

© 2024 Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 27: 1-17, 2024.

<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2024.638>

Avances en el estudio de la modificación del contenido de ácidos grasos en las larvas de *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) para la producción de biodiésel a través de cambios bioquímicos en la fuente de alimentación

Miguel Alejandro Flores-Sánchez¹, Juan Campos-Guillén¹, Francisco Javier de Moure-Flores¹, Marco Martín González-Chávez², Luis Armando Galván-Camacho¹, Diana Laura Quezada-Morales¹ y Miguel Ángel Ramos-López^{1*}

¹Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Laboratorio de Compuestos Naturales Insecticidas, Cerro de las Campanas s/n, 76010, Querétaro, Querétaro, México. ²Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias Químicas, Laboratorio de Productos Naturales, Av. Dr. Manuel Nava # 6, Zona Universitaria, 78290, San Luis Potosí, SLP, México. E-mail: *agromyke@yahoo.com

RESUMEN

El biodiésel obtenido a partir de aceite de diferentes fuentes de biomasa es una alternativa a la reducción del uso de combustibles fósiles para el transporte, y por esto se han estudiado las larvas de la mosca soldado negro *Hermetia illucens*, en las cuales se puede aumentar su contenido de aceite por medio de diversos factores en esta fase de su desarrollo. En el presente artículo de revisión, se resumen las condiciones bioquímicas que modifican el contenido de los ácidos grasos en las larvas de *Hermetia illucens*, durante su crianza en el laboratorio, para la producción de biodiésel, así como la aplicación de diferentes tecnologías para la extracción del aceite y su transesterificación. Uno de los varios tratamientos que se han realizado para el fin citado, es la adición de carbohidratos no fibrosos en la fuente de alimentación de las larvas, lo cual a su vez modifica la microbiota intestinal, concretamente las bacterias *Dysgonomonas* sp., y *Bacteroides* sp., que participan en la degradación del alimento. Por otra parte, para la extracción del aceite los rendimientos porcentuales que registraron diversos estudios fueron de un 36% con el solvente 2-metiltetrahydrofurano y con el éter de petróleo el 29.5%. Mientras que, después de la transesterificación de este aceite se obtuvo 98% con el metanol como reactivo junto con la combinación de las lipasas comerciales Eversa® con SMG1 como catalizadores.

Palabras clave: *Hermetia illucens*, biodiésel, ácidos grasos, transesterificación.

Advances in the study of fatty acids modification in *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larvae for biodiesel production through biochemical changes in the feeding source

ABSTRACT

Biodiesel obtained from oil of different sources of biomass is an alternative for reducing fossil fuels used for transportation. Being the larvae of black soldier fly *Hermetia illucens* researched for increasing their oil content through some factors during the larval stage. This review summarizes the biochemical conditions that have been identified to modify the fatty acid content in *Hermetia illucens* larvae during their lab rearing for biodiesel production, as well as the different technologies used for oil extraction and transesterification. One of these modifications involves the addition of non-fibrous carbohydrate content in the feed, which also affects the intestinal microbiota, increasing the presence of bacteria such as *Dysgonomonas* sp., and *Bacteroides* sp., which participate in the degradation of the food. Furthermore, during the oil extraction the reported yield percentages were 36% using 2-methyltetrahydrofuran as a solvent, and 29.5% using petroleum ether. As for oil transesterification, a conversion of 98% was achieved using methanol as a reagent combined with commercial lipases Eversa® and SMG1 as catalysts.

Keywords: *Hermetia illucens*, biodiesel, fatty acids, transesterification.

INTRODUCCIÓN

El aumento en la demanda y uso de los combustibles fósiles para cubrir las actividades antropogénicas, incrementa la emisión de los gases de efecto invernadero (GEI) identificados como: CO, CO₂, N₂O, NO_x, SO_x y PM_{2.5}, causales del calentamiento global y los efectos adversos a la salud humana con la aparición de enfermedades cardiovasculares y respiratorias (Bahrami *et al.*, 2022; Lelieveld *et al.*, 2019; Martins, Felgueiras, Smitkova & Caetano, 2019; Xing, Wang, Liu, Liu & Zhu, 2019). Entre las actividades que agravan las emisiones de los GEI están las del sector del transporte terrestre y marítimo por utilizar combustibles derivados del petróleo, como lo son la gasolina, el gasóleo y el diésel (Rivera-González, Bolonio, Mazadiego, Naranjo-Silva & Escobar-Segovia, 2020; Ziółkowski, Fuć, Jagielski & Bednarek, 2022). Los datos de la Agencia Internacional de Energía (IEA) (2021), señalan que un 68% de los productos derivados del petróleo son destinados al transporte. En México se utiliza el 25.73% del diésel en este sector, principalmente terrestre, marítimo y ferroviario (SENER, 2022). Adicionalmente, la Comisión Nacional de Hidrocarburos (CNH), estima una cercana escasez de estos en la reserva de 9.3 años (CNH, 2020). Por lo anterior, está vigente la propuesta de reducir el uso de estos combustibles, y migrar a tecnologías de energía renovable para mitigar el problema del calentamiento global, la contaminación y el desabasto mundial derivados de un uso permanente (Gielen *et al.*, 2019; Shen, Wang, Peng & Hou, 2020).

Una alternativa para reducir las emisiones no deseadas producidas por la combustión del diésel convencional, es combinarlo en porciones dosificadas con biodiésel, un biocombustible derivado de la transesterificación de aceites que provienen de diversas fuentes animales y vegetales (Sharma, Sharma, Chintala, Khatri & Patel, 2020). Algunos de estos aceites derivan de *Brassica napus* (Brassicaceae), *Brassica carinata* (Brassicaceae) y *Zea mays* (Poaceae); así como de las grasas de res, de cerdo y de pollo entre otros (Keskin, Şen & Emiroğlu, 2020; Xu, Ou, Li, Hawkins & Wang, 2022). Los vegetales son una alternativa muy atractiva por la facilidad con el que el aceite se extrae para obtener un biodiésel que cumple con los estándares internacionales de calidad (Yaşar, 2020), sin embargo, para que a una escala suficiente se cubra la demanda en el sector del transporte, se necesitan grandes extensiones de terreno para el cultivo de las plantas (Litvak & Litvak, 2020). Como respuesta a este problema, se planteó el uso de materia vegetal que no sea comestible y crezca en espacios que no son aprovechados para actividades de importancia agrícola, es el caso del aceite de *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae), (Kumar, Vachan-Tirkey & Kumar-Shukla, 2021; Yate, Narváez, Orjuela, Hernández & Acevedo, 2020), *Azadirachta indica* (Meliaceae), (Kaisan *et al.*, 2021) y *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) (Abel *et al.*, 2022; Ahmad Jan *et al.*, 2022).

Otros organismos de uso potencial, para obtener el biodiésel a partir de aceite, son las larvas de algunos insectos, como las de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) que al ser alimentadas con cera de abeja y harina de trigo se capta un 42% de aceite en peso (Francardi *et al.*, 2017). De las larvas de *Zophobas morio* (Coleoptera: Tenebrionidae); hasta un 34% (Soares Araújo, dos Santos Benfica, Ferraz & Moreira Santos, 2019); y de las larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) alimentadas con materia orgánica en descomposición y vegetales con alto contenido de celulosa y hemicelulosa, el resultado es de un 38% de aceite (Siow, Sudesh, Murugan & Ganesan, 2021).

Finalmente, otro insecto para la misma función que los anteriores son las larvas de *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae), también conocida como mosca soldado negra (BSFL, por sus siglas en inglés), (Wong *et al.*, 2019). Este insecto se alimenta de *detrit*us, es decir, de materia orgánica en descomposición, que favorece la acumulación de lípidos en su tejido graso, del que se extrae el aceite para su posterior transesterificación en biodiésel (Nguyen *et al.*, 2018b). Las ventajas que presenta el uso de este insecto son su corto ciclo de vida, de aproximadamente tres semanas, periodo en el cual las larvas pasan por 5 instares hasta llegar a prepupa donde se consigue la mayor cantidad de aceite (Smets, Goos, Claes & Van Der Borgh, 2021); la alimentación influye para este propósito y la variedad existente de materia orgánica también contribuye, por ejemplo, con diversos estiércoles e incluso el aceite de cocina usado es útil para este fin (Lee, Yun & Goo, 2021) El adulto puede vivir de 5-10 días y aunque se mantiene cerca de las fuentes de alimentación, por su corta existencia no es considerado como una plaga (Moretta *et al.*, 2020). Respecto al contenido de aceite, varía entre 15 y 34% acorde a la dieta con que son alimentadas las larvas (Li *et al.*, 2022).

Derivado de lo anterior, el objetivo del presente trabajo, fue realizar una extensa revisión en la literatura de los factores bioquímicos que permiten modificar el contenido de los ácidos grasos durante el crecimiento y desarrollo de las larvas de *H. illucens* a través de los cambios en su dieta, así como el de los métodos de obtención del biodiésel a partir del aceite.

EFFECTO DE LAS CONDICIONES DEL LABORATORIO EN LA REPRODUCCIÓN MASIVA DE *Hermetia illucens*

Existen diversas condiciones ambientales de importancia para la cría de *H. illucens* y cuya comprensión es crucial para su reproducción masiva (Gligorescu *et al.*, 2022; Kaczor, Bulak, Proc-Pietrycha, Kirichenko-Babko & Bieganski, 2022). Diversos autores experimentaron con estas condiciones en el laboratorio para conocer las variables que influyen en el insecto en cada estadio de su desarrollo: huevo, larva, pupa y adulto, entre ellas el fotoperiodo, temperatura, humedad y la densidad de población (Bogdan *et al.*, 2022; Yakti *et al.*, 2022a).

Efecto del fotoperiodo

De acuerdo a Ooninx, Volk, Diehl, van Loon & Belušić, G. (2016), los fotoreceptores localizados en los ojos compuestos de los adultos de *H. illucens* detectan longitudes de onda de 332-535 nm, con una mayor sensibilidad a 504 nm, lo que sugiere que el insecto tiene una visión que le permite contrastar los objetos que se encuentran a su alrededor. El conocimiento de estas características ayuda en la comprensión de su comportamiento ante una fuente lumínica.

Por otro lado, para la cría masiva, se han evaluado diferentes fuentes lumínicas que estimulan la reproducción como las lámparas de haluro metálico, fluorescentes, halógeno y LED (Klüber, Bakonyi, Zorn & Rühl, 2020; Liu, Najar-Rodríguez, Minora, Hedderley & Moreld, 2020; Schneider, 2019). Para comprobarlo, Heussler *et al.* (2018) mantuvieron a los adultos en jaulas y expuestos a la luz de tres tipos de lámparas: LED, fluorescente y de halógeno en un fotoperiodo de 16:8 luz:oscuridad y midiendo el espectro de cada una: para LED 400-700 nm discontinua con un pico de 438 nm; fluorescente con longitud de onda en un rango de 311-711 nm discontinua con picos en 430, 541 y 612 nm y por último la luz de halógeno con longitud de onda de 600-800 nm y continua. De acuerdo a sus resultados, a excepción de la luz de halógeno, la iluminación estuvo dentro del espectro visible de *H. illucens*, por consiguiente el efecto de su experimento en la reproducción, fue que las moscas bajo la luz LED, ovipositaron masillas de huevos de 2.3 mg seguido de la luz fluorescente con 2.1 mg y en la luz de halógeno con 1.9 mg y un menor periodo de tiempo (9 d) comparado con 11 d obtenidos con la luz fluorescente y de halógeno. En otro experimento, Liu *et al.* (2020) usaron una lámpara de halógeno; una combinación de LED con fluorescente; haluro metálico y finalmente LED sola, todas con un fotoperiodo de 12:12 luz:oscuridad y la mayor tasa de reproducción de un 90% y 91% de huevos fértiles fue sólo con la luz LED seguida de las lámparas de halógeno (con un 25% de reproducción y 15% de huevos fértiles) y la combinación de LED con fluorescente (10% de reproducción y 5% de huevos fértiles). A su vez, los autores midieron la longitud de onda de cada iluminación para relacionarlo con el espectro visible de *H. illucens* (300-650 nm), y vieron que el 95% de la luz LED es visible para ellas; LED con fluorescente un 90%; haluro metálico un 73% y las lámparas de halógeno un 22 %. Estos resultados demuestran que existe una relación entre el tipo de iluminación con la reproducción y fertilidad del insecto, siendo mayor cuando la longitud de onda coincide con el espectro visible de las moscas.

