

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E SAÚDE

Ada Lorrana Medeiros Antunes

**Lipídeos da larva da mosca soldado negra (*Hermetia illucens*): uso potencial
na alimentação humana**

Montes Claros

2022

Ada Lorrana Medeiros Antunes

Lipídeos da larva da mosca soldado negra (*Hermetia illucens*): uso potencial na
alimentação humana

Dissertação apresentada, ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Saúde da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Saúde.

Orientador: Prof^a. Jane Sélia dos Reis Coimbra
Coorientador: Prof^a. Bruna Mara Aparecida de Carvalho Mesquita

Montes Claros

2022

Antunes, Ada Lorrana Medeiros.

A6361
2022

Lipídeos da larva da mosca soldado negra (*Hermetia illucens*) [manuscrito]: uso potencial na alimentação humana / Ada Lorrana Medeiros Antunes. Montes Claros, 2022.

69 f.: il.

Dissertação (mestrado) - Área de concentração em Alimentos e Saúde. Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

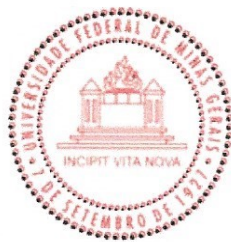
Orientadora: Jane Sélia dos Reis Coimbra

Banca examinadora: Cláudia Regina Vieira, Francine Souza Alves da Fonseca, Monique Ellen Torres da Silva, Bruna Mara Aparecida de Carvalho Mesquita.

Inclui referências: f. 47-53.

1. Ácidos graxos -- Teses. 2. Lipídeos na alimentação humana -- Teses. 3. Extração (Química) -- Teses. I. Coimbra, Jane Sélia dos Reis. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 641.1



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Agrárias Curso de Mestrado em Alimentos e Saúde

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Aos 25 dias do mês de fevereiro de 2022, às 14:00 horas, sob a Presidência da Professora Jane Sélia dos Reis Coimbra, Dra. (Orientadora - UFV) e com a participação das Professoras Bruna Mara Aparecida de Carvalho Mesquita, Dra. (Coorientadora - UFMG/ICA), Cláudia Regina Vieira, Dra. (UFMG/ICA), e as técnicas Francine Souza Alves da Fonseca, Dra. (UFMG/ICA) e Monique Ellen Torres da Silva, Dra. (UFJF), reuniu-se, por videoconferência, a Banca de defesa de dissertação da Discente **ADA LORRANA MEDEIROS ANTUNES**, aluna do Curso de Mestrado em Alimentos e Saúde. O resultado da defesa de dissertação intitulada: "*Lipídeos da larva da mosca soldado negra (Hermetia illucens): uso potencial na alimentação humana*" sendo a aluna considerada APROVADA. E, para constar, eu, Professora Jane Sélia dos Reis Coimbra, Presidente da Banca, lavrei a presente ata que depois de lida e aprovada, será assinada por mim e pelos demais membros da Banca examinadora.

Claudia Vieira

Profª. Dra. Cláudia Regina Vieira– UFMG



Documento assinado digitalmente
FRANCINE SOUZA ALVES DA FONSE
Data: 08/03/2022 15:21:46-0300
Verifique em <https://verificador.iti>

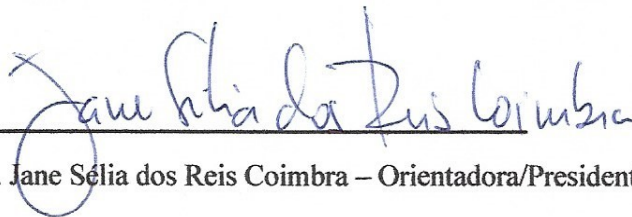
Dra. Francine Souza Alves da Fonseca– UFMG

Documento assinado digitalmente
gov.br Monique Ellen Torres da Silva
Data: 08/03/2022 14:38:29-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Profª. Dra. Monique Ellen Torres da Silva (UFJF)

Documento assinado digitalmente
gov.br BRUNA MARA APARECIDA DE CARVALHO MESQUITA
Data: 08/03/2022 09:57:53-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Profª. Dra. Bruna Mara Aparecida de Carvalho Mesquita – Coorientadora



