http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20210028





^aUniversidade Estadual de Santa Cruz Laboratório de Pesquisa em Química Analítica, Departamento de Ciências Exatas e Tecnológicas, Rodovia Jorge Amado Km 16, CEP 45662-900, Ilhéus-BA. Brasil.

^bUniversidade Estadual de Santa Cruz, Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, Laboratório Olfatometria, Rodovia Jorge Amado Km 16, CEP 45662-900, Ilhéus-BA, Brasil.

*E-mail: iplobo@uesc.br

Recebido: 9 de Julho de 2020

Aceito: 11 de Março de 2021

Publicado online: 14 de Abril de 2021

Produção de Proteína e Óleo Láurico à Partir da Bioconversão de Resíduos Agropecuário pelas Larvas da Hermetia illucens

Protein and Lauric Oil Production from Agricultural Waste Bioconversion by Hermetia Illucens Larvae

Sêmele Silva Santos, ® Maryellen Batista dos Santos, ® Amanda de Aguiar Barreto, ® Emanuele Santos Prazeres, ® Ailton Pinheiro Lôbo, ® Raildo Mota de Jesus, ® Ivon Pinheiro Lôbo & ®

The management of residues from the agricultural stage of food production is a priority issue and includes strategies aimed at minimizing environmental impacts. The use of Hermetia illucens larvae as detritivores is a promising alternative, as throughout their development they accumulate oil and protein, whose applications are diverse. In the present work, larvae of H. illucens were fed with different formulations of a mixture of cocoa peel, whey and passion fruit seed. The larvae were characterized in terms of protein content and oil quality produced. It was possible to obtain a larval biomass with up to 36 % oil and 46 % protein. The protein content makes it promising as a feed in livestock. The fatty acid profile of the oil showed a high concentration of C12: 0 (47 %), followed by C18: 2, C16: 0 and C18: 1, which allows it to be characterized as lauric oil, with different applications in the oleochemical industry.

Keywords: Co-products; circular economy; detritivores

1. Introdução

O aumento da demanda por alimento vem sendo uma das grandes preocupações mundial. Segundo projeções da FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), para atender uma população mundial que poderá chegar a 9,7 bilhões em 2050, será necessário aumentar a produção de alimentos. Por outro lado, o aumento da produção de alimentos consequentemente acarretará em aumento da geração de resíduos sólidos que, quando dispostos de forma inadequada, contribuem para graves impactos ambientais e sociais.

A cacauicultura é um exemplo de atividade agrícola que apresenta uma elevada produção de resíduos. Essa atividade tem a região sul da Bahia e o estado do Pará como os principais produtores de cacau no Brasil. A casca do fruto do cacaueiro representa cerca de 80 % da sua massa total, gerando anualmente aproximadamente 6 toneladas de cascas frescas por hectare. Normalmente essas cascas são amontoadas na lavoura para que, após sua decomposição, seja utilizada como fertilizante. Tal prática tem sido desencorajada, pois, além de acarretar impactos ambientais, podem ser vetores de doenças para a lavoura.² As cascas do cacau possuem em sua composição principal fibras insolúveis, lignina, polissacarídeos não amiláceos como hemicelulose, celulose, goma, pectina (fibra solúvel) além de um pequeno percentual de gordura.³⁻⁵ O percentual de proteína bruta varia de 6,2 a 17,6 % e açucares totais entre 1,33 a 3,0 %,⁶ apresentando uma composição mineral rica em uma grande quantidade de potássio, seguido de cálcio, magnésio, ferro e manganês, entre outros elementos em menor quantidade.⁷

Além da cultura do cacau que marca a região sul da Bahia, o estado ainda é o maior produtor nacional de maracujá.⁸ Do fruto é aproveitado apenas a polpa, que representa apenas de 35 % da massa total. O percentual restante é considerado resíduo, que recebem pouca ou nenhuma atenção no reaproveitamento.⁹ A semente da fruta se apresenta como uma fonte de gordura de excelente composição de ácidos graxos essenciais, como ácido oléico e ácido palmítico, com concentração de 20 e 14 % respectivamente.¹⁰

A região sul da Bahia conta ainda com laticínios de pequeno e médio porte, que são unidades de beneficiamento de leite. Em empreendimento desse porte, o soro do leite vem sendo descartado no ambiente, embora seja uma valorosa fonte de matéria orgânica e energia. ¹¹ O Soro do leite é composto por grandes quantidades de lactose (39 a 50 g L⁻¹), proteínas (6 a 14 g L⁻¹) e uma parte significativa de nutrientes do próprio leite. ^{12,13} O descarte do soro de leite

em corpos d'água é uma prática comum e representa um problema ambiental devido a sua elevada carga orgânica.

Como estratégia de gerenciamento dos resíduos da agroindústria, busca-se a sua valorização através da sua reinserção na cadeia produtiva. A aplicação de insetos na degradação de resíduos orgânicos faz parte de um processo amplamente conhecido por sua alta taxa de bioconversão. As larvas de insetos são capazes de se alimentar desses resíduos acumulando proteína e gordura nesse processo. Dentre as possibilidades de insetos que podem ser utilizados, as larvas da mosca soldado negro, *Hermetia illucens*, vêm ganhando destaque. Seus imaturos vêm sendo utilizados para a decomposição eficiente de resíduos distintos, tais como dejetos de aves, bovinos e de suínos, 15,16 resíduos agrícola e de alimentos 17,18 e fração orgânica dos resíduos urbanos. 19,20

As larvas da Hermetia illucens possuem composição rica em óleo e proteína, superior à de outros insetos, o que a torna adequada para o preparo de rações para a avicultura e a piscicultura. 21,22 O percentual de óleo nas larvas encontra-se em torno de 40 %. O óleo é majoritariamente composto por ácidos graxos saturados, sendo o ácido láurico encontrado em maior proporção ^{23,24}. Essa composição o torna interessante para o emprego na indústria oleoquímica, mais especificamente para a produção de biocombustível.²⁵⁻²⁷ Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi propor uma forma de tratamento dos resíduos da agropecuária baiana, oriundos das culturas do cacau e do maracujá, juntamente com o soro de leite de pequenos laticínios. Pretende-se assim, contribuir para o desenvolvimento de um sistema de produção integrada nas referidas atividades agropecuárias. Destaca-se, contudo, a produção de proteína e óleos láuricos obtidos da biomassa larval dos insetos utilizados como detritívoros no biotratamento dos resíduos.

2. Materiais e Métodos

2.1. Reagentes

Os padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos e o solvente heptano, todos de grau cromatográfico, foram adquiridos da Sigma Aldrich (USA). O metanol, o sulfato de potássio e o sulfato de cobre, todos de grau analítico,

foram comprados da VETEC (Brasil). O ácido sulfúrico foi adquirido da Merck (Alemanha). O ácido clorídrico, ácido bórico, hexano, vermelho de metila e o verde de bromocresol, todos de grau analítico, foram adquiridos da Química Moderna (Brasil). O fenol de grau analítico foi comprado da Dinâmica (Brasil). O Reagente de Wijs foi adquirida da Synth (Brasil). A sacarose de grau analítico foi adquirida da Sigma Aldrich (USA).