La variación en el tiempo del fotoperiodo también influye en la reproducción de *H. illucens*. En el estudio realizado por Hoc, Genva, Fauconnier, Lognay, Francis & Caparros-Megido (2019) se modificaron los periodos de luz:oscuridad a 2:22, 6:18, 12:12 y 18:6 h con una lámpara LED (380-780 nm). Por consiguiente, la variable del estudio fue la oviposición, al medir la cantidad de huevecillos cada 4 d, observaron que la mayor oviposición

es a los 3 d con fotoperiodos de 12:12 y 16:8 h, a diferencia de los 6 d con 2:22 y 6:18 h. Por otra parte, la cantidad de huevos ovipositados es de 4 g con fotoperiodo de 12:12 h y aumenta a 7 g a partir de fotoperiodos de 6:18 h y la fertilidad en mg de huevos por hembra fueron de 13 mg con un fotoperiodo de 2:22 h y a partir de 6:18 h en adelante aumentó a 22 mg por hembra. Lo anterior indica que el periodo de iluminación para la crianza masiva de adultos de *H. illucens* tiene que ser mayor a 6 h de luz.

Efecto de la temperatura

Addeo *et al.* (2021) reportan que la temperatura en *H. illucens* también es un factor importante para la reproducción de los adultos y el desarrollo de las larvas. Al observarlos en un invernadero y exponerlos a una temperatura inicial de 30 °C, 60% de humedad relativa (HR) y un fotoperiodo de 10:14 luz:oscuridad. Para evaluar el rango de temperatura de crianza, tomaron aleatoriamente 10 adultos que introdujeron en un recipiente y en cuya parte inferior colocaron un plato de aluminio adaptado para generar gradientes de temperatura entre 15-60 °C, posteriormente midieron la variación de la temperatura. Inicialmente a los insectos, los dejaron en el centro del plato, con la intención de que sobrevolaran durante 20 min y anotar el grado de temperatura en el que permanecieron. En su experimento consideraron el sexo, edad y tamaño de los adultos, analizaron la media del perfil de temperatura en la que se posaron y sus resultados fueron que los adultos de mayor peso (≥ 62 mg) se mantuvieron en una temperatura de 32 °C al primer día de emerger, y 7 d después menores de 17 °C. Los de menor peso (≤ 35 mg) se quedaron en el sitio de 20 °C en el primer día que emergieron y a los 7 d posteriores en 17 °C. En su investigación citan que el insecto va hacia un microclima en el que pueda sobrevivir y reproducirse, e influye el peso y la edad. Por lo que en síntesis los rangos son de 20-32 °C al primer día de emerger, pero disminuyen a 17-20 °C en el transcurso de 7 d. y a 22 °C conservan una mayor humedad en el cuerpo.

En otro estudio realizado por Shumo *et al.* (2019), examinaron el efecto de diferentes temperaturas en el desarrollo larval, la reproducción y la longevidad de *H. illucens*, para ello colocaron dos grupos de larvas en dos diferentes sustratos (estiércol de vaca y bagazo de cebada), para evaluar su desarrollo lo hicieron en incubadoras con una humedad del 70% y un fotoperiodo de 12:12 luz:oscuridad a temperaturas de 15, 20, 25, 30 y 35 °C; las larvas alimentadas con bagazo de cebada se desarrollaron más rápido, que las alimentadas con estiércol de vaca, e iniciaron su etapa de pupa en un tiempo máximo de 206 d a 15 °C, disminuyendo de 96, 32, 24 y 29 d a 20, 25, 30 y 35 °C, respectivamente. En cuanto al peso de las pupas, registraron que de las larvas alimentadas con bagazo de cebada al transformarse en pupas eran más pesadas y el menor peso fue de 128 mg al exponerse a 15 °C, con un incremento de 132, 153 y 156 mg a 20, 25 y 30 °C respectivamente, por lo que la temperatura óptima para un mayor peso de las pupas se situó entre los 25-30 °C, y a 35 °C

disminuyó a 137 mg. El tiempo de desarrollo de las prepupas también se redujo con el aumento de la temperatura, de 150, 61, 22, 13 y 17 d a 15, 20, 25, 30 y 35 °C, respectivamente. En cuanto a la longevidad de los adultos, reportan que viven más tiempo a temperaturas más bajas, con un máximo de 14 d a 15 °C y un decremento de 12, 10, 9 y 7 d a 20, 25, 30 y 35 °C, respectivamente. Sin embargo, aunque viven más tiempo a temperaturas bajas, la fertilidad baja al ovipositar, de 1,230, 503, 422 y 238 huevecillos por hembra a 35, 30, 25 y 20 °C, respectivamente. Los resultados de los autores citados indican que en el bagazo de cebada las larvas se desarrollaron de larva a pupa entre 24-30 d y de pupa a adulto de 12-17 d, en un rango de temperatura entre 25-30 °C, y la duración de su vida adulta < 9 d a temperaturas superiores a los 25 °C por deshidratación del insecto, sin embargo, la mayor fecundidad (500-1,230 huevecillos por hembra) se registró entre los 25-30 °C, a una temperatura cercana a los 25 °C y en equilibrio la longevidad del insecto con la fertilidad.

Por su parte, Chia *et al.* (2018) evaluaron el efecto de la temperatura en las diferentes etapas de vida de *H. illucens* al utilizar incubadoras acondicionadas a un 70% de HR y un fotoperiodo de 12:12 luz:oscuridad a temperaturas de 10, 15, 25, 30, 35, 37 y 42 °C. Por consiguiente, en una jaula con 350 hembras fecundadas, y posterior a su oviposición, seleccionaron aleatoriamente 300 huevos que introdujeron en incubadoras hasta su eclosión, para tener en cuenta el tiempo y porcentaje de huevos eclosionados. También tomaron al azar 300 larvas neonatas y las colocaron en un recipiente con dieta artificial formulada con malta, maíz y almidón, a distintos grados de temperatura hasta llegar a los 5 °C, para evaluar el tiempo de desarrollo y porcentaje de sobrevivencia. En el estadio de prepupa fueron depositadas en recipientes con aserrín seco y tomaron nota del tiempo que tarda su transformación en pupa y su tasa de sobrevivencia. Por último, las pupas estuvieron expuestas a cada una de las temperaturas antes citadas durante 30 d y se anotó el tiempo que tardaban en emerger como adultos, así como el sexo y el peso. Otros resultados fueron que a los 15 °C los huevos tardaron 14 d en eclosionar, pero al aumentar la temperatura disminuía de 9, 5, 4, 3 y 2 d a 20, 25, 30, 35 y 37 °C, respectivamente.

En cuanto al tiempo en pupar, fue de 85 d a 15 °C disminuyendo el periodo con el aumento de temperatura, en el rango de 30-37 °C se mantuvo en 12 d. Finalmente, para llegar de pupa a adulto, los autores registraron 38 d a 15 °C. En contraste con esto de 20-25 °C la longevidad es mayor (12-15 d) al igual que su fertilidad.

Los estudios mencionados sugieren que la temperatura tiene un efecto en la cría masiva de *H. illucens*, ya que su control tiene impacto en el crecimiento y sobrevivencia del insecto, a los 4 d y a 30 °C registraron la eclosión del huevo con una tasa de sobrevivencia mayor al 80%; de 25-35 °C el ciclo de

desarrollo de las larvas a prepupa fue de 12-14 d; en el caso de las prepupas a adulto, a 25 °C la duración fue de 12 d y de pupa a adulto en 25-35 °C para un >70% de emergencia de 5-8 d. Finalmente, los adultos deben estar en temperaturas cercanas a los 25 °C para equilibrar el tiempo de vida necesarios para su reproducción de 10 d y una fertilidad mayor a 500 huevecillos por adulto. A más de 25 °C se aumenta la fertilidad, mayor a 1,000 huevos pero la longevidad es menor a 7 d, disminuyendo las probabilidades de que suceda la reproducción, lo que es un paso clave para criar al insecto de forma masiva.

Efecto de la humedad

Varios estudios muestran que el ciclo de vida de *H. illucens*, al igual que el de otros dípteros, requiere de condiciones controladas de humedad para su reproducción y con el fin de determinar cómo influye esta variable en todas las etapas de la vida del insecto. Holmes, Vanlaerhoven & Tomberlin (2012) en su trabajo de investigación colocaron masillas de aproximadamente 1,520 huevecillos en bandejas de plástico y a niveles de HR de: 25, 40, 50, 60 y 70%, ésta última como control. Los recipientes con los huevecillos se mantuvieron a 27 °C y un fotoperiodo de 12:12 luz:oscuridad. Los parámetros de lectura fueron el tiempo transcurrido para la eclosión y el porcentaje de huevecillos eclosionados. Para contar los adultos emergidos de las pupas, criaron larvas en diferentes condiciones de humedad (25, 40 y 70% HR) a 25 °C y un fotoperiodo de 14:10 luz:oscuridad hasta llegar a la etapa prepupal. Para este experimento, también consideraron el periodo de desarrollo de larva a pupa, número de adultos emergidos y su longevidad. Como resultado, el tiempo de eclosión de los huevos fue de 5, 4, 2, 3 y 3 d correspondientes a 25, 40, 50, 60 y 70% de HR; el porcentaje de huevos eclosionados fue de 9, 20, 38, 74 y 86% para los mismos niveles de HR. Las prepupas y pupas se desarrollaron en un lapso de 10 d a 25% HR y 9 d a 40 y 70% HR. La mortalidad registrada para las prepupas fue de 62, 26 y 3% y el de las pupas de 65, 23 y 2% para 25, 40 y 70% de HR. Finalmente, el número de adultos que emergió fue de 16, 59 y 93% con una longevidad de 5, 7 y 8 d para 25, 40 y 70% de HR. Estos resultados son consistentes con los de Addeo *et al.* (2021), Shumo *et al.* (2019) y Chia *et al.* (2018) quienes refieren que a una humedad mayor a 60% las eclosiones son mayores a 70% y el porcentaje de pupas vivas, entre el 40-60% y un 70% la longevidad de los adultos emergidos.

Estudios más recientes, como el caso de Cheng, Chiu & Lo (2017) evaluaron el contenido de humedad (%) en la alimentación de las larvas de *H. illucens*. Para ello, alimentaron a las larvas con dos mezclas de residuos de comida: una compuesta por restos de verduras, café y hojas de té; otra mezcla de restos de comida proveniente de escuelas, hoteles y hospitales. Ambas dietas con diferentes niveles de: 70, 75 y 80% y se mantuvieron a una temperatura constante de 35 °C. Como resultado, las dietas con 70 y 75%, disminuyeron este valor a 50% después de 10 d por el contrario la dieta con un

80% se mantuvo estable en el mismo periodo de tiempo. En cuanto a los días para su transformación en prepupa fueron entre 15-19 d y 70%, 12-17 d, 75% y 12-14 d, 80%. Bekker *et al.* (2021) estudiaron el efecto de la humedad del alimento en el peso de las larvas y el tiempo de desarrollo a prepupa con una dieta basada en alimento para pollo con 45, 55, 65 y 75% de humedad y una temperatura constante de 28 °C. En este, se registró el mayor peso seco en larvas (110 mg) a 75% en comparación con los 85 mg obtenidos a 45 y 55%. En cuanto al tiempo de desarrollo a prepupa, en todos los tratamientos el rango fue de 13-19 d. En otro experimento realizado por Khairuddin, Ghafar & Hassan (2022) la humedad fue de 60, 70 y 80%, en una mezcla de residuos vegetales, y estas cantidades se aplicaron a los residuos de alimentos de cocina; con resultados de un máximo de peso húmedo de 400, 450 y 490 mg a 60, 70, 80% en los residuos vegetales y en los residuos de comida de cocina de 490 con 60 y 70% y 550 mg con un 80%. El mayor peso, con los residuos vegetales se manifestó a los 10-11 d y un 80%, 14 d 70% y 16 d 80%; con respecto a los residuos de cocina, el mayor peso a los 9 d con un 80%, 10 d 70% y de 11-12 d 60%. Palma *et al.* (2018), utilizaron residuos de cáscaras de almendra y diferentes humedades: 47.5, 52.5, 57.5, 62.5 y 67.5%, y los pesos de las larvas de 57, 66, 80, 75 y 86 mg. En una investigación similar, Dzepe, Nana, Fotso, Tchuinkam & Djouaka (2020), a las larvas les dieron alimento comercial para pollos y la humedad varió de 50, 60, 70 y 80%; por lo que el peso de las larvas fue de 170, 190, 140, 120 mg para cada humedad y el desarrollo a prepupa de 12, 13, 16 y 18 d. Sus estudios muestran que las larvas requieren de una humedad cercana al 60% e independiente de la dieta para desarrollarse en un periodo máximo de 16 d, ya que cuando la humedad es mayor, el ciclo puede prolongarse hasta 19 d, sin embargo, con este porcentaje de humedad, el peso de las larvas superó los 110 mg.