Profª. Dra. Jane Sélia dos Reis Coimbra – Orientadora/Presidente

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

- Reitor (a): Sandra Regina Goulart Almeida
- Vice-reitor (a): Alessandro Fernandes Moreira
- Pró-reitor de Pesquisa: Mario Fernando Montenegro Campos
- Pró-reitor de Pós-graduação: Fábio Alves da Silva Júnior

CURSO DE MESTRADO EM ALIMENTOS E SAÚDE

- Coordenador(a): Sérgio Henrique Sousa Santos
- Subcoordenador(a): Bruna Mara Aparecida de Carvalho Mesquita

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida e autor do meu destino.

À minha família e amigos por sempre estarem me apoiando, incentivando e torcendo por mim.

Ao meu esposo José Élcio, pela dedicação oferecida, pelos momentos de companheirismo e por acumular minhas responsabilidades nesses últimos tempos.

À minha orientadora Prof^a. Dra. Jane e coorientadora Prof^a. Dra Bruna, pela oportunidade, assistência e apoio na elaboração deste trabalho e pelos conselhos e amizade.

À Universidade Federal de Minas Gerais pela oportunidade de realizar o mestrado, e a instituição por fornecer estrutura e ferramentas para finalização deste trabalho.

Aos professores e técnicos, em especial a Francine, Flávia e Mariuze que sempre estiveram dispostos a ajudar e complementar em meu aprendizado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

E a todos que de alguma forma contribuíram para concretização deste trabalho, aos quais sem nomear terão meus eternos agradecimentos.

*“Consagra ao Senhor tudo o que você faz,
e os seus planos serão bem-sucedidos.”*

(Provérbios 16:3)

RESUMO

A utilização de insetos como fonte alternativa de alimentos é uma tendência mundial. Dentre eles a mosca soldado negra (MSN, *Hermetia illucens*) se destaca, devido ao alto teor de lipídeos de suas larvas, que podem substituir os óleos vegetais na alimentação animal e serem integrados na alimentação humana. Neste contexto, o primeiro capítulo do presente trabalho contém uma revisão de literatura sobre a extração, composição e aplicação de lipídeos de insetos comestíveis. Posto que a extração dos lipídeos da larva MSN ainda é pouco estudada, no segundo capítulo foi avaliada a separação de lipídeos da larva MSN com dois métodos extrativos, o da extração aquosa (EAQ) e o por Bligh-Dyer (EBD). As análises realizadas durante os experimentos foram para a determinação da composição centesimal (proteínas, lipídeos, cinzas e umidade) da larva MSN, das farinhas secas na estufa e no liofilizador e das biomassas originadas nas duas técnicas extrativas (EAQ e EBD); e do rendimento, da cor e de ácidos graxos do extrato lipídico. Todas as larvas MSN foram alimentadas com farelo de milho até o seu 25º dia de desenvolvimento. Após esse período, foram mantidas em jejum por cerca de 24 h e armazenadas em freezer a -20 °C. Posteriormente, foram adicionadas em nitrogênio líquido e trituradas. No processo com EAQ as larvas moídas foram liofilizadas até atingir massa constante, misturadas em água seguida por 15 min de sonicação, e filtradas em uma peneira de 300 µm. O filtrado foi centrifugado a 15.000g por 30 min a 4 °C e a fração lipídica formada foi centrifugada a 15.000g por 30 min a 40 °C, resultando no extrato lipídico. Na EBD as larvas moídas foram secas em estufa a 60 °C até massa constante, os lipídeos foram extraídos com a mistura clorofórmio, metanol e água na proporção 1:2:0,8 e solução sulfato de sódio a 1,5 % (p/v). A cor dominante dos extratos lipídicos originados na EAQ e EBD foram amarelo-esverdeado e marrom-avermelhado, respectivamente. Esta diferença de cor pode ser correlacionada com as operações de secagem aplicadas durante a extração de lipídeos. Altos teores de proteínas (39,85-42,68 %) e lipídeos (25,33-24,80 %) foram quantificados nas farinhas da larva MSN seca na estufa e no liofilizador. A biomassa da EBD apresentou conteúdos de proteínas, cinzas e umidade superiores ao da biomassa da EAQ. O rendimento de lipídeos (3,08 %) e a eficiência (50 %) da EBD foi maior, mas a EAQ não emprega solventes orgânicos para a obtenção de lipídeos da larva MSN. Os mesmos tipos de ácidos graxos foram identificados nos lipídeos extraídos da larva MSN da EAQ e EBD (C12:0; C14:0, C16:0, C18:2 $\Delta^{10,12}$, C18:1 Δ^9 , C18:0). Assim sendo, a EAQ pode ser considerada uma alternativa para a obtenção de lipídeos de uso como ingrediente alimentar, pois não emprega solventes