2.2. Produção das larvas

As larvas utilizadas nesse estudo foram obtidas de moscas selvagens capturadas no Campus da Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC, (Ilhéus/Bahia/Brasil). Os ovos postos pelas moscas foram armazenados em local seco e fresco, abrigado da luz até a eclosão. As larvas neonatas foram mantidas por um período de sete dias em ração de milho triturado, previamente fermentado sob forma espontânea, durante três dias e a temperatura ambiente (27±5 °C), para facilitar a manipulação e garantir viabilidade. Tendo finalizado os 7 dias no berçário, cinco conjuntos de 100 larvas cada foram pesados, obtendo um valor médio de $8,3500 \pm 0,2752$ g, portanto, estima-se que massa individual média foi de aproximadamente 0,0835 ± 0,0028 g. Os imaturos foram transferidos para oito tipos de dietas que diferenciaram entre si quanto a composição e pré-tratamento (Tabela 1). As dietas tiveram como base cascas de cacau trituradas, farinha de semente de maracujá, soro de leite ou água. Para garantir homogeneidade as misturas foram processadas em um liquidificador, seguido de um pré-tratamento por fermentação aeróbia ou anaeróbia espontânea por sete dias, a temperatura ambiente (27±5 °C). Foram realizadas diferentes combinações, produzindo oito tratamentos.

As dietas foram dispostas em recipientes de plástico (25x15x5 cm) distintos. Em cada recipiente foram adicionadas 2500 g da dieta e 1000 larvas. Durante o desenvolvimento das larvas, a temperatura ambiente foi de 27±5 °C, com umidade relativa média de 65 %. Ao atingir a fase de pré-pupa (21 dias) as larvas foram separadas, limpas, pesadas individualmente e devidamente acondicionadas em sacos de polietileno e armazenadas em freezer a -15 °C

Tabela 1. Composição e pré-tratamento das dietas oferecida às larvas

Tratamentos	Composição	Tipo de Fermentação
T1	C + A	Fermentação anaeróbia
T2	C + A	Fermentação aeróbia
T3	C + A + FSM	Fermentação anaeróbia
T4	C + A + FSM	Fermentação aeróbia
T5	C + S	Fermentação anaeróbia
Т6	C + S	Fermentação aeróbia
T7	C + S + FSM	Fermentação anaeróbia
Т8	C + S + FSM	Fermentação aeróbia

C - casca de cacau; A - água; S - soro de leite; FSM - farinha de semente de maracujá

para as análises subsequentes. Todos os experimentos foram realizados em triplicatas.

Baseado nos resultados dos experimentos realizados, foi repetida em triplicata a experimentação com a dieta 7, mantendo a proporção larva/substrato anterior e realizando uma variação desta dieta, buscando-se avaliar a influência do teor de açúcar sobre o teor de ácido láurico no óleo das larvas. Essa variação da alimentação foi preparada com o acréscimo 30 % em massa de cascas frescas de abacaxi cominuídas, após a etapa de fermentação, a mistura final preparada conforme a dieta T7. Análise subsequente foi realizada para confirmação do acréscimo do teor de açúcares. Outros parâmetros físico-químicos, a exemplo do controle do pH, não foram realizados. Os procedimentos foram realizados em triplicata.

2.3. Determinação de proteína bruta e açúcar

A determinação de proteína total nas dietas e nas larvas foi realizada em triplicatas pelo método Kjeldahl. Para 0,70 g da amostra em tubo de digestão, adicionou-se 2,5 g da mistura catalítica (sulfato de sódio e sulfato de cobre, 10:1), seguida de 7 mL de ácido sulfúrico. No bloco digestor (Quimis, modelo 0327M242) os tubos foram aquecidos a 50 °C (0,8 °C min⁻¹) e, numa taxa de 2 °C min⁻¹, aquecidos até atingir 400 °C, permanecendo até o surgimento de uma coloração esverdeada límpida. O digerido foi transferido para um destilador Kjeldahl semi automático (Quimis, modelo 0328S21), onde foi tratado com 20 mL de uma solução de hidróxido de sódio a 0,50 g mL-1. A amônia gerada foi recolhida em uma solução de ácido bórico contendo a mistura indicadora (vermelho de metila, verde de bromocresol). O Nitrogênio foi determinado por titulação do borato de amônio com uma solução padronizada de ácido clorídrico a 0,09982 mol L⁻¹. O teor de nitrogênio total foi calculado pela Equação 1. O percentual de proteína bruta nas larvas foi estimado multiplicando o percentual de nitrogênio total pelo fator de 6,25 (FN).

$$NT = \frac{(Va - Vb) * M * 0.014 * 100}{m} \tag{1}$$

Onde: NT é o percentual de nitrogênio total na amostra; Va é o volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação da amostra, em mililitros; Vb é o volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação do branco, em mililitros; M é a concentração molar do ácido clorídrico; m é a massa da amostra em gramas.

A determinação do teor de açúcar total foi realizada segundo o método fenol-sulfúrico de,²⁸ apenas nas dietas da reprodução do experimento de melhor performance. Cerca de 1 g da amostra foi extraída duas vezes com porções de 30 mL de etanol em banho de água a 60 °C por 30 minutos. Após filtração dos extratos em papel de filtro, foi adicionado 1 mL de fenol 5 % e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado a 1,00 mL do extrato. Utilizando os mesmos procedimentos

aplicados às amostras, preparou-se o branco. Os açúcares totais foram então determinados por espectrofotometria de absorção molecular a um comprimento de onda de 490 nm, utilizando uma curva padrão de glicose. As medidas espectrofotométricas foram realizadas em um espectrofotômetro UV-1800 da Shimadzu.

2.4. Extração do óleo das larvas da H. illucens

As larvas coletadas das dietas foram mantidas sob a temperatura de – 2 °C por duas horas. Após este período, foram transferidas para secagem em estufa de ventilação forçada a 60 °C por 24 horas. A extração do óleo das larvas secas foi realizada por 7 horas em um extrator Soxhlet. Ao final, o solvente foi evaporado em evaporador rotativo e a fração oleosa foi pesada e armazenada para análise do perfil de ácidos graxos. Na reprodução do experimento de melhor performance, a determinação de gordura foi realizada tanto para as larvas secas como para as dietas, conforme descrito acima.