Como se mencionó el desarrollo del insecto depende de la humedad en el ambiente. En la fase larval para obtener el mayor peso en el menor tiempo, el rango de humedad en la dieta fue entre 60-80% en su estadio como larva y 14 d y su peso en seco mayor a 190 mg. En el adulto fue necesario un 70% de humedad para una longevidad de 7 d y 93% para emerger como adultos. Los resultados de estos estudios son considerados para diseñar los métodos de crianza masiva de este insecto.

Efecto de la densidad de la población

Se conoce que durante la crianza de *H. illucens* las larvas puestas en recipientes con diferentes fuentes de alimentación, se vieron afectadas en su desarrollo por escases de nutrientes o bien el consumo de alimento limitado por un exceso de larvas en el recipiente. Ejemplo de esto es el estudio realizado por Yakti *et al.* (2022b) en el que alimentaron a 4.2 larvas cm⁻² y 6.3 larvas cm⁻² con una mezcla de alimento comercial para pollos y trigo a 32°C y 66 % de humedad y las colocaron en recipientes de diferentes tamaños: 193.72, 465.8, 963.6 y

2,060 cm², diario se tomó la lectura del peso de las larvas y la temperatura del recipiente. En el área de 193.72 cm², en 8 d las larvas tuvieron un peso de 160 mg que varió entre 170-180 mg cuando se utilizaron los frascos con las áreas mencionadas, y en cuanto a la densidad de 4.2 larvas cm⁻² el peso a los 8 d fue de 170 mg y para 6.3 larvas cm⁻² de 180 mg. Respecto a la temperatura de los recipientes, en la densidad de 6.3 larvas cm⁻² a los 7 d fue de 35 °C que disminuyó 2 °C después de 24 h y en la densidad de 4.2 larvas cm⁻² a los 7 d fue de 32 °C y después de 24 h aumentó 7 °C. En una escala, después de 8 d, los recipientes de 193.72 y 465.8 cm² a 34 °C, 963.6 cm² a 35°C y 2,060 cm² a 40 °C.

En otro estudio Dzepe *et al.* (2020) utilizaron 1, 2, 4, 6, 8 y 10 larvas cm⁻² alimentadas con comida para pollo humedecida al 60% evaluando el peso húmedo y el tiempo de desarrollo. Como resultado, las larvas pesaron 150 mg con la densidad de 1 larva cm⁻², 130 mg con 2 larvas cm⁻², 120 mg para 4-8 larvas cm⁻² y 110 mg con 10 larvas cm⁻². La etapa larval fue de 12, 13, 15, 16 y 18 d para 2, 4, 6, 8 y 10 larvas cm⁻². Por otra parte, Opare, Holm & Esperk (2022), estudiaron el efecto, en conjunto, de la densidad en la población de larvas y la temperatura en el desarrollo del insecto. Para este fin, colocaron larvas en recipientes con 40 g de alimento para perros humedecido al 60% en cámaras climáticas a 23, 27 y 30 °C con 60% de HR y un fotoperiodo de 12:12 luz:oscuridad. Con densidades de 1, 4.8 y 10 larvas cm⁻². En este estudio tomaron en cuenta: la duración del estadio larval, el peso de las prepupas, de las pupas y de los adultos, así como el contenido de aceite en las larvas. Como resultado, la duración de vida de las larvas fue de 17 d para 1 larva cm⁻² a temperaturas de 27 y 30 °C, 23 d para 4.8 larvas cm⁻² a las mismas temperaturas y 24 d para 10 larvas cm⁻². Respecto a las prepupas para densidades de 1 larva cm⁻² pesaron 180 mg a 23 °C y 160 mg a 27 y 30 °C, y en las densidades de población de 4.8 y 10 larvas cm⁻² el peso fue de 130 y 120 mg a 23 °C; las pupas por su parte, pesaron 100 mg a 27 y 30 °C con 1 larva cm⁻², 70 mg y 68 mg con 5 y 10 larvas cm⁻² para las mismas temperaturas; y los adultos pesaron 65, 43 y 38 mg a 1, 5 y 10 larvas cm⁻² a 27 y 30 °C. En cuanto al contenido de aceite, fue de 30, 25 y 23% con 1, 3 y 5 larvas cm⁻² a 27 y 30 °C.

En el caso de los adultos, también existe un efecto de la densidad de la población en la fertilidad y el tiempo de oviposición. Ejemplo de ello es el experimento realizado por Hoc, Noël, Carpentier, Francis & Megido (2019) quienes colocaron 500, 2,500, 4,500, 6,500 y 8,500 adultos m⁻³ en jaulas de 0.09 m³ a 26 °C y 60% de humedad con un fotoperiodo de 12:12 luz:oscuridad y un rango de 1.5 hembras/machos. Los tiempos de oviposición fueron de 11, 16, 15, 16 y 16 d para densidades de 500, 2,500, 4,500, 6,500 y 8,500 adultos m⁻³, con una cantidad de huevos de 0.5, 2.2, 4.6, 7.6 y 9 g para las mismas densidades. En contraste, Park *et al.* (2016) colocaron adultos en jaulas de 10 m³ con una humedad de 60% y 26 °C, densidades de 2,600,

5,200 y 6,500 adultos m^{-3} y como resultado obtuvieron 34.4, 113.6 y 368 g de huevecillos por cada densidad.

Los estudios mencionados sugieren que existe una relación entre el tamaño del recipiente y la densidad de la población con el peso de las larvas, obteniendo valores cercanos a 180 mg con 1-6 larvas cm^{-2} y recipientes entre 465-2,060 cm^2 . Asimismo, se determinó que la densidad poblacional también afecta la duración del ciclo de vida, siendo 17 d con 1 larva cm^{-2} y 24 d con 10 larvas cm^{-2} , por lo que al aumentar la cantidad de larvas en un recipiente, aumenta la duración del ciclo. El contenido de aceite también se vio afectado, con un máximo rendimiento de (30.25%) a una densidad de 1 larva cm^{-2} , pero el valor disminuye al aumentar el número de larvas. Por último, se observó que con poblaciones mayores a 4 larvas cm^{-2} la temperatura puede llegar a aumentar hasta 39 °C si no es regulada. En las moscas adultas, las dimensiones de las jaulas de crianza y la densidad de la población influyen en la fertilidad. El menor periodo de oviposición (11 d) se registró con 500 adultos m^{-3} , y a mayor densidad poblacional 16 d. Mientras que para la fertilidad, determinaron que a partir de 6,500 adultos m^{-3} se alcanzaron 7.6-9 g de huevecillos en una jaula de 0.09 m^3 y 368 g en una jaula de 10 m^3 . Aunque en estos experimentos varió la dimensión de las jaulas, a mayor densidad de población, mayores masas de huevecillos. Por lo anterior, para la producción masiva del insecto son necesarias de 1-4 larvas cm^{-2} en recipientes mayores a 465 cm^2 , para obtener larvas >180 mg y un desarrollo en menos de 15 d. Finalmente, para la reproducción de adultos son necesarias jaulas de 10 m^3 con poblaciones cercanas a 6,500 adultos m^{-3} .

EFFECTO DEL CONTENIDO NUTRIMENTAL DE LA FUENTE DE ALIMENTACIÓN EN EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE *Hermetia illucens*

Las larvas de *H. illucens* son conocidas por su capacidad para alimentarse de una amplia variedad de residuos orgánicos, incluso restos de frutas, vegetales y excrementos de animales (Alifian, Sholikin, Evvyernie & Nahrowi, 2019; Arnone *et al.*, 2022; Bortolini *et al.*, 2020) estos autores estudiaron la composición de los desperdicios mencionados para conocer la relación entre los carbohidratos y las proteínas con la acumulación de lípidos, así como la composición de los ácidos grasos presentes en el aceite extraído de las larvas y vieron que es posible aumentar la cantidad de aceite, así como el perfil de los ácidos grasos. Ejemplos de autores que utilizaron diversas dietas para evaluar el efecto en el peso de las larvas, así como el contenido de aceite y el perfil de ácidos grasos son los realizados por Meneguz *et al.* (2018) quienes utilizaron 4 sustratos: una mezcla de frutas y verduras, una combinación de frutas, residuos de cervecera y residuos de viñedo. Georgescu, Struți, Păpuc, Cighi & Boaru (2021) utilizaron una mezcla de trigo, alfalfa y maíz como control y otras cuatro dietas con el mismo contenido proteínico (13.5%) y para variar el contenido energético adicionaron harina de maíz en 40, 60 y 80%, siendo de

2,174.5, 2,611 y 3,044.5 kcal kg^{-1} correspondiente a cada dieta. Bava *et al.* (2019) utilizaron dietas que contenían comida para pollo como control, residuos de soya, bagazo de destilados de maíz y bagazo de cerveceras. Danieli, Lussiana, Gasco, Amici & Ronchi (2019) utilizaron alfalfa, maíz, y trigo: el salvado, la sémola y los tallos, la harina de cebada en tres combinaciones que consistieron en cuatro tipos de dieta: la de control con (alfalfa, maíz y salvado de trigo), segunda con un incremento del 15% en el contenido de carbohidratos no fibrosos, tercero con un aumento del 15% en carbohidratos fibrosos y finalmente una con 30% de proteína adicional. Los resultados de estos experimentos se resumen en el Cuadro I.

Los mecanismos de las larvas para sintetizar o acumular ácidos grasos han sido poco estudiados. Uno de estos trabajos es el realizado por Hoc *et al.* (2020) quienes alimentaron a las larvas de *H. illucens* con harina de lino y alimento para pollo mezclados con agua deuterada (D_2O) al 40% con la finalidad de encontrar las rutas metabólicas del insecto. Como resultado, encontraron que los ácidos grasos saturados (AGS) sintetizados por el insecto son C10:0, C12:0 y C14:0 debido a la presencia de la acetil-CoA carboxilasa y la ácido graso sintasa, a diferencia de C16:0 y C18:0 en que una parte de estos ácidos grasos es bioacumulada a partir de la alimentación y la otra sintetizada, como es el caso de C18:0 que proviene de una elongación catalítica de C16:0. De igual forma, los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) la mayoría presentes en las larvas son C18:1 n9 que al encontrarse en forma natural, en lugar del D_2O , es indicativo de que este ácido graso fue bioacumulado. En otro estudio realizado por Giannetto *et al.* (2020) identificaron a los genes presentes en el metabolismo de los lípidos en las larvas, y encontraron la acetil-CoA carboxilasa y la carboxil transferasa que participan en la biosíntesis de los ácidos grasos.

Los resultados mencionados, sugieren que las larvas de *H. illucens* tienen la capacidad de sintetizar los AGS C12:0, C14:0 y C16:0 además de los ácidos grasos insaturados (AGI) C18:1 n9 y C18:2 n6 debido a que estos ácidos grasos no estaban presentes en las dietas, pero sí en un 10-52% en los aceites extraídos. Adicionalmente, se ha determinado que existen enzimas que permiten la síntesis de los ácidos grasos como lo son la acetil-CoA carboxilasa, el ácido graso sintasa y la carboxil transferasa. Por lo anterior, existe evidencia de que, durante la crianza masiva de este insecto, es posible modular el contenido y composición de los aceites que están en las larvas por medio de las dietas. Los AGS que se encuentran en mayor proporción en el aceite de las larvas son C12:0 y C16:0, mientras que el principal ácido graso poliinsaturado (AGPI) es el C18:1 n9.

EFFECTO DE LA FUENTE DE ALIMENTACIÓN EN EL MICROBIOMA DE LAS LARVAS DE *Hermetia illucens*

En la alimentación de los insectos participan diferentes bacterias que se encuentran en el tracto digestivo, estos

Cuadro I. Resumen del contenido de ácidos grasos en las larvas de *H. illucens*.

