dai risultati riportati e discussi in questa tesi è stato possibile concludere che alcune specie di insetti edibili soddisfano i fabbisogni di proteine nell'alimentazione umana, secondo i criteri stabiliti dalla FAO, sia in termini di contenuto che di qualità proteica; ne consegue che le proteine di questi insetti sono comparabili alle proteine alimentari di elevato valore nutrizionale, sia animali che vegetali.

Tra gli insetti edibili con il maggior contenuto proteico spicca la specie *Melanoplus mexicanus* dell'ordine degli Ortotteri, all'interno del quale (insieme a quello dei Blattoidei) il tenore proteico medio è marcatamente più alto di quello delle fonti proteiche convenzionali.

In termini di composizione amminoacidica, tra le principali specie di insetti edibili analizzate, *Acheta domesticus*, *Locusta migratoria*, *Bombyx mori* e *Tenebrio molitor* dimostrano di soddisfare i requisiti nutrizionali, anche se hanno un contenuto totale di amminoacidi essenziali inferiore a quello della fonti proteiche convenzionali di alta qualità proteica. È però doveroso evidenziare che alcuni specifici amminoacidi essenziali sono presenti in alcune specie di insetti in contenuto superiore rispetto alle fonti proteiche tradizionali, in cui invece sono limitanti.

Molte specie edibili sono fonti di proteine ad elevata digeribilità, come determinato *in vitro* e *in vivo*. Tuttavia, l'unico studio effettuato sull'uomo dimostra che gli insetti sembrano essere fonti proteiche a digeribilità lenta, a differenza delle proteine delle fonti tradizionali di più facile digeribilità ed assorbimento.

Secondo il punteggio PDCAAS, il coleottero *Holotrichia parallela* è una fonte di alta qualità proteica perché se le sue proteine venissero ingerite in quantità di 0,66 g/kg di persona al giorno verrebbe soddisfatto circa il 90% del fabbisogno di proteine alimentari stabiliti dalla FAO. Tuttavia, la maggior parte delle specie edibili analizzate non raggiunge né supera i valori PDCAAS tipici del latte e delle uova che restano le fonti con il massimo punteggio PDCAAS.

Infine, dalle analisi svolte sul pane arricchito di polveri di *Acheta domesticus* e *Tenebrio molitor* è evidente l'aumento della sua qualità proteica, a dimostrazione che l'utilizzo di

ingredienti alternativi a base di insetti può migliorare le caratteristiche nutrizionali degli alimenti.

Dopo aver tratto queste conclusioni in merito alla reale potenzialità degli insetti come fonti proteiche alternative a quelle tradizionali, è opportuno fare alcune precisazioni. Occorre infatti considerare che il contenuto di proteine e la composizione amminoacidica è piuttosto variabile, dipendendo da molteplici fattori come la fase di sviluppo dell'insetto al momento dell'analisi, il luogo e la stagione della raccolta ed il tipo di dieta. Inoltre è consigliabile la sostituzione del metodo corrente per la determinazione del contenuto proteico con una nuova procedura che misuri il contenuto proteico digeribile. Infine, sarebbe opportuno condurre ulteriori studi in merito alla digeribilità proteica degli insetti direttamente sull'uomo. A questo scopo si potrebbe utilizzare un parametro più affidabile del PDCAAS, cioè il DIAAS, con cui la qualità proteica verrebbe determinata sulla base del fabbisogno di amminoacidi e della digeribilità ileale di ogni singolo EAA (Churchward-Venne T.A., 2017).

In conclusione, per far fronte alla problematica della scarsità delle risorse proteiche tradizionali dovuta all'aumento della popolazione mondiale stimato per i prossimi anni, visti i risultati ad oggi disponibili sul valore nutrizionale proteico di alcune specie di insetti, questi ultimi possono rappresentare sicuramente fonti proteiche innovative di valore nutrizionale comparabile a quello degli alimenti tradizionali.

BIBLIOGRAFIA

- Adesina A. J., 2012. *Proximate and anti-nutritional composition of two common edible insects: yam beetle (Heteroligus meles) and palm weevil (Rhynchophorus phoenicis)*. Elixir Food Science, 49, 9782.
- Andersen, S.O., Hojrup, P., Roepstorff, P., 1995. *Insect cuticular proteins*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 25(2), 153.
- Banjo A., Lawal O., Songonuga E., 2006. *The nutritional value of fourteen species of edible insects in southwestern Nigeria*. *Afr J Biotechnol.*, 5, 298.
- Belluco S., Losasso C., Maggioletti M., Alonzi C. C., Paoletti M. G., Ricci A., 2013. *Edible Insects in a Food Safety and Nutritional Perspective: A Critical Review*. *Comprehensive Reviews In Food Science and Food Safety*, 12.
- Chapman R.F., 2013. *The insects: structure and function*. In: Simpson, S. J., Douglas, A. E. (Eds.), fifth edition. Cambridge University Press, 929.
- Churchward-Venne T.A., Pinckaers P. J. M., van Loon J. J. A., van Loon L. J. C., 2017. *Consideration of insects as a source of dietary protein for human consumption*. *Nutrition Reviews*, 75(12), 1035.
- EFSA, 2012. *Scientific opinion on dietary reference values for protein*. *EFSA J* , 10(2), 2557.
- Ekop A. S., 2009. *Changes in Amino acid composition in African yam beans and African locust beans on cooking*. *Pakistan J. of Nutr.*, 5(3), 254.
- FAO/OMS, 1990. *Protein quality evaluation, FAO*. FAO Food and nutrition paper, 51.
- FAO, 2010. *Forest insects as food: human bite back!* RAP publication , 2010(2).
- Jonas-Levi A., Itzhak Martinez J.-J., 2017. *The high level of protein content reported in insects for food and feed is overestimated*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 62, 184.