2.5. Perfil de ácidos graxos do óleo das larvas da H. illucens

As análises dos ácidos graxos foram realizadas em um cromatógrafo a gás com detecção por ionização de chama (FID), GC Varian (Austrália), modelo CP-3800, equipado com coluna capilar com fase de polietileno glicol (30 m X 0,32 mm ID X 0,25 μm). A programação do forno da coluna foi: temperatura inicial de 140 °C (1 min), 170 °C (2 °C min⁻¹), 190 ° (5 °C min⁻¹), 230 °C (15 °C min⁻¹). Utilizou-se um injetor a 250 °C e com razão split de 130. O gás hélio foi utilizado como gás de arraste a uma vazão de 1,4 mL min⁻¹. A temperatura do detector FID foi de 270 °C. As injeções foram realizadas por um injetor automático Varian, modelo CP-8410.

Os triacilgliceróis dos óleos das larvas foram derivatizados a ésteres metílicos através da reação de transesterificação. Com este propósito, 200 mg do óleo foi tratado com 4,0 mL de metanol contendo 1 % de ácido sulfúrico concentrado. A mistura permaneceu em agitação por 24 h a 55 °C em uma Incubadora Tecnal, modelo TE-4200. Após esse período, a fase orgânica foi extraída com 1 mL de hexano e transferida para vials contendo 4,0 mg do padrão interno laurato de etila. Em seguidas as amostras foram encaminhadas para a análise cromatográfica. Os experimentos foram realizados em triplicatas.

Para a obtenção dos tempos de retenção dos principais ésteres metílicos dos ácidos graxos, bem como os seus respectivos fatores de correção de resposta no detector FID, foram injetados previamente no cromatógrafo uma mistura padrão de ésteres metílico (C12 a C20), juntamente com o laurato de etila que foi empregado como referência. Os fatores para correção das áreas (FR) foram calculados de acordo com a Equação 2. As proporções dos ácidos graxos nos óleos foram determinadas por normalização de área.

$$FR = \frac{A_e}{A_{pi}} \times \frac{m_{pi}}{m_e} \tag{2}$$

Onde: A_e é a área do éster do ácido graxo analisado, A_{pi} é a área do padrão interno empregado, m_{pi} é a massa do padrão interno utilizado, m_e é a massa do éster do ácido graxo analisado

2.6. Análises físico-química do óleo

Os índices de acidez dos óleos foram determinados pelo método do Instituto Adolfo Lutz (2008).²⁹ Os demais parâmetros de qualidade do óleo foram determinados conforme os procedimentos da *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society*, sendo: índice de iodo (AOCS Cd 1d-92)³⁰ e índice de saponificação (AOCS Cd 3b-76)³¹. Cada ensaio foi realizado em triplicata, assim como o branco.

2.6.1. Índice de acidez

Alíquotas de 1,0 g de óleo das larvas foram pesadas em um elermeyer, seguida da adição de 25 mL de uma mistura dos solventes éter/álcool etílico, na proporção 2:1 e 3 gotas de fenolftaleína 1 %. Titulou-se com hidróxido de sódio 0,1027 mol L¹, previamente padronizado com biftalato de potássio. Os valores dos índices de acidez foram calculados conforme Equação 3 e expressa em miligramas de hidróxido de sódio necessário para neutralizar os ácidos graxos livres presentes em 1g de óleo.

Índice de acidez =
$$\frac{(A-B)x M x 39,997}{m}$$
 (3)

Onde: A é o volume (mL) da solução padronizada da base usada na titulação da amostra; B é o volume (mL) da solução padronizada da base usada na titulação do branco; M é a concentração molar da solução titulante; m é a massa da amostra, em gramas.

2.6.2. Índice de iodo

Alíquotas de 0,300 g das amostras dos óleos das larvas foram solubilizadas em 15 mL da mistura solvente (cicloexano/ácido acético glacial, 1:1). Na sequência, foram adicionados 25 mL do reagente de Wijs, seguido de agitação. Decorrido 1 hora, em ambiente com ausência de luz e a uma temperatura de 25 ± 2 °C, adicionou-se 20mL de solução de iodeto de potássio 10 % (KI) e 150 mL de água deionizada. Titulou-se, sob agitação constante, com solução de tiossulfato de sódio pentahidratado 0,1 mol L-1. A solução titulante de tiossulfato de sódio foi previamente padronizada contra o dicromato de potássio. Cada ensaio foi realizado em triplicata, assim como o branco. O índice de iodo foi determinado conforme Equação 4, e expressa a quantidade em gramas de iodo absorvido por 100 g de amostra.

$$\text{Índice de iodo} = \frac{(A - B)x \, N \, x \, 12,69}{m} \tag{4}$$

Onde: B é o volume da solução titulante usada na titulação do branco, em mL; A é o volume da solução titulante usada na titulação da amostra, em mL; N é a normalidade da titulante; m é a massa da amostra, em gramas.

2.6.3. Índice de saponificação

Alíquotas de 2,0 g de óleo das larvas foram tratadas com 25,00 mL do hidróxido de potássio alcoólico 0,5 mol L-1 (KOH) e aquecimento sob refluxo por 30 minutos. Após o resfriamento do sistema, o condensador foi lavado com cerca de 15 mL de água deionizada, sendo coletado a água de lavagem no Erlenmeyer. Adicionou-se cerca de 1mL de fenolftaleína e titulou-se com HCl 0,5 mol L-1 previamente padronizado. O índice de saponificação foi determinado conforme Equação 5. O resultado foi expresso em miligramas de hidróxido de potássio necessário para saponificar 1 g da amostra.

Índice de saponificação =
$$\frac{(B-A) \times M \times 56,106}{m}$$
 (5)

Onde: B é o volume (mL) da solução titulante usada na titulação do branco; A é o volume (mL) da solução titulante usada na titulação da amostra; M é a concentração molar da solução titulante de HCl; m é a massa da amostra, em gramas.

3. Resultados e Discussão

3.1. Acumulo de biomassa larval

Até atingir o estágio de pré-pupa (21 dias), as larvas apresentaram um ganho expressivo de massa. Comparado com o valor da massa média inicial das larvas (0,0835 ± 0,0028 g), o ganho de biomassa larval variou entre 34 % (T1) e 166 % (T7). Os resíduos agropecuários após o tratamento com as larvas, podem ser utilizados como biofertilizantes, necessitando apenas de um tempo reduzido para a sua completa estabilização. 32

Os valores das massas médias das larvas para cada alimentação foram avaliados por Análise de Variância (ANOVA) a um nível de 90 % de confiança e n =3. De acordo com a análise, há diferença significativa entre os valores ($F_{\rm calculado}$ 53,66 > $F_{\rm tabelado}$ 2,66). O acumulo de biomassa total foi maior nas larvas alimentadas com a dieta T7 (Figura 1), dieta composta por casca de cacau + soro de leite + farinha de semente de maracujá com fermentação anaeróbica. O segundo maior ganho de massa foi observado para as larvas alimentadas com a dieta T8, que diferiu da

T7 apenas no pré-tratamento que foi a fermentação aeróbia. Esses resultados podem estar relacionados a maior oferta de nutrientes às larvas, uma vez que as dietas T7 e T8 foram as mais completas.