Sustratos	Contenido de aceite en el sustrato (%)	Ácidos grasos principales en la dieta	Peso de las larvas (mg)	Contenido de aceite en las larvas (%)	Ácidos grasos principales en las larvas	Referencias
Mezcla de frutas y verduras	2	C18:2 n6 (57.5%) C16:0 (18.5%) C18:3 n3 (11%)	150	26	C12:0 (52%) C16:0 (14%) C14:0 (10%) C18:1 c9 (8%)	Meneguz <i>et al.</i> (2018)
Mezcla de frutas	3	C18:2 n6 (33%) C18:1 c9 (21%) C18:3 n3 (17%) C16:0 (19%)	180	41	C12:0 (57%) C16:0 (13%) C14:0 (10%) C18:1 c9 (9%)	
Residuos de cervecería	9	C18:2 n6 (55.5%) C16:0 (25%) C18:1 c9 (10%)	120	30	C12:0 (32%) C18:2 n6 (23%) C16:0 (20%)	
Residuos de viñedo	8	C18:2 n6 (63%) C18:1 c9 (18.5%) C16:0 (10%)	160	32	C12:0 (35%) C16:0 (19%) C18:2 n6 (18%) C18:1 c9 (12%)	
Trigo, alfalfa y maíz (control)	3	nr	242	34	C16:0 (18 %) C18:2 n6 (4%) C18:1 c9 (7%)	Georgescu <i>et al.</i> (2021)
Harina de maíz 40% (2174.5 kcal kg ⁻¹)	3	nr	276	37	C16:0 (10 %) C18:2 n6 (8.5%) C18:1 c9 (5%)	
Harina de maíz 60% (2611 kcal kg ⁻¹)	3	nr	298	40	C16:0 (14%) C18:2 n6 (13%) C18:1 c9 (6.5%)	
Harina de maíz 80% (3044.5 kcal kg ⁻¹)	3	nr	313	41	C16:0 (20%) C18:2 n6 (18%) C18:1 c9 (9%)	
Comida para pollo	4	nr	230	25	nr	Bava <i>et al.</i> (2019)
Residuos de soya	17	nr	140	31	nr	
Bagazo de destilados de maíz	11	nr	200	30	nr	
Bagazo de cervecería	3	nr	98	23	nr	

Cuadro I. Resumen del contenido de ácidos grasos en las larvas de *H. illucens* (continuación).

Sustratos	Contenido de aceite en el sustrato (%)	Ácidos grasos principales en la dieta	Peso de las larvas (mg)	Contenido de aceite en las larvas (%)	Ácidos grasos principales en las larvas	Referencias
Alfalfa, maíz y salvado de trigo (control)	4	C18:2 n6 (47%) C16:0 (24%) C18:1 c9 (20.5%)	290	33	C12:0 (55%) C16:0 (12%) C18:2 n6 (8%)	Danieli <i>et al.</i> (2019)
Adición de 15% de carbohidratos no fibrosos	4	C18:2 n6 (47%) C16:0 (32%) C18:1 c9 (20.5%)	290	47	C12:0 (55%) C16:0 (12%) C18:2 n6 (8%)	
Adición de 15% de carbohidratos fibrosos	4	C18:2 n6 (47%) C16:0 (24%) C18:1 c9 (20.5%)	290	33	C12:0 (63%) C16:0 (12%) C18:2 n6 (4%)	
Adición de 30% de proteína	4	C18:2 n6 (47%) C16:0 (24%) C18:1 c9 (20.5%)	290	33	C12:0 (55%) C16:0 (12%) C18:2 n6 (8%)	
Pan	5.3	C18:1 n9 (42%) C18:2 n6 (36%)	137	57.8	C12:0 (52%) C16:0 (13%) C18:1 n9 (12%)	Ewald Vidakovic, Langeland, Kiessling, Sampels & Lalander (2020)
Residuos de alimentos	20.7	C18:1 n9 (37%) C16:0 (23%) C18:2 n6 (18%)	191	41	C12:0 (40%) C16:0 (16%) C18:1 c9 (19%) C18:2 n6 (10%)	
Pescado	22.5	C18:1 n9 (41%) C18:2 n6 (17%) C16:0 (12%)	89	47	C12:0 (29%) C18:1 c9 (25%) C16:0 (13%) C18:2 n6 (13%)	
Ostiones frescos	7	C22:6 n3 (23%) C16:0 (18%) C20:5 n3 (12%)	235	33	C12:0 (52%) C16:0 (12%) C18:1 c9 (10%)	

nr: no reportado.

microorganismos forman parte de su microbioma intestinal que ayuda a digerir biomoléculas como la xilosa, los almidones y las pectinas (Arora *et al.*, 2022; Chen *et al.*, 2020). En el caso de *H. illucens* se han estudiado los cambios en el microbioma intestinal de este insecto en relación con su alimentación. En un estudio realizado por Klammsteiner *et al.* (2021), usaron cajas de plástico, para depositar larvas de primer instar, a las que suministraron 3 tipos de alimentos: alimento para pollo, residuos de poda de pasto y una mezcla de frutas/verduras que contenían una baja carga microbiana, con el fin de evaluar el desarrollo de las larvas y monitorear la carga microbiana asociada extrajeron el DNA de su intestino a los 0, 3, 9 y 15 d para su posterior secuenciación. El resultado fue la presencia de *Morganella* sp. (Gammaproteobacteria), *Dysgonomonas* sp. (Bacteroides), y *Enterococcus* sp. (Basilli), sin embargo, en el transcurso de los días, las bacterias que aumentaron fueron:

la Actinobacteria con un (25%) y la Gammaprotobacteria (20%) la clase Bacteroides a los 3 d un (25%) y a partir de los 9 d registraron una disminución del (25%); los géneros con mayor presencia fueron *Morganella* sp., *Actinomyces* sp., *Sphingobacterium* sp., y *Dysgonomonas* sp., que disminuyó sin encontrarse diferencias en las poblaciones del microbioma intestinal por la alimentación suministrada, pero determinaron que las bacterias de mayor relevancia son *Actinomyces* sp., por estar relacionada con la degradación de lignina y quitina, diferente a *Dysgonomonas* sp., que participa en la degradación de la lignocelulosa. Bruno *et al.* (2019) alimentaron a las larvas con una dieta estándar, alimento para peces y una mezcla de frutas/vegetales, para analizar su intestino medio por medio de extracción de RNA para su posterior secuenciación. Estos autores dividieron el intestino medio en tres regiones: anterior, media y posterior, y encontraron que en cada región había

diferentes bacterias. En el caso de la dieta estándar y la formulada a base de frutas y verduras predominaban *Flavobacterium* sp., en la parte anterior/media y *Dysgonomonas* sp., en la parte posterior, sin embargo, en la dieta a base de alimento para peces en la zona anterior/media estaban *Providencia* sp., *Comamonas* sp., *Anaerococcus* sp., *Bacilli* sp., y en la parte posterior solo *Providencia* sp. Otro ejemplo de la variación en el microbioma lo registraron Klammsteiner *et al.* (2021), quienes, al suministrar a las larvas residuos de alimentos provenientes de comedores comunitarios y alimento para pollos, encontraron la presencia de *Dysgonomonas* sp., en el inicio del experimento con ambas dietas. Sin embargo, en el caso de los residuos de alimentos en el transcurso de los días aumentó *Morganella* sp., pero no ocurrió con el alimento para pollos, en este se mantuvo *Dysgonomonas* sp., y aumentó *Actinomyces* sp. En otro estudio, Cifuentes *et al.* (2020) registraron el cambio de microbioma en las larvas de *H. illucens* alimentadas con alimento para pollos y vieron que no hubo modificación significativa de los géneros *Morganella* sp., *Klebsiella* sp., *Providencia* sp., *Enterobacter* sp., *Enterococcus* sp., *Bacillus* sp., *Lachnospiraceae* sp., *Actinomyces* sp., y *Dysgonomonas* sp. Por lo que plantearon que estas bacterias podrían ser parte del microbioma con más presencia en el intestino, ya que durante el desarrollo de las larvas tampoco varió su abundancia.

También se ha investigado la función de algunas bacterias durante la alimentación. Uno de los estudios es el realizado por Jiang *et al.* (2019), quienes observaron como parte del microbiota de las larvas de *H. illucens* la presencia dominante de *Bacteroidetes* sp., *Dysgonomonas* sp., *Ureibacillus* sp., y *Bacillus* sp. Adicionalmente en un análisis de genes metabólicos encontraron *nrfA*, que convirtió los nitratos a nitritos, así como *bglX*, *korA*, *korB*, *sucC*, *sucD* y *mdh* relacionados con el ciclo de Krebs. Estos genes son los mismos que tienen *Dysgonomonas* sp., y *Ureibacillus* sp., bacterias asociadas a la degradación de la materia orgánica. Además, en un estudio realizado por Kariuki *et al.* (2023), se expusieron larvas de *H. illucens* a dietas abundantes en lignocelulosa, contenida en los residuos del lirio acuático, el bagazo de cervecería y el alimento para pollo, y cada uno con un porcentaje en contenido de fibra de 24, 20 y 6% respectivamente. Por ejemplo, en el alimento para pollos predominaron las bacterias *Myroides* sp., y *Weeksela* sp., en el bagazo de cervecería y el lirio acuático una mayor abundancia de las bacterias *Dysgonomonas* sp., y *Bacteroides* sp. Los autores observaron que había una relación entre el contenido de fibra y las condiciones anaeróbicas dentro del intestino, ya que hubo una disminución en estas condiciones anaeróbicas cuando las larvas eran alimentadas con dietas de mayor contenido de fibra. Por lo que *Bacteroides* sp., y *Dysgonomonas* sp. (anaerobios), son dominantes en las dietas con mayor contenido de fibra y *Sphingobacterium* sp. (aerobio), en las de menor fibra. Estos resultados son similares a los obtenidos por Tegtmeyer *et al.* (2021), porque en las larvas

alimentadas con comida para pollo están presentes *Morganella* sp., *Proteus* sp., *Providencia* sp., y *Enterococcus* sp., y muy escasa presencia de *Bacillus* sp., debido a la dieta baja en contenido de polisacáridos de cadena larga. En el análisis metagenómico, se hallaron enzimas clave como la xilanasas, 1,4-b-xilosidasa y la peptidoglicano glicosiltransferasa, importantes en la degradación de la lignocelulosa, además de la enzima α -L-arabinofuranosidasa en las dietas con alto contenido de fibra, en coincidencia con Bonelli *et al.* (2020) quienes dieron a las larvas una alimentación estándar de (trigo, alfalfa y maíz) y otra con base en frutas/verduras, para analizar los cambios en el microbioma intestinal al suministrarles carbohidratos fibrosos. El resultado, fue que la mezcla de frutas/verduras contenía 1.4% de almidón, 0.6% de celulosa y la dieta estándar 9.8% de hemicelulosa, 8.5% de almidón y 4.4% de celulosa. Durante su análisis determinaron la presencia de α -amilasa, con una baja actividad bacteriana en la dieta a base de frutas/verduras, así como un transcriptoma el intestino de la larva que se encarga de los procesos biológicos de óxido-reducción, fosforilación y transporte. Yang, Tomberlin & Jordan (2021), alimentaron larvas de 6 d con una dieta control compuesta por trigo, alfalfa y maíz para conocer el efecto del microbioma al retirar el alimento (inanición) por 24 y 48 h y comprobaron que la abundancia relativa de *Actinomyces* spp., *Microbacterium* spp., *Leucobacter* spp., y *Sphingobacterium* spp., aumentó en el grupo en inanición y en el caso de *Enterococcus* spp., disminuyó. Esto es porque *Actinomyces* spp., está relacionada con las enzimas para la degradación de quitina y la materia vegetal. Zhineng, Ying, Bingjie, Rouxian & Qiang (2021) alimentaron a las larvas de *H. illucens* con una combinación de salvado de trigo y soya molida, residuos de comida y una dieta adicionada con tetraciclina, lo que contribuyó a la presencia de *Enterococcus* sp., *Acitenobacter* sp., *Providencia* sp., *Enterobacter* sp., y *Myroides* sp., como los géneros dominantes. En el caso de la dieta a base de salvado de trigo y soya, identificaron a *Sphingobacterium* sp., *Myroides* sp., y *Enterococcus* sp., y en los residuos de comida a *Bacteroides* sp., y *Dysgonomonas* sp., en la dieta con tetraciclina la mayor abundancia se registró para *Dysgonomonas* sp., *Providencia* sp., *Enterococcus* sp., y *Bacteroides* sp. Estos autores refieren que los microorganismos citados son partícipes en los procesos del metabolismo de los polisacáridos: la translación celular, en el transporte de membrana y en el metabolismo de energía. Aumentando la actividad metabólica en la dieta a base de trigo y soya en comparación a las larvas alimentadas con residuos de comida.