- Köhlera 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, 372.
- Merrill A.L., Watt, B.K., 1973. *Energy Value of Foods: basis and derivation*. US Dept. of Agriculture, Agriculture Handbook, 74, 105.
- Nowak V., Persijn D., Rittenschober D., Charrondiere U. R., 2016. *Review of food composition data for edible insects*. Food Chem., 193, 39.
- Oibiokpa F.I., Inje O. F., Olufunmilayo A. H., Audu J. A., Ndaman S. A., Chidi E. E., 2018. *Protein quality of four indigenous edible insects species in Nigeria*. Food Science and Human Wellness, 7, 175.
- Oonincx D.G., van Itterbeeck J., Heetkamp M. J., et al., 2010. *An exploration on greenhouse gas and ammonia production by insects species suitable for animal or human consumption*. PLoS One, 5, e14445.
- Osimani A., Garofalo C., Milanovic V., Taccari M., Cardinali F., Aquilanti L., Pasquini M., Mozzon M., Raffaelli N., Ruschioni S., Riolo P., Isidoro N., Clementi F., 2016. *Insight into the proximate composition and microbial diversity of edible insects marketed in the European Union*. Eur Food Res Technol.
- Osimani A., Milanovic V., Cardinali F., Roncolini A., Garofalo C., Clementi F., Pasquini M., Mozzon M., Foligni R., Raffaelli N., Zamporlini F., Aquilanti L., 2018. *Bread enriched with cricket powder (Acheta domesticus): A technological, microbiological and nutritional evaluation*. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 48, 150.
- Phillips S.M., 2016. *The impact of protein quality on the promotion of resistance exercise induced changes in muscle mass*. Nutr Metab (London), 13, 64.
- Phillips S.M., Chevalier S., Leidy H. J., 2016. *Protein "requirements" beyond the RDA: implications for optimizing health*. Appl Physiol Nutr Metab, 41, 565.
- Ramos-Elorduy J., Pino Moreno J. M., Prado E. E., Perez M. A., Otero J. L., de Guevara O. L., 1997. *Edible insects of the state of Mexico and determination of their nutritive values*. Journal of food composition and analysis, 10, 142.
- Renske H. Janssen, Vincken J.-P., van den Broek L. A. M., Fogliano V., 2017. *Nitrogen-to-Protein Conversion Factors for three Edible Insects: Tenebrio molitor, Alphitobius diaperinus and Hermetia illucens*. J. Agric. Food Chem., 65, 2275.

- Roncolini A., Milanovic V., Cardinali F., Osimani A., Garofalo C., Sabbatini R., Clementi F., Pasquini M., Mozzon M., Foligni R., Raffaelli N., Zamporlini F., Minazzato G., Trombetta M. F., Van Buitenen A., Van Campenhout L., aquilanti L., 2019. *Protein fortification with mealworm (Tenebrio molitor L.) powder: Effect on textural, microbiological, nutritional and sensory features of bread*. PLoS One, 14(2), e0211747.
- Rumpold B. A., Schluter O. K., 2013. *Nutritional composition and safety aspects of edible insects*. Mol. Nutr. Food Res., 57, 802.
- Schaafsma G., 2000. *The protein digestibility-corrected amino acid score*. J Nutr., 130, 1865S.
- van der Spiegel M., M. N. a. H. d. F.-K., 2013. *Safety of Novel Protein Sources and Legislative Aspects for their Application in Food and Feed production*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 12.
- van Huis A., Van Itterbeeck J., Klunder H., et al., 2013. *Edible insects: future prospects for food and feed security*. Rome; Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- van Huis, A., 2013. *Potential of insects as food and feed in assuring food security*. Annu Rev Entomol., 58, 563.
- van Huis, A., 2016. *Edible insects are the future?*. Proceedings of the Nutrition Society, 75, 294.
- Vangsoe M. T., Thogersen R., Bertram H. C., Heckmann L.-H. L., Hansen M., 2018. *Ingestion of Insect Protein Isolate Enhances Blood Amino Acid Concentrations Similar to Soy Protein in A Human Trial*. Nutrients, 10, 1357.
- WHO, FAO, UNU, 2007. *Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition: Report of a Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation*. Geneva; WHO Technical Report Series 935.
- Wu G., Fanzo J., Miller D. D., et al., 2014. *Production and supply of high-quality food protein for human consumption: sustainability, challenges and innovation*. Ann N. Y. Acad Sci, 1321, 1.
- Yang Q., Liu S., Sun J., Yu L., Zhang C., Bi J., Yang Z., 2014. *Nutritional Composition and Protein Quality of the Edible Beetle Holotrichia parallela*. J. Insect Sci, 14(139).

SITOGRAFIA

"foodsafety.merieuxnutrisciences.com", PDCAAS illustration.

|