Para os valores de massa média larval obtidos com as demais dietas, segundo o cálculo da diferença menos significativa (DMS),³³ foram observados valores estatisticamente semelhantes entre T1 e T2, T3 e T5, T5 e T6. O DMS é avaliado em pares, fazendo a subtração das médias e comparando com o DMS crítico. Para os pares onde as diferenças apresentam valores menores que o DMS crítico significa que não há diferença significativa entre esses dois tratamentos.

Com a dieta T7, a massa média estimada por larva foi de 0,2226 ± 0,0099 g. Esse resultado apresenta um valor de massa larval maior que os obtidos por Spranghers et. al. (2017),³⁴ sendo 0,0908 g larva⁻¹ alimentadas com esterco de vacas leiteiras. Os resultados foram ainda superiores aos apresentados por Mohd-Noor *et al.* (2017)³⁵ com 0,0600 g larva⁻¹ alimentadas com resíduo de endosperma de côco e Li *et al.* (2011),²⁵ com 0,070 g larva⁻¹ alimentadas com esterco.

3.2. Teor de proteína bruta nas larvas da mosca H. illucens

O percentual de proteína das larvas é um importante parâmetro quando se deseja emprega-las para a alimentação de animais, portanto, neste estudo foi investigada a influência das diferentes dietas sobre o acúmulo proteico nas larvas. O teor de proteína nas larvas (Figura 2) variou de 35,13 (T5) a 46,39 % (T4). Os resultados foram avaliados por análise

de variância (ANOVA) a 90 % de confiança e n= 3, onde verificou-se o valor de $F_{calculado}$ (24,23) é maior que o $F_{tabelado}$ (1,75), logo há diferença significativa entre os valores. O maior teor proteína foi obtido para as larvas alimentadas com a dieta T4, composta por casca de cacau + água + farinha de semente de maracujá, tratada por fermentação aeróbia.

Através do cálculo da DMS, foi constatado valores estatisticamente semelhantes no percentual de proteína das larvas alimentadas com as dietas T3 e T8; T2 e T7; T1, T5 e T6. Considerando a variação de 26 a 45 % apontada na literatura para os teores de proteínas totais para larvas alimentadas com diferentes dietas, todos os resultados aqui obtidos podem ser considerados satisfatórios.³⁶⁻⁴⁰

As dietas com maiores teores de proteína bruta foram as que tiveram em sua formulação a farinha de semente de maracujá. No entanto, os processos bioquímicos e microbiológicos que envolvem a assimilação e conversão dos nutrientes do substrato pelas larvas em sua própria biomassa são complexos e pouco elucidados na literatura. Baseados nos resultados dos seus experimentos, Lalander e colaboradores (2013)²⁰ afirmaram que não encontraram nenhuma correlação entre os percentuais proteico das larvas e das suas dietas. Em um estudo publicado em 2013 por Zheng e colaboradores, 41 foram encontrados 16 gêneros diferentes de bactérias ao longo dos estágios de desenvolvimento do inseto. Os autores citam que o estudo de cada uma dessas bactérias para entender quais atuam nos processos biológicos de digestão de resíduos e de destruição de patógenos são difíceis, pois ainda não é possível cultivar muitas dessas bactérias em laboratório.

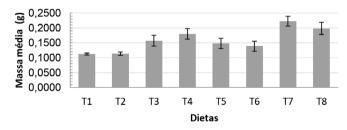


Figura 1. Estimativa das massas médias das larvas da MSN alimentadas diferentes dietas

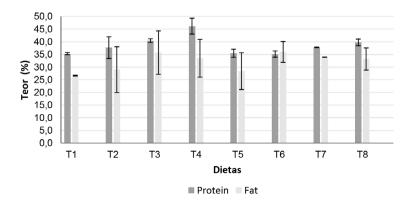


Figura 2. Teores de proteínas e gorduras nas larvas das H. illucens alimentadas com diferentes dietas

3.3. Teor lipídico e perfil de ácidos graxos da H. illucens

O teor lipídico das larvas, submetidas a oito diferentes dietas, variou de 26,6 a 36,0 % (Figura 2). Através da ANOVA a 90 % de confiança e n=3, foi verificado que o F_{calculado} (1,920 é menor que o F_{tabelado} (2,66), logo não há diferença significativa entre os teores de lipídios providos pelas diferentes dietas. Isso se deve aos altos valores dos desvios padrão observados. As variações observadas são inerentes a amostragem, ao método analítico e a eficiência metabólica das larvas. Essa última tem maior influência, uma vez que dependente de uma grande quantidade de variáveis, tais como: umidade, temperatura, luminosidade, locomoção na dieta, competição entre os indivíduos, diferença de sexo, dentre outras. Os valores observados para esse parâmetro estão de acordo com os apresentados na literatura, cuja a variação é de 22 a 39 %.^{25, 26, 36}

Sabe-se que os carboidratos presentes na alimentação são metabolizados pelas larvas no processo alimentar, sendo uma parte consumida nos processos biológicos energéticos do desenvolvimento do inseto e o restante é armazenado em forma de gordura. Sendo assim, era esperado que as dietas que apresentavam soro de leite na composição contribuíssem para um maior percentual lipídico nas larvas, devido às altas concentrações de lactose. Contudo, os resultados obtidos sugerem que o teor lipídico das larvas não pode ser associado de forma simples com a composição da sua dieta. Necessita-se, portanto que sejam aprofundados os estudos a respeito da influência da flora microbiológica sob o processo de digestão das larvas.

Para a verificação de possíveis aplicações do óleo da mosca, o perfil em ácidos graxos no conteúdo lipídico das larvas da mosca soldado negro, oriundas de cada tratamento, foi investigada (Tabela 2). A fração lipídica obtida é predominantemente composta por ácidos graxos saturados, que perfazem de 65-73 % dos ácidos graxos presentes. Foram quantificados os 7 principais ácidos graxos, dentre os quais os mais abundantes, em ordem decrescente de concentração, foram: o ácido láurico (C12:0) > linoleico (C18:2) > palmítico (C:16) > oleico (C18:1). Os altos teores de ácido láurico nos óleos das larvas os classificam como óleos láuricos, assim como os óleos de babaçu, palmiste e de coco.