En los trabajos citados se dice que la microbiota intestinal en las larvas de *H. illucens* depende del tiempo y la fuente de alimentación suministrada. Las dietas altas en polisacáridos de cadena larga, modifican la composición del microbioma. Por consiguiente la dieta para pollos es la más fácil de digerir, y el microbioma es similar durante el desarrollo de las larvas. Al analizar las funciones de las bacterias, encontraron que la

mayoría se encarga del metabolismo de los carbohidratos, el transporte en membrana y el metabolismo de los aminoácidos, por ejemplo, *Dysgonomonas* sp., participa en la degradación de la celulosa. En conjunto, lo expuesto demuestra la influencia de la composición de la dieta en la microbiota y las enzimas asociadas a las larvas de *H. illucens*, su capacidad para degradar a los polisacáridos de cadena larga y su potencial aprovechamiento para la cría masiva de estas con el fin de obtener el aceite para la producción de biodiésel.

MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ACEITE PARA LA OBTENCIÓN DE BIODIÉSEL

A partir de los trabajos de investigación revisados, de la biomasa seca de las larvas de *H. illucens* se extrae el aceite para producir el biodiésel a través del método Soxhlet con hexano y que da un rendimiento, entre el 30-40% (Alifian *et al.*, 2019; Ishak, Kamari, Yusoff & Halim, 2018; Jung *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2022). Sin embargo, este método requiere de altas cantidades de solvente (relaciones 1:5-1:10 sólido-solvente) y tiempos de extracción de 6-8 h por lo que es importante encontrar alternativas que permitan disminuir este gasto energético (Feng *et al.*, 2019; Gharibzahedi & Altintas, 2022)

En la búsqueda bibliográfica de métodos de extracción de aceite está el trabajo de Saviane *et al.* (2021), quienes aplicaron diferentes métodos en las larvas de la mosca soldado, y fueron los siguientes: a) extracción con éter; b) extracción acuosa a 70 y 100 °C; y c) con etanol, extracción dinámica sólido-líquido con un extractor Naviglio que funciona con ciclos programados de presurización (Naviglio, 2003). Para este último método, el volumen del extractor utilizado fue de 500 cm³ y a prueba diferentes solventes (agua destilada, agua/etanol 50:50 y etanol 96% v/v). Los resultados son: a) con éter 29.5% de aceite; b) con agua entre 24 y 26.5%; y c) con etanol y el extractor Naviglio 96% v/v. En este mismo estudio se utilizó una prensa extractora mecánica de tornillo modelo PC 25 (MIG, S. R. L.) sin solvente que sustrajo 64% de aceite. Estos resultados fueron similares a los reportados por Lee *et al.* (2021) quienes obtuvieron aceite a través del método Soxhlet con hexano y compararon con un extractor mecánico de tornillo a 120 °C, hasta lograr un 37% de rendimiento que superó en un 10% lo que produjo el solvente.

Por otro lado, otros estudios, han propuesto alternativas de solventes para la extracción de aceite como el caso de Smets *et al.* (2021), quienes utilizaron 2-metiltetrahidrofurano (2-MeTHF) y lo compararon con el hexano y extrajeron con Soxhlet, el rendimiento fue de un 40% con hexano y un 43% con 2-MeTHF. Estos autores, atribuyen los resultados a la polaridad de los solventes cuyos coeficientes de partición son de 3.9 y 0.8 respectivamente. A su vez, Ravi *et al.* (2019) emplearon antes estos solventes y el rendimiento fue de un 33% con hexano y un 36% con el 2-MeTHF que los llevó a la conclusión de que la cantidad de aceite extraído se debió a la polaridad del 2-MeTHF que a su vez sustrajo lípidos no polares como la

fosfatidiletanolamina, el fosfatidilinositol y la fosfatidilcolina. Adicionalmente, en la investigación analizaron con la ayuda del software COSMO-RS las propiedades fisicoquímicas de solventes como el etanol, el isopropanol, el metil acetato, el 2-MeTHF, el ciclopentil metil éter, el α -pineno y el d-limoneno, entre otros, por lo que consideraron al 2-MeTHF y al ciclopentil metil éter como sustitutos del hexano para la extracción de aceite. Otro solvente utilizado por Wong *et al.* (2019) fue la mezcla 2:1 etanol:cloroformo con el 41% de rendimiento con la presencia de fosfolípidos y glicolípidos atribuida a la polaridad de los solventes empleados.

Otras técnicas de extracción de aceite, acuden al uso de microondas, como en el caso de Hao, Elias, Aminuddin & Zainalabidin (2021), que al colocar las larvas secas en éter de petróleo y 50% de humedad, variaron la potencia, el tiempo de extracción y la relación sólido/solvente. A su vez, como control extrajeron aceite de larvas secas con éter de petróleo durante 8 h en Soxhlet. Como consecuencia, con la variación de potencia se tuvo un máximo de 30% de aceite con 260 W y un mínimo de 10% con 360 W, en un tiempo de extracción de 30 min (31%) y el mínimo a los 50 min (10%) y con la variación de la relación sólido/solvente obtuvieron un 31% de aceite a 1:15 p/v y 9% con 1:5 p/v. Los autores analizaron a través del método de superficie de respuesta las condiciones óptimas de extracción: 260 W, 31 min y una relación de 1:15 sólido/solvente para 31% de rendimiento máximo de aceite con el uso de microondas. A pesar de lo anterior, con la extracción Soxhlet se tuvo una mayor extracción del (34%), sin embargo, por este método fueron necesarios 105 min. Estos resultados son similares a los de Wang *et al.* (2017) quienes utilizaron éter de petróleo y alcanzaron a obtener 33% de aceite con 500 W, 50 min y una relación 1:15 sólido-solvente.

Su, Nguyen, Bui & Huang (2019), propusieron como método de extracción, la adición de enzimas para una mayor producción de aceite, por funcionar como auxiliares en la degradación de estructuras que rodean al cuerpo graso del insecto, y la posibilidad de migrar más lípidos al solvente. Para el experimento pretrataron 10 g de larvas molidas en agua, diferentes relaciones peso/peso agua:biomasa de 1:1 a 7:1 con 1-7% y distintas proteasas (de *Aspergillus oryzae* y *Bacillus* sp., quimotripsina, bromelaina y papaina) a temperaturas de 30-50 °C durante 1-7 h, posteriormente las maceraron en hexano durante 1 h con una relación de 1:5 p/v, seguida de una filtración para sustraer el aceite. En un ensayo preliminar, con la captación hexánica retiraron un 8% de aceite sin pretratamiento y con la proteasa de *Bacillus* sp., un 18%, respecto a las condiciones óptimas, por lo que la relación de agua:biomasa fue de 4.33:1, 3.85% de proteasa, a 38 °C y 4 h de pretratamiento y un rendimiento del 34%.

A partir de los estudios mencionados, la evidencia de alternativas diferentes a una extracción de aceite con Soxhlet usando hexano

y éter de petróleo, fue el solvente 2-MeTHF con el que se tiene un máximo de aceite del 36% debido a su polaridad para la extracción de ácidos grasos polares, sin embargo, es necesaria la experimentación con otros solventes y sus combinaciones para el mismo propósito en condiciones similares. Por otra parte, enzimas como la proteasa de *Bacillus* sp., funcionó como auxiliar en el pretratamiento de la biomasa de las larvas al aumentar el aceite extraído por degradación de los tejidos que encierran a las moléculas de aceite, lo que favorece su migración al solvente. Finalmente, con el uso de microondas se tuvieron rendimientos similares a los de Soxhlet con solventes, pero con ventajas de reducción del tiempo y la energía. Con lo expuesto sobre los métodos de extracción permitirá solucionar la producción a gran escala de biodiésel a partir de las larvas de *H. illucens* y un menor uso de recursos.

MÉTODOS DE TRANSESTERIFICACIÓN DEL ACEITE DE *Hermetia illucens* PARA LA OBTENCIÓN DE BIODIÉSEL

Es posible obtener biodiésel de las larvas de *H. illucens*, por medio de una reacción de transesterificación, en la que los ácidos grasos presentes en el aceite reaccionan con metanol en un medio alcalino y se transforman en metil ésteres de los ácidos grasos correspondientes (FAME, por sus siglas en inglés). A esta reacción, los investigadores le han realizado diversas modificaciones con el fin de utilizar menor cantidad de metanol, reducir los tiempos de reacción, recuperar el catalizador para su reúso, así como métodos alternativos de transesterificación directa a partir de larvas secas sin necesidad de la extracción previa con solvente.

Uno de estos trabajos es el realizado por Nguyen *et al.* (2018b) quienes propusieron la transesterificación sin extracción y sólo con una mezcla de metanol junto con el hexano en diferentes proporciones para producir biodiésel. A este estudio incorporaron prepupas molidas en una mezcla de metanol, ácido sulfúrico y hexano para observar las condiciones óptimas de reacción y el mayor rendimiento, en una relación molar hexano:metanol 1:2, 12 mL de ácido sulfúrico como catalizador, a 120 °C y en 90 min, el resultado fue de un 94%. En el experimento comprobaron que es posible reducir el tiempo para producir el biocombustible al eliminar la extracción previa con hexano. Sin embargo, al comparar estos resultados con la transesterificación convencional, vieron que la cantidad de metanol utilizado aumentó 14 veces, así como la cantidad de ácido sulfúrico 281 veces. En otro estudio Nguyen, Nguyen, Liang, Su & Wang (2020) propusieron una alternativa más, para la transesterificación directa a partir de larvas secas (biomasa), con 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), un solvente de naturaleza alcalina, que además de extraer aceite de las larvas secas, cataliza la reacción de transesterificación. Adicionalmente, es posible separarlo por medio del burbujeo de CO₂ para su reúso. Por consiguiente, determinaron que con la relación DBU:biomasa 16 mL g⁻¹ el rendimiento máximo fue de un (87%), y una

relación metanol:biomasa de 8 mL g⁻¹ a 110 °C, o sea que a mayores temperaturas la cantidad de biodiésel disminuye de 96 a 90%. Por otra parte, el tiempo de reacción fue de 60 min, con una disminución del 80% y a mayores tiempos un exceso de metanol provoca reacciones secundarias. En el caso del catalizador, reutilizaron 10 veces el DBU separado sin afectar el rendimiento de la reacción.

Otra posibilidad de obtener biodiésel a partir del aceite de *H. illucens* es con el uso de enzimas, He *et al.* (2022) utilizaron lipasas comerciales como catalizador para la reacción de transesterificación, por intervenir en la hidrolización de los triglicéridos a ácidos grasos. Como resultado, reportaron un rendimiento del 98% de biodiésel utilizando la combinación de la lipasa comercial Eversa[®] con la lipasa SMG1. Las condiciones fueron 1:3 molar aceite:metanol, 50 U g⁻¹ de cada enzima a 25 °C. Con esta reacción se logró la máxima conversión a biodiésel en 8 h, esto señala que a temperaturas superiores a 30 °C se da una desactivación enzimática. Por otra parte, en un estudio similar Nguyen *et al.* (2018a), experimentaron con el metil acetato como sustituto del metanol y como un reactivo por funcionar como aceptor de acilos y a la lipasa de *Candida antarctica* como catalizador enzimático, así, la conversión máxima fue de 97% con un 18% de lipasa, una relación molar metil acetato:aceite 15:1 a 39 °C, y un tiempo de reacción de 12 h, al catalizador lo reusaron 20 veces y hubo un rendimiento del 96%.

Una alternativa más, es el uso de una catálisis heterogénea, ya que el catalizador se puede recuperar y reutilizar. Ejemplo de esto es la investigación de Kathumbi, Home, Raude & Gathitu (2022) quienes llevaron a cabo la reacción de transesterificación, una catálisis heterogénea y dos combinaciones: CaO impregnado con ácido cítrico (CH₃COOH) y la coprecipitación de NaOH con ácido cítrico. Estos autores colocaron en un reactor 4 g de aceite con 1% de H₂SO₄ como medio ácido, metanol a una relación de 8:1 con respecto al aceite y una carga de catalizador de 2.5% a 75 °C por 40 min. El máximo de conversión de biodiésel fue de un 93% con el catalizador de coprecipitación de NaOH y 130% de CH₃COOH calcinados a 600 °C, pero con el soporte de CaO sin adición de CH₃COOH la conversión fue de 92% y con el catalizador de CaO impregnado con 66.5% de CH₃COOH y calcinado a 600 y 900 °C el rendimiento fue de 91%. Por medio de la metodología de superficie, estos autores vieron que el catalizador óptimo fue el preparado por coprecipitación de NaOH con 80% de CH₃COOH a 80°C y la posterior calcinación a 600 °C por 4 h. Asu vez, este catalizador se puede reutilizar 4 veces, reduciendo el rendimiento de la reacción en un 10%.