orgânicos. No entanto, o rendimento lipídico é menor na EAQ comparado ao obtido com a EBD. Adicionalmente, mais estudos são necessários para viabilizar a utilização de lipídeos das larvas MSN na alimentação humana.

Palavras-chave: Ácidos graxos, Bligh-Dyer, BSF, extração aquosa, gordura.

ABSTRACT

The use of insects as an alternative food source is a worldwide trend. Among them, the black soldier fly (BSF, *Hermetia illucens*) stands out due to the high lipid content of its larvae, which can replace vegetable oils in animal feed and be integrated into human food. In this context, the first chapter of the present work contains a literature review on the extraction, composition, and application of lipids from edible insects. Since the extraction of lipids from BSF larvae is still poorly studied, in the second chapter, the separation of lipids from BSF larvae was evaluated with two extractive methods, aqueous extraction (EAQ) and Bligh-Dyer (EBD). The analyses performed during the experiments aimed to determine (i) the proximate composition (proteins, lipids, ash, and moisture) of the BSF larvae, the flour dried in the oven and freeze-dryer, and the biomass originating from the two extraction techniques (EAQ and EBD); and (ii) the yield, color, and fatty acids of the lipid extract. All BSF larvae were fed with corn bran until the 25th day of development. After this period, BSF larvae were fasted for approximately 24 h and stored in a freezer at -20 °C. Subsequently, they were added to liquid nitrogen and crushed. In the EAQ process, the ground larvae were lyophilized until reaching constant mass, added to water, maintained under sonication for 15 min, and then filtered in a 300 µm sieve. The filtrate was centrifuged at 15000g for 30 min at 4 °C. The lipid fraction formed was centrifuged at 15000g for 30 min at 40 °C, resulting in the lipid extract. In EBD, the ground larvae were dried in an oven at 60 °C until constant mass. The lipids were extracted with a mixture of chloroform, methanol, and water in the proportion 1:2:0.8 and sodium sulfate solution at 1.5% (w/v). The dominant colors of the lipid extracts originating in the EAQ and EBD were greenish-yellow and reddish-brown, respectively. This color difference can be correlated with the drying operations applied during lipid extraction. High levels of proteins (39.85-42.68%) and lipids (25.33-24.80%) were quantified in the meal of BSF larvae dried in the oven and in the freeze dryer. The EBD biomass presented higher protein, ash, and moisture contents than the EAQ biomass. The lipid yield (3.08%) and efficiency (50%) of EBD were higher, but EAQ does not use organic solvents to obtain lipids from BSF larvae. The same types of fatty acids were

identified in the lipids extracted from BSF larvae by using the two extraction techniques, EAQ and EBD (C12:0; C14:0, C16:0, C18:2 $\Delta^{10,12}$, C18:1 Δ^9 , C18:0). Therefore, EAQ can be considered an alternative for obtaining lipids for use as a food ingredient, as it does not use organic solvents. However, the lipid yield is lower in EAQ than in EBD. Additionally, further studies are needed to enable the use of lipids from BSF larvae in human food.