A alta concentração de ácido láurico nas larvas as tornam interessante para o uso como ração animal, pois em animais e humanos uma fração dos triacilgliceróis ricos em ácido láurico é convertida em monolaurina, um composto com atividade antiviral, antibacteriano e antiprotozoário comprovada. 34, 42 Para a indústria oleoquímica, óleos carboxílicos, tais como os obtidos das larvas, são matéria prima nos processos de produção de biocombustíveis, tensoativos, lubrificantes, fármacos, cosméticos, alimentos, polímeros etc. 43, 44

O percentual dos ácidos graxos na fração lipídica sofreu variações para cada tratamento. Através da ANOVA, a 90 % de confiança e n= 3, foram identificadas diferenças significativas entre os teores dos ácidos graxos nas diferentes dietas. Respectivamente, os valores de $F_{calculado}$ foram 425,64; 42,35; 48,25; 50,08; 122,89; 65,14; 176,20; para os ácidos láurico, mirístico, palmítico, esteárico, palmitoleico, oleico e linoleico, sendo todos maiores que o F_{tabelado} 2,657. Valores estatisticamente semelhantes para os teores foram constatados entre as dietas, nas seguintes situações: para o ácido láurico T1/T2, T3/T5 e T7/T8, para o ácido mirístico T1/T7/T8, T2/T5 e T3/T4, para o ácido palmítico T1/T6, T3/T5 e T7/T8, para o ácido esteárico T1/T2, T3/T5/T6 e T7/T8, para o ácido palmitoleico T1/T6 e T3/T4/T7/T8, para o ácido oleico T2/T5, T3/T4 e T7/T8 e para o ácido linoleico T1/T2/T8 e T3/T4.

As dietas que não apresentaram a adição de soro de leite em sua composição (T1 a T4) foram as que resultaram nos menores teores de ácido láurico nos óleos das larvas. De forma geral, essas foram as que resultaram nos maiores teores do ácido linoleico. Já as dietas que tiveram a adição de soro de leite (T5 a T8) culminaram nos maiores teores de ácido láurico e nos menores teores do ácido linoleico. Dentre estas, as dietas T7 e T8 se destacaram por terem promovido os maiores teores de ácido láurico. Esse resultado encontra-se em conformidade com outros relatados na literatura, cujo valores variaram entre 23 a 76 % (Wang, *et al.*, 2017; LI, *et al.*, 2011; Ushakova, *et al.*, 2016; Leong *et al.*, 2015). ^{17,25,27,42} Leong e colaboradores (2015), ¹⁷ observaram que larvas alimentadas com resíduos de fruta ricos em carboidratos apresentaram os maiores teores de

Tabela 2. Percentual de ácidos graxos presentes na composição lipídica das larvas da H. illucens submetidas a oito diferentes dietas

Ácidos graxos	Teores (%)							
Acidos graxos	T1	T2	Т3	T4	T5	Т6	T7	Т8
Saturados								
Ácido láurico (C12:0)	$38,68 \pm 0,19$	$38,73 \pm 1,17$	$43,71 \pm 0,48$	$40,90 \pm 0,39$	$44,02 \pm 1,00$	$45,46 \pm 1,15$	$47,33 \pm 0,11$	$47,01 \pm 0,14$
Ácido Mirístico (C14:0)	$7,32 \pm 0,06$	$7,70 \pm 0,48$	$6,80 \pm 0,18$	$6,81 \pm 0,07$	$7,79 \pm 0,64$	$8,20 \pm 0,31$	$7,48 \pm 0,15$	$7,32 \pm 0,04$
Ácido Palmítico (C16:0)	$17,01 \pm 0,86$	$17,80 \pm 0,03$	$15,94 \pm 0,14$	$18,38 \pm 0,45$	$15,78 \pm 1,86$	$17,02 \pm 0,23$	$15,37 \pm 0,10$	$14,96 \pm 0,01$
Ácido Esteárico (C18:0)	$2,38 \pm 0,42$	$2,28 \pm 0,12$	$1,76 \pm 0,06$	$1,97 \pm 0,15$	$1,79 \pm 0,14$	$1,86 \pm 0,07$	$1,59 \pm 0,04$	$1,64 \pm 0,02$
Insaturados								
Ácido Palmitoleico (C16:1)	$1,64 \pm 0,04$	$1,52 \pm 0,19$	0.88 ± 0.02	0.94 ± 0.04	$2,00 \pm 0,41$	$1,67 \pm 0,22$	$0,92 \pm 0,01$	$0,85 \pm 0,02$
Ácido Oleico (C18:1)	12,47 ± 1,44	$11,53 \pm 1,29$	$8,46 \pm 0,21$	$8,67 \pm 0,45$	$11,50 \pm 1,99$	$9,53 \pm 0,18$	$7,81 \pm 0,05$	$7,67 \pm 0,08$
Ácido Linoleico (C18:2)	$20,50 \pm 0,19$	$20,43 \pm 1,17$	$22,46 \pm 0,48$	$22,33 \pm 0,39$	$17,13 \pm 1,00$	$16,26 \pm 1,15$	$19,51 \pm 0,11$	$20,46 \pm 0,14$

ácido láurico. Os autores relataram que foi possível obter 76 % de ácido láurico nas larvas alimentadas com resíduos de fruta, ricos em carboidratos. Esse resultado corrobora os apresentados neste trabalho, onde os maiores teores de ácido láurico foram oriundos das alimentações onde o soro de leite estava presente, cuja a composição conta com a presença do carboidrato lactose.

3.4. Reprodução do experimento de melhor performance

Dentre as dietas preparadas, a T7 foi a escolhida para reprodução, mantendo-se a proporção já realizada de larvas/ massa da dieta. Embora tenha propiciado os menores percentuais de proteína e gordura, as massas líquidas desses componentes são compensadas pelo maior ganho de massa favorecido pela dieta T7. Adicionalmente essa dieta foi a que propiciou o maior teor em ácido láurico, um valoroso ácido graxo. Além da repetição da dieta T7, foi preparada também uma variação desta com adição de 30 % em massa de cascas frescas de abacaxi. Para melhor compreensão, a dieta T7 sem adição das cascas de abacaxi passa a ser denominada como T7SA e com adição das cascas como T7CA. Conforme pode-se verificar na Tabela 3, os percentuais de proteína bruta determinados nos dois tratamentos não ultrapassaram 3,5 %, sendo T7SA a dieta com o maior teor. Já o teor de açucares teve uma elevação de cerca de 80 % com a adição das cascas de abacaxi (T7CA). Esse resultado foi considerado interessante, uma vez que se pretendia avaliar o efeito do teor de açucares na alimentação.

3.4.1 Acumulo de massa e características químicas da biomassa larval

A massa média por larva, alimentadas com a dieta T7SA, foi de 0,1844 ± 0,0470 g contra 0,1717 ± 0,0492 g das larvas alimentadas com a dieta T7CA. Através do teste t pareado, foi confirmado que os resultados são estatisticamente semelhantes, pois o $t_{\rm calculado}$ (1,930) < $t_{\rm tabelado}$ (2,920) para n = 3 e 90 % de confiança. Quando comparado aos valores de acúmulo de biomassa obtidos em outros estudos, $^{25, 34, 35}$ o presente experimento apresentou um melhor desempenho. Comparando as massas média larval obtida em T7SA e T7CA com a massa média larval em T7 (0,2226 g) do experimento anterior, verifica-se através do teste t pareado não diferença significativa entre os valores, uma vez que $t_{\rm calculado}$ (1,930) < $t_{\rm tabelado}$ (2,920) para n = 3 e 90 %.