También se realizó la reacción sin catalizador, como es el caso de Jung *et al.*, (2022), al comparar la obtención de biodiésel por medio de la reacción convencional en un medio alcalino con una reacción no catalítica en la que utilizaron como reactor una unión de mamparo empaquetada con sílica y metanol.

Este reactor fue colocado en un horno a una temperatura entre 210-390 °C, para vaporizar el metanol (fase móvil) y mantener el aceite en fase estacionaria. El resultado fue que para la reacción catalítica alcalina se llevó a cabo a 65 °C por 8 h, y el rendimiento de 94%; en la reacción no catalítica fue el mismo porcentaje a una temperatura de 390 °C y en 1 min. Por consiguiente, concluyeron que en las condiciones de reacción no catalítica es posible evitar el paso del aceite extraído, ya que a esas temperaturas, el aceite de las larvas secas entra en contacto con el metanol, y se da la reacción de transesterificación.

Por lo anterior, es posible utilizar alternativas a la transesterificación con metanol en un medio alcalino y realizar la extracción y transesterificación simultánea, ya sea con una combinación de hexano/metanol o DBU, que funciona como un catalizador igual que las lipasas con rendimientos superiores al 97% a temperaturas entre 20-30 °C y entre 8 a 12 h con la salvedad de reutilizarlos entre 10 y 20 veces. Otra alternativa para recabar biodiésel es con una reacción no catalítica, que no requiere de una extracción previa de aceite y los rendimientos fueron de 94% en 1 min. Sin embargo, necesita de altas temperaturas y de un reactor empaquetado. Por esto en nuevas investigaciones se buscan condiciones de operación a temperaturas cercanas a 30 °C con tiempos de reacción menores a 6 h y el uso de catalizadores reutilizables.

EFFECTO DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE *Hermetia illucens* EN LA CALIDAD DEL BIODIÉSEL

El biodiésel está compuesto por metil ésteres de ácidos grasos que le confieren las propiedades de un combustible que son: la viscosidad, la estabilidad oxidativa y un mayor número de cetanos, además del beneficio de que al quemarse se reduce la emisión de gases de efecto invernadero (Chrysikou, Dagonikou, Dimitriadis & Bezergianni, 2019; Rodríguez-Fernández, Hernández, Calle-Asensio, Ramos & Barba, 2019).

Se han evaluado las propiedades fisicoquímicas del biodiésel que proviene del aceite de las larvas de *H. illucens* y permiten su uso. Yusaf *et al.* (2022) compararon las propiedades de diferentes mezclas de diésel comercial con el biodiésel de *H. illucens* a 0:100, 25:75, 50:50, 75:25 y 100:0 % (biodiésel: diésel). En el análisis al diésel comercial sus resultados fueron: a) un aumento en lo inflamable que de acuerdo al estándar ASTM D975 debe ser >52 °C, sin embargo, fue de 60 °C y en combinación con el biodiésel producto del aceite de las larvas aumentó a 90, 98, 112 y 399 °C a 25:75, 50:50, 75:25 y 100:0 % respectivamente; b) la viscosidad cinemática de 3.35 mm² s⁻¹, con un aumento de 7.5, 11.5, 19.8 y 28 mm² s⁻¹ y el incremento de la proporción del biodiésel; c) el parámetro de calidad ASTM D445 debe ser de 1.9-4.1 mm² s⁻¹ por lo que la presencia de este biocombustible aumenta este valor; d) en el análisis cromatográfico, contiene parafinas (73%) con cadenas de 12-32 átomos de carbono y aromáticos (22%) como el

naftaleno, por lo contrario en el biodiésel encontraron: metil ésteres de ácidos grasos como el ácido dodecanóico (74%); e) las moléculas presentes en el diésel comercial son más volátiles que las contenidas en el biodiésel, por lo que este es más inflamable. Por otro lado, Park *et al.* (2022) al analizar el aceite previo a la transesterificación detectaron: a) 73% de yodo, indicio de la presencia de ácidos grasos insaturados; b) en el biodiésel obtenido, encontraron como principales ésteres de ácidos grasos al metil laurato (24%), al metil oleato (23%) y al metil palmitato (20%); c) en el análisis fisicoquímico 6 mg Kg⁻¹ de azufre, siendo el límite de 10 mg Kg⁻¹ en la norma EN 14103; d) un valor ácido de 0.16 mg KOH g⁻¹, siendo el límite de 0.5 mg KOH g⁻¹; e) la estabilidad oxidativa de 0.1 h a 110 °C y el valor mínimo debe ser de 6 h a esta temperatura, por lo que añadieron 200 ppm del antioxidante tercbutilhidroquinona para lograr la estabilidad oxidativa a las 7.7 h.

Otro estudio para evaluar la calidad del biodiésel obtenido del aceite, fue realizado por Sitepu *et al.* (2023) quienes adicionaron endosperma de coco a la dieta de las larvas de *H. illucens* y posteriormente analizaron las propiedades fisicoquímicas donde encontraron la presencia de ácidos grasos: el láurico (35%), el palmítico (20%) y el oléico (18%), con un total del 67% de ácidos grasos saturados y 33% de insaturados, cantidades que atribuyen una viscosidad de 3 mm² s⁻¹ y una estabilidad oxidativa de 13 h a 110 °C. En un estudio similar Leong & Kutty (2020) al modificar la dieta de las larvas por residuos vegetales y de frutas, varió el contenido de los ácidos grasos: 85% los saturados con más presencia del láurico; 11% los poliinsaturados y 4-6% los monoinsaturados y el biodiésel con una estabilidad oxidativa de 17 h a 110 °C y una viscosidad de 5.4 mm² s⁻¹ por arriba del estándar ASTM D445.

En los estudios al aceite de *H. illucens*, se presenta un mayor contenido de ácidos grasos insaturados como el láurico y el palmítico que le dan al biodiésel una estabilidad oxidativa menor a 3 h, y el mínimo deber ser de 6 h. Por otra parte, los metil ésteres de los ácidos grasos, al ser moléculas más pesadas que los alcanos y las parafinas contenidas en el diésel convencional lo hacen más inflamable y con un mayor índice de cetano. Por lo anterior, es necesaria la experimentación para una estabilidad oxidativa >6 h a través de un aumento en los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados.

CONCLUSIONES

Por medio de las dietas artificiales y las condiciones de crianza, es posible incidir en el contenido de los ácidos grasos de las larvas de *H. illucens*, que producen el aceite del que se obtiene el biodiésel. La mayor cantidad que se extrae de ellas, es parte de un proceso que tiene que ver con los carbohidratos no fibrosos contenidos en su alimentación y que son más digeribles al ser degradados por su microbioma intestinal y del que forman parte, con mayor presencia, los géneros *Dysgonomonas* sp., *Myroides* sp., y *Bacteroides* sp.

Son varios los métodos de extracción del aceite, para reducir el uso de recursos y entre ellos están: a) los solventes alternativos como el éter, el ciclopentil metil éter, el etanol/cloroformo y la 2-metiltetrahidrofuran, para una mayor extracción del (36%) y una menor de (29.5%) con éter de petróleo b) el uso de microondas y proteasas. c) la transesterificación con una combinación de solventes el hexano/metanol, el metil acetato y el DBU, d) el uso de catalizadores alternativos como las lipasas con el metanol como reactivo un (98%), y la mezcla de lipasas comerciales Eversa® con SMG1 y el metanol con DBU un (87%).

Finalmente, el biodiésel que se obtiene a partir del aceite (sin mezclas) cumplió con el índice de cetano y la viscosidad necesaria para funcionar en un motor de ciclo diésel, sin embargo, por su contenido de ácidos grasos insaturados la estabilidad oxidativa fue menor a los requeridos por la norma ASTM D445 lo que conduce al uso de sustancias antioxidantes como la Terbutilhidroquinona. Por esto es importante una mayor investigación sobre dietas que produzcan un aceite rico en ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados para la obtención de un biocombustible que cumpla con esta norma.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó con apoyo del programa de becas CONAHCYT, con el número de becario 982882 para el Doctorado en Ciencias de la Energía de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro y con el apoyo del programa “Química Somos Todos 2023” de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro en la modalidad Fondo para Proyectos Estudiantiles (FOPES) con el número de expediente 290798.

REFERENCIAS

Abel, S., Jule, L. T., Gudata, L., Nagaraj, N., Shanmugam, R., Dwarampudi, L. P., Stalin, B. & Ramaswamy, K. (2022). Preparation and characterization analysis of biofuel derived through seed extracts of *Ricinus communis* (castor oil plant). *Scientific Reports*, **12**, 11021-11031. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14403-7>

Addeo, N. F., Li, C., Rusch, T. W., Dickerson, A. J., Tarone, A. M., Bovera, F. & Tomberlin, F. K. (2021). Impact of age, size, and sex on adult black soldier fly [*Hermetia illucens* L. (Diptera: Stratiomyidae)] thermal preference. *Journal of Insects as Food and Feed*, **8**(2), 129-139. <https://doi.org/10.3920/JIFF2021.0076>

Ahmad Jan, H., Šurina, I., Zaman, A., Al-Fatesh, A. S., Rahim, F. & Al-Otaibi, R. L. (2022). Synthesis of Biodiesel from *Ricinus communis* L. Seed Oil, a Promising Non-Edible Feedstock Using Calcium Oxide Nanoparticles as a Catalyst. *Energies*, **15**, 6425-6439. <https://doi.org/10.3390/en15176425>

Alifian, M. D., Sholikin, M. M., Evvyernie, D. & Nahrowi, N. (2019). Potential fatty acid composition of *Hermetia*

illucens oil reared on different substrates. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, **546**, 62002-62006. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/546/6/062002>

Arnone, S., De Mei, M., Petrazzuolo, F., Musmeci, S., Tonelli, L., Salvicchi, A., Defilippo, F., Curatolo, M. & Bonilauri, P. (2022). Black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) as a high-potential agent for bioconversion of municipal primary sewage sludge. *Environmental Science and Pollution Research*, **29**(43), 64886-64901. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20250-w>

Arora, J., Kinjo, Y., Šobotník, J., Buček, A., Clitheroe, C., Stiblik, P., Roisin, Y., Žifčáková, L., Park, Y. C., Kim, K. Y., Sillam-Dussès, D., Hervé, V., Lo, N., Tokuda, G., Brune, A. & Bourguignon, T. (2022). The functional evolution of termite gut microbiota. *Microbiome*, **10**, 78-99. <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01258-3>

Bahrami, G., Rafiey, H., Shakiba, A., Noroozi, M., Sajjadi, H. & Seddighi, H. (2022). Climate Change and Respiratory Diseases: Relationship between SARS and Climatic Parameters and Impact of Climate Change on the Geographical Distribution of SARS in Iran. *Advances in Respiratory Medicine*, **90**(5), 378-390. <https://doi.org/10.3390/arm90050048>

Bava, L., Jucker, C., Gislou, G., Lupi, D., Savoldelli, S., Zucali, M. & Colombini, S. (2019). Rearing of *Hermetia illucens* on different organic by-products: Influence on growth, waste reduction, and environmental impact. *Animals*, **9**, 289-304. <https://doi.org/10.3390/ani9060289>

Bekker, N. S., Heidebach, S., Vestergaard, S. Z., Nielsen, M. E., Riisgaard-Jensen, M., Zeuner, E. J., Bahrndorff, S. & Eriksen, N. T. (2021). Impact of substrate moisture content on growth and metabolic performance of black soldier fly larvae. *Waste Management*, **127**, 73-79. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2021.04.028>

Bogdan, G., Ioan, S. D., Mihai, Şuteu, Elena, M. L., Vasile, M. D. & Mihaela, B. A. (2022). Particularities of the *Hermetia Illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae) Ovipositing Behavior: Practical Applications. *Insects*, **13**, 611-617. <https://doi.org/10.3390/insects13070611>

Bonelli, M., Bruno, D., Brilli, M., Gianfranceschi, N., Tian, L., Tettamanti, G., Caccia, S. & Casartelli, M. (2020). Black soldier fly larvae adapt to different food substrates through morphological and functional responses of the midgut. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**(14), 1-27. <https://doi.org/10.3390/ijms21144955>

Bortolini, S., Macavei, L. I., Hadj Saadoun, J., Foca, G., Ulrici, A., Bernini, F., Malferrari, D., Setti, L., Ronga, D. & Maistrello, L. (2020). *Hermetia illucens* (L.) larvae as chicken manure management tool for circular economy. *Journal of Cleaner Production*, **262**, 121289-121298. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121289>

Bruno, D., Bonelli, M., De Filippis, F., Lelio, I. Di, Tettamanti, G., Casartelli, M., Ercolini, D. & Caccia, S. (2019). The Intestinal Microbiota of *Hermetia illucens* Larvae Is Affected

- by Diet and Shows a Diverse Composition in the Different Midgut Regions. *Applied and Environmental Microbiology*, **85**, e01864-e01877 <https://doi.org/10.1128/AEM>
- Chen, B., Zhang, N., Xie, S., Zhang, X., He, J., Muhammad, A., Sun, C., Lu, X. & Shao, Y. (2020). Gut bacteria of the silkworm *Bombyx mori* facilitate host resistance against the toxic effects of organophosphate insecticides. *Environment International*, **143**, 105886-105897. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105886>
- Cheng, J. Y. K., Chiu, S. L. H. & Lo, I. M. C. (2017). Effects of moisture content of food waste on residue separation, larval growth and larval survival in black soldier fly bioconversion. *Waste Management*, **67**, 315–323. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.05.046>
- Chia, S. Y., Tanga, C. M., Khamis, F. M., Mohamed, S. A., Salifu, D., Sevgan, S., Fiaboe, K. K. M., Niassy, S., Van Loon, J. J. A., Dicke, M. & Ekesi, S. (2018). Threshold temperatures and thermal requirements of black soldier fly *Hermetia illucens*: Implications for mass production. *PLoS ONE*, **13(11)**, e206097-e206122. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206097>
- Chryssikou, L. P., Dagonikou, V., Dimitriadis, A. & Bezergianni, S. (2019). Waste cooking oils exploitation targeting EU 2020 diesel fuel production: Environmental and economic benefits. *Journal of Cleaner Production*, **219**, 566–575. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.01.211>
- Cifuentes, Y., Glaeser, S. P., Mvie, J., Bartz, J. O., Müller, A., Gutzeit, H. O., Vilcinskas, A. & Kämpfer, P. (2020). The gut and feed residue microbiota changing during the rearing of *Hermetia illucens* larvae. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, **113(9)**, 1323–1344. <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01443-0>
- Danieli, P. P., Lussiana, C., Gasco, L., Amici, A. & Ronchi, B. (2019). The effects of diet formulation on the yield, proximate composition, and fatty acid profile of the black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) prepupae intended for animal feed. *Animals*, **9**, 178-197. <https://doi.org/10.3390/ani9040178>
- Dzepe, D., Nana, P., Fotso, A., Tchuinkam, T. & Djouaka, R. (2020). Influence of larval density, substrate moisture content and feedstock ratio on life history traits of black soldier fly larvae. *Journal of Insects as Food and Feed*, **6(2)**, 133–140. <https://doi.org/10.3920/jiff2019.0034>
- Ewald, N., Vidakovic, A., Langeland, M., Kiessling, A., Sampels, S. & Lalander, C. (2020). Fatty acid composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*)-possibilities and limitations for modification through diet. *Waste Management*, **102**, 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.10.014>
- Feng, W., Xiong, H., Wang, W., Duan, X., Yang, T., Wu, C., Yang, F., Xiong, J., Wang, T. & Wang, C. (2019). Energy consumption analysis of lipid extraction from black soldier fly biomass. *Energy*, **185**, 1076–1085. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2019.07.113>
- Francardi, V., Frosinini, R., Pichini, C., Botta, M., Cito, A. & Dreassi, E. (2017). *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) an edible insect of nutraceutical interest. *Redia*, **100**, 187-192. <http://dx.doi.org/10.19263/REDIA-100.17.24>
- Georgescu, B., Struți, D., Păpuc, T., Cighi, V. & Boaru, A. (2021). Effect of the energy content of diets on the development and quality of the fat reserves of larvae and reproduction of adults of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *European Journal of Entomology*, **118**, 297–306. <https://doi.org/10.14411/EJE.2021.030>
- Gharibzahedi, S. M. T. & Altintas, Z. (2022). Ultrasound-Assisted Alcoholic Extraction of Lesser Mealworm Larvae Oil: Process Optimization, Physicochemical Characteristics, and Energy Consumption. *Antioxidants*, **11**, 1943-1961 <https://doi.org/10.3390/antiox11101943>
- Giannetto, A., Oliva, S., Ceccon Lanes, C. F., de Araújo Pedron, F., Savastano, D., Baviera, C., Parrino, V., Lo Paro, G., Spanò, N. C., Cappello, T., Maisano, M., Mauceri, A. & Fasulo, S. (2020). *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larvae and prepupae: Biomass production, fatty acid profile and expression of key genes involved in lipid metabolism. *Journal of Biotechnology*, **307**, 44–54. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.10.015>
- Gielen, D., Boshell, F., Saygin, D., Bazilian, M. D., Wagner, N. & Gorini, R. (2019). The role of renewable energy in the global energy transformation. *Energy Strategy Reviews*, **24**, 38–50. <https://doi.org/10.1016/j.esr.2019.01.006>
- Gligorescu, A., Macavei, L. I., Larsen, B. F., Markfoged, R., Fischer, C. H., Koch, J. D., Jensen, K., Lau Heckmann, L. H., Nørgaard, J. V. & Maistrello, L. (2022). Pilot scale production of *Hermetia illucens* (L.) larvae and frass using former foodstuffs. *Cleaner Engineering and Technology*, **10**, 100546-100554. <https://doi.org/10.1016/j.clet.2022.100546>
- Hao, M. J., Elias, N. H., Aminuddin, M. H. & Zainalabidin, N. (2021). Microwave-assisted extraction of black soldier fly larvae (BSFL) lipid. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **765**, 12057-12068. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/765/1/012057>
- He, S., Lian, W., Liu, X., Xu, W., Wang, W. & Qi, S. (2022). Transesterification synthesis of high-yield biodiesel from black soldier fly larvae using the combination of Lipase Eversa Transform 2.0 and Lipase SMG1. *Food Science and Technology (Brazil)*, **42**, e103221-e103226. <https://doi.org/10.1590/fst.103221>
- Heussler, C. D., Walter, A., Oberkofler, H., Insam, H., Arthofer, W., Schlick-Steiner, B. C. & Steiner, F. M. (2018). Influence of three artificial light sources on oviposition and half-life of the Black Soldier Fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae): Improving small-scale indoor rearing. *PLoS ONE*, **13(5)**, e0197896. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197896>

- Hoc, B., Genva, M., Fauconnier, M. L., Lognay, G., Francis, F. & Caparros Megido, R. (2020). About lipid metabolism in *Hermetia illucens* (L. 1758): on the origin of fatty acids in prepupae. *Scientific Reports*, **10**, 11916-11923. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68784-8>
- Hoc, B., Noël, G., Carpentier, J., Francis, F. & Megido, R. C. (2019). Optimization of black soldier fly (*Hermetia illucens*) artificial reproduction. *PLoS ONE*, **14**(4), e0216160-e0216172 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216160>
- Holmes, L. A., Vanlaerhoven, S. L. & Tomberlin, J. K. (2012). Relative humidity effects on the life history of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Environmental Entomology*, **41**(4), 971–978. <https://doi.org/10.1603/EN12054>
- Ishak, S., Kamari, A., Yusoff, S. N. M. & Halim, A. L. A. (2018). Optimisation of biodiesel production of Black Soldier Fly larvae rearing on restaurant kitchen waste. *Journal of Physics: Conference Series*, **1097**, 012052-012059. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1097/1/012052>
- Jiang, C. L., Jin, W. Z., Tao, X. H., Zhang, Q., Zhu, J., Feng, S. Y., Xu, X. H., Li, H. Y., Wang, Z. H. & Zhang, Z. J. (2019). Black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) strengthen the metabolic function of food waste biodegradation by gut microbiome. *Microbial Biotechnology*, **12**(3), 528–543. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13393>
- Jung, S., Jung, J. M., Tsang, Y. F., Bhatnagar, A., Chen, W. H., Lin, K. Y. A. & Kwon, E. E. (2022). Biodiesel production from black soldier fly larvae derived from food waste by non-catalytic transesterification. *Energy*, **238**, 121700-121707. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2021.121700>
- Kaczor, M., Bulak, P., Proc-Pietrycha, K., Kirichenko-Babko, M. & Bieganski, A. (2022). The Variety of Applications of *Hermetia illucens* in Industrial and Agricultural Areas—Review. *Biology*, **12**(1), 25. <https://doi.org/10.3390/biology12010025>
- Kaisan, M. U., Abubakar, S., Ashok, B., Balasubramanian, D., Narayan, S., Grujic, I. & Stojanovic, N. (2021). Comparative analyses of biodiesel produced from *Jatropha* and neem seed oil using a gas chromatography–mass spectroscopy technique. *Biofuels*, **12**(7), 757. <https://doi.org/10.1080/17597269.2018.1537206>
- Kariuki, E. G., Kibet, C., Paredes, J. C., Mboowa, G., Mwaura, O., Njogu, J., Masiga, D., Bugg, T. D. H. & Tanga, C. M. (2023). Metatranscriptomic analysis of the gut microbiome of black soldier fly larvae reared on lignocellulose-rich fiber diets unveils key lignocellulolytic enzymes. *Frontiers in Microbiology*, **14**, 1120224-1120243. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1120224>
- Kathumbi, L. K., Home, P. G., Raude, J. M. & Gathitu, B. B. (2022). Performance of Citric Acid as a Catalyst and Support Catalyst When Synthesized with NaOH and CaO in Transesterification of Biodiesel from Black Soldier Fly Larvae Fed on Kitchen Waste. *Fuels*, **3**(2), 295–315. <https://doi.org/10.3390/fuels3020018>
- Keskin, A., Şen, M. & Emiroğlu, A. O. (2020). Experimental studies on biodiesel production from leather industry waste fat and its effect on diesel engine characteristics. *Fuel*, **276**, 118000-118007 <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118000>
- Khairuddin, D., Ghafar, S. N. A. & Hassan, S. N. F. (2022). Food waste type and moisture content influence on the *Hermetia illucens* (L.), (Diptera: Stratiomyidae) Larval Development and Survival. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **1022**, 012076-012083. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1022/1/012076>
- Klammsteiner, T., Walter, A., Bogataj, T., Heussler, C. D., Stres, B., Steiner, F. M., Schlick-Steiner, B. C. & Insam, H. (2021). Impact of Processed Food (Canteen and Oil Wastes) on the Development of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae and Their Gut Microbiome Functions. *Frontiers in Microbiology*, **12**, 619112-619127. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.619112>
- Klüber, P., Bakonyi, D., Zorn, H. & Rühl, M. (2020). Does Light Color Temperature Influence Aspects of Oviposition by the Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae)? *Journal of Economic Entomology*, **113** (5), 2549-2552. <https://doi.org/10.1093/jee/toaa182>
- Kumar, A., Vachan Tirkey, J. & Kumar Shukla, S. (2021). “Comparative energy and economic analysis of different vegetable oil plants for biodiesel production in India.” *Renewable Energy*, **169**, 266–282. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.12.128>
- Lee, K. S., Yun, E. Y. & Goo, T. W. (2021). Optimization of feed components to improve *Hermetia Illucens* growth and development of oil extractor to produce biodiesel. *Animals*, **11**, 2573-2585. <https://doi.org/10.3390/ani11092573>
- Lelieveld, J., Klingmüller, K., Pozzer, A., Burnett, R. T., Haines, A. & Ramanathan, V. (2019). Effects of fossil fuel and total anthropogenic emission removal on public health and climate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **116**(15), 7192–7197. <https://doi.org/10.1073/pnas.1819989116>
- Leong, S. Y. & Kutty, S. R. M. (2020). Characteristic of *Hermetia illucens* Fatty Acid and that of the Fatty Acid Methyl Ester Synthesize Based on Upcycling of Perishable Waste. *Waste and Biomass Valorization*, **11**(10), 5607–5614. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01018-0>
- Li, X., Dong, Y., Sun, Q., Tan, X., You, C., Huang, Y. & Zhou, M. (2022). Growth and Fatty Acid Composition of Black Soldier Fly *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) Larvae Are Influenced by Dietary Fat Sources and Levels. *Animals*, **12**, 486-500. <https://doi.org/10.3390/ani12040486>
- Liu, Z., Najjar-Rodriguez, A. J., Minora, M. A., Hedderley, D. I. & Moreld, P. C. H. (2020). Mating success of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae), under four artificial light sources. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, **205**, 111815-11822. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2020.111815>