Os teores de proteína e de gordura (Tabela 3) foram, respectivamente, 39,7 e 41,0 % para as larvas alimentadas com T7SA e 38,5 e 39,7 % para as alimentadas com T7CA. Esses valores pouco diferiram do experimento anterior, onde as larvas foram alimentadas com a dieta T7, cujos valores de proteína e gordura fora 37,8 e 34,0 %, respectivamente.

Tabela 3. Características químicas das dietas e das larvas da H. illucens

Dietas	T7SA	T7CA		
Alimentação				
%Proteína Bruta	$3,48 \pm 0,01$	$3,37 \pm 0,01$		
%Açúcar total	$4,03 \pm 0,01$	$7,24 \pm 0,02$		
Larvas				
%Proteína Bruta	$39,7 \pm 0,7$	$38,5 \pm 0,4$		
%Gordura	$41,0 \pm 1,0$	$39,7 \pm 1,1$		
%Umidade	$60,0 \pm 1,0$	$57,0 \pm 1,0$		
Óleo				
Índice de acidez (mg NaOH g-1)	0.23 ± 0.05	$3,38 \pm 0,12$		
Índice de iodo (g I ₂ 100 g ⁻¹)	$36,33 \pm 0,05$	$11,26 \pm 0,09$		
Índice de saponificação (mg KOH g-1)	$112,39 \pm 0,24$	$195,63 \pm 0,13$		
Ácidos graxos saturados				
Ácido decanóico (C10:0)	$1,01 \pm 0,01$	$1,18 \pm 0,01$		
Ácido láurico (C12:0)	$41,2 \pm 0,32$	$48,42 \pm 0,15$		
Ácido Mirístico (C14:0)	$7,66 \pm 0,06$	$8,09 \pm 0,02$		
Ácido Palmítico (C16:0)	$14,82 \pm 0,04$	$14,67 \pm 0,02$		
Ácido Esteárico (C18:0)	$1,96 \pm 0,08$	$2,04 \pm 0,01$		
Ácidos graxos insaturados				
Ácido Palmitoleico (C16:1)	0.35 ± 0.01	0.31 ± 0.01		
Ácido Oleico (C18:1)	$9,64 \pm 0,34$	$9,75 \pm 0,05$		
Ácido Linoleico (C18:2)	$24,35 \pm 0,11$	$16,73 \pm 0,08$		
Ácido Araquidônico (C20:4)	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01		

A fração lipídica das larvas apresentou em sua composição, 9 diferentes ácidos graxos (C10:0, C12:0, C14:0, C16:0, C16:1, C18:0, C18:1, C18:2 e C20:4), sendo o ácido decanóico, palmitoleico e araquidônico presente em menor proporção em todos os experimentos (Tabela 3). O ácido graxo mais abundante nas amostras é o ácido láurico (C12:0), seguido pelo ácido linolênico (C18:2) e o palmítico (C14:0). A dieta T7SA resultou em 41,2 % de ácido láurico, enquanto que T7CA apresentou um percentual de ácido láurico em torno de 48,4 %. O maior teor de açúcar total em T7CA contribuiu para o aumento do teor de C12:0 no conteúdo lipídico das larvas, conforme os resultados obtidos por Leong (2015).¹⁷ Outro comportamento a ser assinalado é a diminuição do teor de ácido linolênico (C18:2) quando se aumenta o teor de ácido láurico no óleo. Com a dieta T7SA, o C18:2 encontra-se em torno de 24,3 %, já em T7CA, representa 16,7 %. A presença de ácido graxos insaturados está diretamente relacionada a estabilidade dos óleos e gorduras. Num processo de decomposição oxidativa, o oxigênio atmosférico reage com as duplas ligações dos ácidos graxos insaturados, resultando na formação de peróxidos.

A qualidade dos óleos da larva foi avaliada quanto ao índice de acidez, índice de iodo e índice de saponificação (Tabela 3). O índice de acidez é um parâmetro que avalia a estado de conservação dos óleos e gorduras, visto que pode haver um aumento dos ácidos graxos livres proveniente da hidrólise dos triacilgliceróis, acelerado por aquecimento ou pela luz. ⁴⁵ Pode-se observar que o óleo das larvas alimentadas com a dieta T7SA apresenta uma acidez menor que as alimentadas com T7CA (0,23 e 3,38 mg NaOH g⁻¹ respectivamente).

O grau de insaturação de um óleo pode ser avaliado através do índice de iodo. Portanto, quanto maior o grau de insaturação do ácido graxo, maior sua capacidade de absorção de iodo, o que implica diretamente na possibilidade de rancidez. ⁴⁶ O óleo das larvas da dieta T7SA apresentou um índice de iodo maior (36,33 g I₂ 100 g⁻¹), o que já era esperado, uma vez que este possui o maior percentual de ácido linolênico (C18:2). Os valores do índice de iodo dos óleos das larvas são muito inferiores que os relatados para outros óleos, tais como os óleos de soja, girassol, milho, palma e amendoim, cujos os valores são, respectivamente, 129; 127; 132;51; 104 g I₂ 100g⁻¹. ⁴⁷

Em T7CA, tem-se o maior resultado de índice de saponificação, 195,63 mg KOH g⁻¹, em conformidade com os dados obtidos pela análise cromatográfica. O índice de saponificação indica a quantidade relativa de ácidos graxos de cadeia curta presente no óleo. Quanto maior o índice de saponificação, menor é massa molar dos ácidos graxos majoritários presente no óleo. O alto índice de saponificação do óleo das larvas aproxima-o do grupo de óleos com características nobres, como o óleo de babaçu (281,8 ± 6,2 mg KOH g⁻¹), coco (272,6 ± 19,0 mg KOH g⁻¹) e palmiste (252,80 mg KOH g⁻¹) devido ao alto teor de ácido láurico.^{48,49}

No estudo publicado por Li *et al* (2011) que traz informações quanto as características físico-químicas do óleo das larvas da *H. illucens*, o índice de acidez de 8,7 mg NaOH g⁻¹ é maior em comparação aos dados da Tabela 3, assim como o índice de iodo e saponificação. O teor máximo de ácido láurico relatado nesse estudo foi de 35 %, sendo que os resultados obtidos classificam, por exemplo, o óleo das larvas como adequado para possível aplicação em biodiesel.

4. Conclusão

As dietas aqui apresentadas resultaram em um significativo acumulo de massa, proteína e óleo nas larvas. Destacou-se entre as demais a alimentação composta por casca de cacau, soro de leite e semente de maracujá, tratada por fermentação anaeróbica, que resultou em larvas com maior massa média e no maior teor de C12:0. Essas características são desejáveis para o uso das larvas na formulação de ração para a agropecuária e/ou para obtenção de óleo láurico para a indústria oleoquímica. Os maiores teores de C12:0 e menores teores de C18:2 foram observados para larvas alimentadas com maiores quantidades de açúcares. Diante desse cenário, pode-se afirmar que a mosca Hermetia illucens é uma alternativa em potencial para o aproveitamento da biomassa residual da agropecuária. A sua aplicação, além de minimizar os possíveis impactos ambientais, resulta na reinserção da biomassa residual na cadeia produtiva. Neste contexto, produtos ora vistos sem valor econômico, são transformados em coprodutos com valor agregado, a partir de uma estratégia de produção limpa e integrada.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia -FAPESB pela concessão da bolsa de mestrado para a primeira autora e pelo financiamento do Projeto de Pesquisa FAPESB TO 0023/2015.