- Litvak, O. & Litvak, S. (2020). Some Aspects of Reducing Greenhouse Gas Emissions by Using Biofuels. *Journal of Ecological Engineering*, **21(8)**, 198–206. <https://doi.org/10.12911/22998993/126967>
- Martins, F., Felgueiras, C., Smitkova, M. & Caetano, N. (2019). Analysis of fossil fuel energy consumption and environmental impacts in European countries. *Energies*, **12**, 964–974. <https://doi.org/10.3390/en12060964>
- Meneguz, M., Schiavone, A., Gai, F., Dama, A., Lussiana, C., Renna, M. & Gasco, L. (2018). Effect of rearing substrate on growth performance, waste reduction efficiency and chemical composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **98(15)**, 5776–5784. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9127>
- Moretta, A., Salvia, R., Scieuzo, C., di Somma, A., Vogel, H., Pucci, P., Sgambato, A., Wolff, M. & Falabella, P. (2020). A bioinformatic study of antimicrobial peptides identified in the Black Soldier Fly (BSF) *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Scientific Reports*, **10**, 16875–16888. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74017-9>
- Naviglio, D. (2003). Naviglio's principle and presentation of an innovative solid-liquid extraction technology: Extractor Naviglio®. *Analytical Letters*, **36(8)**, 1647–1659. <https://doi.org/10.1081/AL-120021555>
- Nguyen, H. C., Liang, S. H., Chen, S. S., Su, C. H., Lin, J. H. & Chien, C. C. (2018a). Enzymatic production of biodiesel from insect fat using methyl acetate as an acyl acceptor: Optimization by using response surface methodology. *Energy Conversion and Management*, **158**, 168–175. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.12.068>
- Nguyen, H. C., Liang, S. H., Li, S. Y., Su, C. H., Chien, C. C., Chen, Y. J. & Huong, D. T. M. (2018b). Direct transesterification of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) for biodiesel production. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, **85**, 165–169. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2018.01.035>
- Nguyen, H. C., Nguyen, M. L., Liang, S. H., Su, C. H. & Wang, F. M. (2020). Switchable Solvent-Catalyzed Direct Transesterification of Insect Biomass for Biodiesel Production. *Bioenergy Research*, **13(2)**, 563–570. <https://doi.org/10.1007/s12155-019-10085-8>
- Oonincx D. G. A. B., Volk, N., Diehl, J. J. E., van Loon, J. J. A. & Belušić, G. (2016). Photoreceptor spectral sensitivity of the compound eyes of black soldier fly (*Hermetia illucens*) informing the design of LED-based illumination to enhance indoor reproduction. *Journal of Insect Physiology*, **95**, 133–139. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.10.006>
- Opore, L. O., Holm, S. & Esperk, T. (2022). Temperature-modified density effects in the black soldier fly: low larval density leads to large size, short development time and high fat content. *Journal of Insects as Food and Feed*, **8(7)**, 783–802. <https://doi.org/10.3920/JIFF2021.0147>
- Palma, L., Ceballos, S. J., Johnson, P. C., Niemeier, D., Pitesky, M. & VanderGheynst, J. S. (2018). Cultivation of black soldier fly larvae on almond byproducts: impacts of aeration and moisture on larvae growth and composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **98(15)**, 5893–5900. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9252>
- Park, K., Kim, W., Kim, E., Choi, J. Y. & Kim, S. H. (2016). Effect of adult population density on egg production in the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *International Journal of Industrial Entomology*, **33(2)**, 92–95. <https://doi.org/10.7852/ijie.2016.33.2.92>
- Park, J. Y., Jung, S., Na, Y. G., Jeon, C. H., Cheon, H. Y., Yun, E. Y., Lee, S. H., Kwon, E. E. & Kim, J. K. (2022). Biodiesel production from the black soldier fly larvae grown on food waste and its fuel property characterization as a potential transportation fuel. *Environmental Engineering Research*, **27**, 200704–200712. <https://doi.org/10.4491/eer.2020.704>
- Ravi, H. K., Vian, M. A., Tao, Y., Degrou, A., Costil, J., Trespeuch, C. & Chemat, F. (2019). Alternative solvents for lipid extraction and their effect on protein quality in black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *Journal of Cleaner Production*, **238**, 117861–117873. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.117861>
- Rivera-González, L., Bolonio, D., Mazadiego, L. F., Naranjo-Silva, S. & Escobar-Segovia, K. (2020). Long-term forecast of energy and fuels demand towards a sustainable road transport sector in Ecuador (2016–2035): A LEAP model application. *Sustainability (Switzerland)*, **12**, 472–497. <https://doi.org/10.3390/su12020472>
- Rodríguez-Fernández, J., Hernández, J. J., Calle-Asensio, A., Ramos, Á. & Barba, J. (2019). Selection of blends of diesel fuel and advanced biofuels based on their physical and thermochemical properties. *Energies*, **12**, 2034–2046. <https://doi.org/10.3390/en12112034>
- Saviane, A., Tassoni, L., Naviglio, D., Lupi, D., Savoldelli, S., Bianchi, G., Cortellino, G., Bondioli, P., Folegatti, L., Casartelli, M., Orlandi, V. T., Tettamanti, G. & Cappellozza, S. (2021). Mechanical processing of *Hermetia illucens* larvae and *Bombyx mori* pupae produces oils with antimicrobial activity. *Animals*, **11(3)**, 1–17. <https://doi.org/10.3390/ani11030783>
- Schneider, J. C. (2019). Effects of light intensity on mating of the black soldier fly (*Hermetia illucens*, Diptera: Stratiomyidae). *Journal of Insects as Food and Feed*, **6(2)**, 111–119. <https://doi.org/10.3920/JIFF2019.0003>
- SENER (2022). *Balance Nacional de Energía 2021*. [en línea] México: SENER. disponible en: <<https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/805509/BNE-2021.pdf>>
- Sharma, A. K., Sharma, P. K., Chintala, V., Khatri, N. & Patel, A. (2020). Environment-friendly biodiesel/diesel blends for improving the exhaust emission and engine performance to reduce the pollutants emitted from transportation fleets. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **17**, 3896–3914. <https://doi.org/10.3390/ijerph17113896>

- Shen, N., Wang, Y., Peng, H. & Hou, Z. (2020). Renewable energy green innovation, fossil energy consumption, and air pollution-spatial empirical analysis based on China. *Sustainability (Switzerland)*, **12**, 6397-6419. <https://doi.org/10.3390/SU12166397>
- Shumo, M., Khamis, F. M., Tanga, C. M., Fiaboe, K. K. M., Subramanian, S., Ekesi, S., van Huis, A. & Borgemeister, C. (2019). Influence of Temperature on Selected Life-History Traits of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Reared on Two Common Urban Organic Waste Streams in Kenya. *Animals*, **9**, 79-86. <https://doi.org/10.3390/ani9030079>
- Siow, H. S., Sudesh, K., Murugan, P. & Ganesan, S. (2021). Mealworm (*Tenebrio molitor*) oil characterization and optimization of the free fatty acid pretreatment via acid-catalyzed esterification. *Fuel*, **299**, 120905-120916. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.120905>
- Sitepu, E. K., Perangin-angin, S., Ginting, G. J., Machmudah, S., Sari, R. N. & Tarigan, J. B. (2023). Controlled crushing device-intensified direct biodiesel production of Black Soldier Fly larvae. *Heliyon*, **9**, e16402-e16409. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16402>
- Smets, R., Goos, P., Claes, J. & Van Der Borgh, M. (2021). Optimisation of the lipid extraction of fresh black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) with 2-methyltetrahydrofuran by response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, **258**, 118040-118080. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.118040>
- Soares Araújo, R. R., dos Santos Benfica, T. A. R., Ferraz, V. P. & Moreira Santos, E. (2019). Nutritional composition of insects *Gryllus assimilis* and *Zophobas morio*: Potential foods harvested in Brazil. *Journal of Food Composition and Analysis*, **76**, 22–26. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.11.005>
- Su, C. H., Nguyen, H. C., Bui, T. L. & Huang, D. L. (2019). Enzyme-assisted extraction of insect fat for biodiesel production. *Journal of Cleaner Production*, **223**, 436–444. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.03.150>
- Tegtmeier, D., Hurka, S., Mihajlovic, S., Bodenschatz, M., Schlimbach, S. & Vilcinskas, A. (2021). Culture-independent and culture-dependent characterization of the black soldier fly gut microbiome reveals a large proportion of culturable bacteria with potential for industrial applications. *Microorganisms*, **9**, 1642-1661. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081642>
- Wang, C., Qian, L., Wang, W., Wang, T., Deng, Z., Yang, F., Xiong, J. & Feng, W. (2017). Exploring the potential of lipids from black soldier fly: New paradigm for biodiesel production (I). *Renewable Energy*, **111**, 749–756. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.04.063>
- Wong, C. Y., Lim, J. W., Lam, M. K., Uemura, Y., Chong, F. K., Chew, T. L., Mohamad, M. & Hasan, H. A. (2019). Impact of limited feed medium and different lipid extraction solvents in dealing with black soldier fly larvae. *AIP Conference Proceedings*, **2157**, 0200561-0200565. <https://doi.org/10.1063/1.5126591>
- Xing, X., Wang, J., Liu, T., Liu, H. & Zhu, Y. (2019). How energy consumption and pollutant emissions affect the disparity of public health in countries with high fossil energy consumption. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **16**, 4678-4695. <https://doi.org/10.3390/ijerph16234678>
- Xu, H., Ou, L., Li, Y., Hawkins, T. R. & Wang, M. (2022). Life Cycle Greenhouse Gas Emissions of Biodiesel and Renewable Diesel Production in the United States. *Environmental Science and Technology*, **56(12)**, 7512–7521. <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c00289>
- Yakti, W., Schulz, S., Marten, V., Mewis, I., Padmanabha, M., Hempel, A. J., Kobelski, A., Streif, S. & Ulrichs, C. (2022a). The Effect of Rearing Scale and Density on the Growth and Nutrient Composition of *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae) Larvae. *Sustainability (Switzerland)*, **14**, 1772-1794. <https://doi.org/10.3390/su14031772>
- Yang, F., Tomberlin, J. K. & Jordan, H. R. (2021). Starvation Alters Gut Microbiome in Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) Larvae. *Frontiers in Microbiology*, **12**, 601253-601268. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.601253>
- Yaşar, F. (2020). Comparison of fuel properties of biodiesel fuels produced from different oils to determine the most suitable feedstock type. *Fuel*, **264**, 116817-116823. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.116817>
- Yate, A. V., Narváez, P. C., Orjuela, A., Hernández, A. & Acevedo, H. (2020). A systematic evaluation of the mechanical extraction of *Jatropha curcas* L. oil for biofuels production. *Food and Bioprocess Technology*, **122**, 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.04.001>
- Yusaf, T., Kamarulzaman, M. K., Adam, A., Hisham, S., Ramasamy, D., Kadirgama, K., Samykano, M. & Subramaniam, S. (2022). Physical-Chemical Properties Modification of *Hermetia Illucens* Larvae Oil and Diesel Fuel for the Internal Combustion Engines Application. *Energies*, **15**, 8073-8089. <https://doi.org/10.3390/en15218073>
- Zhineng, Y., Ying, M., Bingjie, T., Rouxian, Z. & Qiang, Z. (2021). Intestinal microbiota and functional characteristics of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*). *Annals of Microbiology*, **71**, 13-21. <https://doi.org/10.1186/s13213-021-01626-8>
- Ziółkowski, A., Fuć, P., Jagielski, A. & Bednarek, M. (2022). Analysis of Emissions and Fuel Consumption in Freight Transport. *Energies*, **15**, 4706-4719. <https://doi.org/10.3390/en15134706>