Referências Bibliográficas

- The future of food and agriculture, Alternative pathways to 2050. FAO: Italy, 2018. Disponível em: http://www.fao.org/3/18429EN/i8429en.pdf>. Acesso em: 08 outubro 2019.
- Balentić, J. P.; Ačkar, Đ.; Jokić, S.; Jozinović A.; Babić, J.; Miličević, B.; Šubarić, D.; Pavlović, N.; Cocoa Shell: A By-Product with Great Potential for Wide Application. *Molecules* 2018, 23, 1404. [CrossRef]
- Alemawor, F.; Dzogbefia, V. P.; Oddoye, E. O. K.; Oldham, J. H.; Enzyme cocktail for enhancing poultry utilisation of cocoa pod husk. *Scientific Research and Essay* 2009, 4, 555. [Link]
- Hamzat, R. A.; Adeola, O.; Chemical evaluation of co-products of cocoa and kola as livestock feeding stuffs. *Journal of Animal* Science Advances 2011, 1, 6.

- Jokić S.; Gagić, T.; Knez, Ž.; Šubarić, D.; Škerget, M.; Separation of Active Compounds from Food by-Product (Cocoa Shell) Using Subcritical Water Extraction. *Molecules* 2018, 23, 1408. [CrossRef]
- Rakhmani, S. I.; Purwadaria, T.; Improvement of nutritional value of cocoa pod husk fermented with Aspergillus Spp. and two levels of urea and ammonium sulphate. *Indonesian Journal* of Animal and Veterinary Sciences 2017, 22, 101. [CrossRef]
- de Souza, P. A.; Moreira, L. F.; Sarmento, D. H.; da costa, F. B.; Cacao—Theobroma cacao. Exotic Fruits 2018, 69. [CrossRef]
- 8. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ba/pesquisa/15/11863>. Acesso em: 29 junho 2020.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Cultivares de maracujá com alta produtividade e resistência a doenças e aproveitamento de resíduos da indústria atraem público nacional e estrangeiro. Disponível em: Acesso em: 29 junho 2020.
- Pereira, M. G.; Hamerski, F.; Andrade, E. F.; Scheer, A. de P.; Corazza, M. L.; Assessment of subcritical propane, ultrasoundassisted and Soxhlet extraction of oil from sweet passion fruit (Passiflora alata Curtis) seeds. *The Journal of Supercritical Fluids* 2017, 128, 338. [CrossRef]
- Lin, C. S. K.; Koutinas, A. A.; Stamatelatou, K.; Mubofu, E. B.; Matharu, A. S.; Kopsahelis, N.; Pfaltzgraff, L. A.; Clark, J. H.; Papanikolaou, S.; Kwan, T. H.; Luque, R.; Current and future trends in food waste valorization for the production of chemicals, materials and fuels: a global perspective. *Biofuels, Bioproducts* and *Biorefining* 2014, 8, 686. [CrossRef]
- 12. Lech, M.; Trusek-Holownia, A.; Biodegradation of whey waste in a continuous stirred-tank bioreactor. *Environment Protection Engineering* **2015**, *41*, 97. [CrossRef]
- El-Tanboly, E.; Khorshid, M. E.; Recovery of cheese whey, a by-product from the dairy industry for use as an animal feed. *Journal of Nutritional Health & Food Engineering* 2017, 6, 148. [CrossRef]
- Liu, C.; Wang, C.; Yao, H.; Comprehensive Resource Utilization of Waste Using the Black Soldier Fly (Hermetia illucens (L.)) (Diptera: Stratiomyidae). *Animals* 2019, 9, 349. [CrossRef]
- Myers, H. M.; Tomberlin, J. K.; Lambert, B. D.; Kattes, D.; Development of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae fed dairy manure. *Environmental Entomology* 2008, 37, 11. [CrossRef]
- Ur Rehman, K.; Ur Rehman, R.; Somroo, A. A.; Cai, M.; Zhenga, L.; Xiaoa, X.; Ur Rehman, A.; Rehman, A.; Tomberline, J. K.; Yua, Z.; Zhanga, J.; Enhanced bioconversion of dairy and chicken manure by the interaction of exogenous bacteria and black soldier fly larvae. *Journal of Environmental Management* 2019, 237, 75. [CrossRef]
- 17. Leong, S. Y., Kutty, S. R. M., Tan, C. K., Tey, L. H.; Comparative study on the effect of organic waste on lauric acid produced by Hermetia illucens larvae via bioconversion. *Journal* of *Engineering Science* and *Technology* **2015**, *10*, 52.

- Ewald, N.; Vidakovic, A.; Langeland, M.; Kiessling, A.; Sampels, S.; Lalander, C.; Fatty acid composition of black soldier fly larvae (Hermetia illucens) – Possibilities and limitations for modification through diet. Waste Management 2020, 102, 40. [CrossRef]
- 19. Kalová, M.; Borkovcová, M.; Voracious larvae Hermetia illucens and treatment of selected types of biodegradable waste. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae* Brunensis **2013**, *61*, 77. [CrossRef]
- Lalander, C.; Diener, S.; Magri, M. E.; Zurbrugg, C.; Lindstrom, A.; Vinneras, B.; Faecal sludge management with the larvae of the black soldier fly (Hermetia illucens) - From a hygiene aspect. *The* Science of the Total Environment 2013, 458-460, 312. [CrossRef]
- Schiavone, A.; de Marco M.; Martinez, S.; Dabbou, S.; Renna, M.; Madrid, J.; Hernandez, F.; Rotolo, L.; Costa, P.; Gai, F.; Gasco, L.; Nutritional value of a partially defatted and a highly defatted black soldier fly larvae (Hermetia illucens L.) meal for broiler chickens: apparent nutrient digestibility, apparent metabolizable energy and apparent ileal amino acid digestibility. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 2017, 8, 51. [CrossRef]
- Hashizume, A.; Ido, A.; Ohta, T.; Thiaw, S. T.; Morita, R.; Nishikawa, M.; Takahashi, T; Miura, C.; Miura, T.; Housefly (Musca domestica) Larvae Preparations after Removing the Hydrophobic Fraction Are Effective Alternatives to Fish Meal in Aquaculture Feed for Red Seabream (Pagrus major). Fishes 2019, 4, 38. [CrossRef]
- 23. Finke, M. D.; Complete nutrient content of four species of feeder insects. *Zoo Biology* **2012**, *32*, 27. [CrossRef]
- Leong S. Y.; Kutty S. R. M.; Malakahmad A.; Tan C. K.; Feasibility study of biodiesel production using lipids of Hermetia illucens larva fed with organic waste. Waste Management 2016, 47, 84. [CrossRef]
- Li, Q.; Zheng, L.; Qiu, N.; Cai, H.; Tomberlin, J. K.; Yu, Z.; Bioconversion of dairy manure by black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) for biodiesel and sugar production. Waste Management 2011, 31, 1316. [CrossRef]
- Zheng, L.; Li, Q.; Zhang, J.; Yu, Z.; Double the biodiesel yield: Rearing black soldier fly larvae, Hermetia illucens, on solid residual fraction of restaurant waste after grease extraction for biodiesel production. *Renewable Energy* 2011, 41, 75. [CrossRef]
- Feng, W; Qian, L.; Wang, W.; Wang, T.; Deng, Z.; Yang, F.; Xiong, J.; Wang, C.; Exploring the potential of lipids from black soldier fly: New paradigm for biodiesel production (I). *Renewable Energy* 2018, 111, 749. [CrossRef]
- Dubois, M.; Gilles, K. A.; Hamilton, J. K.; Rebers, P. T.; Smith, F.; Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 1956, 28, 350.
- Instituto Adolfo Lutz; Métodos físico-químicos para análise de alimentos. Instituto Adolfo Lutz: São Paulo, 2008.
- AOCS; Method Cd 1d-92: Iodine Value of Fats and Oils, Cyclohexane–Acetic Acid Method. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 5th ed., American Oil Chemists' Society: Illinois, 1993.
- 31. AOCS; *Method Cd 3b-76: Saponification Value*. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 5th ed., American Oil Chemists' Society: Illinois, 1998.

- 32. Zhu, F.; Wang, W.; Hong, C.; Feng, M.; Xue, Z.; Chen, X.; Yao, Y.; Yu, M.; Rapid production of maggots as feed supplement and organic fertilizer by the two-stage composting of pig manure. *Bioresource technology* **2012**, *116*, 485. [CrossRef]
- Skoog D. A.; West, D. M.; Holler, F. J.; Crouch, S. R.; Fundamentos de Química Analítica. Tradução da 8ª Edição Norte-Americana, Editora Thomson: São Paulo, 2006.
- Spranghers, T.; Michiels, J.; Vrancx, J.; Ovyn, A.; Eeckhout, M.; de Clercq, P.; de Smet, S.; Gut antimicrobial effects and nutritional value of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) prepupae for weaned piglets. *Animal Feed Science and Technology* 2018, 235, 33. [CrossRef]
- Mohd-Noor, S. N.; Wong, C. Y.; Lim, J. W.; Mah-Hussin, M. I. A.; Uemura, Y.; Lam, M. K.; Ramli, A.; Bashir, M. J. K.; Tham, L.; Optimization of self-fermented period of waste coconut endosperm destined to feed black soldier fly larvae in enhancing the lipid and protein yields. *Renewable Energy* 2017, 111, 646. [CrossRef]
- Matthäus, B.; Piofczyk, T.; Katz, H.; Pudel, F.; Renewable Resources from Insects: Exploitation, Properties, and Refining of Fat Obtained by Cold-Pressing from Hermetia illucens (Black Soldier Fly) Larvae. European Journal of Lipid Science and Technology 2019, 121, 1. [CrossRef]
- Miranda, C. D.; Cammack, J. A.; Tomberlin, J. K.; Life-History Traits of the Black Soldier Fly, Hermetia illucens (L.) (Diptera: Stratiomyidae), Reared on Three Manure Types. *Animals* 2019, 9, 281. [CrossRef]
- Supriyatna, A.; Kurahman, O. T.; Cahyanto, T.; Yuliawati, A.; Kulsum, Y.; The Potency of Black Soldier Larvae (Hermetia illucens L.) as a Source of Protein for Livestock Feed, *Biosaintifika* 2018, 10, 449. [CrossRef]
- Ur Rehman, K.; Rehman, A.; Cai, M.; Zheng, L.; Xiao, X.; Somroo, A. A.; Wang, H.; Li, W.; Yu, Z.; Zhang, J.; Conversion of mixtures of dairy manure and soybean curd residue by black soldier fly larvae (Hermetia illucens L.). *Journal of Cleaner Production* 2017, 154, 366. [CrossRef]

- Zhou, F.; Tomberlin, J. K.; Zheng, L.; Yu, Z.; Zhang, J.;
 Developmental and waste reduction plasticity of three black soldier fly strains (Diptera: Stratiomyidae) raised on different livestock manures. *Journal of Medical Entomology* 2013, 50, 1224. [CrossRef]
- Zheng, L.; Crippen, T. L.; Singh, B.; Tarone, A. M.; Dowd, S.; Yu, Z.; Wood, T. K.; Tomberlin, J. K. A survey of bacterial diversity from successive life stages of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) by using 16S rDNA pyrosequencing. *Journal of Medical Entomology* 2013, 50, 647. [CrossRef]
- Ushakova, N. A.; Brodskii, E. S.; Kovalenko, A. A.; Bastrakov, A. I.; Kozlova, A. A.; Pavlov, D. S.; Characteristics of lipid fractions of larvae of the black soldier fly Hermetia illucens. *Doklady Biochemistry and Biophysics* 2016, 468, 209. [CrossRef]
- Abdelmoez, W.; Mustafa, A.; Oleochemical industry future through biotechnology. *Journal of Oleo Science* 2014, 63, 545. [CrossRef]
- 44. Pinho, D. M. M; Suarez, P. A. Z.; A hidrogenação de óleos e gorduras e suas aplicações industriais. *Revista Virtual de Química* **2013**, *5*, 47. [CrossRef]
- 45. Pike, O. A.; O'Keefe, S. Fat Characterization. Em *Food Analysis*, Nielsen S. (eds). Springer: New York, 2007, 407. [CrossRef]
- Redondo-Cuevas, L.; Castellano, G.; Torrens, F.; Raikos, V.; Revealing the relationship between vegetable oil composition and oxidative stability: A multifactorial approach. *Journal of Food Composition and Analysis* 2018, 66, 221. [CrossRef]
- Chebet, J.; Kinyanjui, T.; Cheplogoi, P. K.; Impact of frying on iodine value of vegetable oils before and after deep frying in different types of food in Kenya. *Journal of Scientific and Innovative Research* 2016; 5, 193. [Link]
- Albuquerque, M. C. G.; Avaliação físico-química dos óleos de babaçu (Orbignya speciosa) e coco (Cocos nucifera) com elevado índice de acidez e dos ácidos graxos (C6 a C16). Scientia Plena 2017, 13. [CrossRef]
- Lucarini, A. C., Ferreira, N. L., Natsumeda, A. M., de Aguiar, C. B., Souza, C. C., Larelio, F.; Produção de biodiesel a partir do óleo de palmiste. *The Journal of Engineering and Exact Sciences* 2017, 3, 158. [Link]