Keywords: Fatty acids, Bligh-Dyer, BSF, aqueous extraction, fat.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo I

Figure 1: Environmental impact parameters on insect breeding compared to other animals ..	21
Figure 2: Insect-based delicacies	22
Figure 3: Edible insect species in the world	22
Figure 4: Flowchart of extraction methods.....	31

Capítulo II

Figura 1: Camadas obtidas nas centrifugações dos sistemas lipídicos obtidos na extração aquosa. (A) Fração lipídica; (B) Sobrenadante; (C) Precipitado; (D) Extrato lipídico; (E) Creme; (F) Resíduo.	51
Figura 2: Extração Bligh-Dyer, transferência da alíquota para o béquer	52
Figura 3: Farinhas da larva da mosca soldado negra: (A) farinha seca no liofilizador; (B) Farinha seca na estufa à 60 °C.	53
Figura 4: Cor dos extratos lipídicos das extrações aquosa (EAQ) e Bligh-Dyer (EBD).....	58
Figura 5: Cromatograma do lipídeo obtido na EBD.	58
Figura 6: Cromatograma do lipídeo obtido na EAQ.	59

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Table 1. Lipid extraction methods for edible insects.....	28
Table 2. Patents on edible insect oil	34

Capítulo II

Tabela 1: Lipídeos extraídos da farinha da larva MSN (líoofilizada e seca na estufa 60 °C) e eficiência da extração de lipídeos em função do método de extração, aquosa e Bligh-Dye.	55
Tabela 2: Composição centesimal das larvas <i>H. illucens</i> , das farinhas da larva MSN e das biomassas desengorduradas da extração aquosa e de Bligh-Dyer.....	56
Tabela 3: Ésteres metílicos e ácido graxos dos lipídeos da larva MSN, extraídos pelo método EAQ e EBD.	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- EAQ - Extração Aquosa
- EBD - Extração Blich-Dyer
- FAO - *Food and Agriculture Organization of the United Nations*
- IAL - Instituto Adolfo Lutz
- LMSN - Larva da Mosca Soldado Negra
- MSN - Mosca Soldado Negra
- SC-CO₂ - *Supercritical Carbon Dioxide Extraction*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	18
2.1	Objetivo geral	18
2.2	Objetivos específicos	18
3	CAPÍTULO I - LIPIDS FROM EDIBLE INSECTS: A REVIEW ON THE APPLICATION EXTRACTION, COMPOSITION, AND CHALLENGES	19
3.1	Introduction	19
3.2	Insects as an alternative food source	21
3.3	Edible insect lipids	25
3.4	Uses of edible insect oil in the human diet	26
3.5	Extraction methods and characterization of edible insect oils	27
3.5.1	Soxhlet extraction of edible insect lipids	31
3.5.2	Bligh-Dyer extraction of edible insect lipids	32
3.5.3	Aqueous extraction of edible insect lipids	32
3.5.4	Supercritical carbon dioxide extraction of edible insect lipids	33
3.6	Patents on edible insect oil extraction	34
3.7	Challenges	35
3.8	Final considerations	35
3.9	References	36
4	CAPÍTULO II - EXTRAÇÃO DE LIPÍDEOS DA LARVA DA MOSCA SOLDADO NEGRA (HERMETIA ILLUCENS)	47
4.1	Introdução	48
4.2	Materiais e Métodos	50
4.2.1	Extração de lipídeos das larvas MSN	50
4.2.2	Extração de lipídeos da larva MSN pelo método de extração aquosa	50
4.2.3	Extração de lipídeos da larva MSN pelo método de Bligh-Dyer	51

4.2.4	Análises centesimal da larva MSN, das farinhas secas na estufa e no liofilizador e das biomassas (EBD) e (EAQ)	52
4.2.5	Caracterização da cor e determinação de ácidos graxos	53
4.3	Resultados e Discussão	54
4.4	Conclusão	60
4.5	Referências	61
5	REFERÊNCIAS	67

1 INTRODUÇÃO

A entomofagia, ou ingestão de insetos, é praticada por diferentes grupos étnicos e em diversas partes do mundo (CARVALHO, MADUREIRA, PINTADO, 2019), principalmente na Ásia, África, Oceania, Oriente Médio e América Latina (HUIS, 2016). Os benefícios decorrentes da adoção e disseminação da entomofagia são o menor impacto ambiental em termos de emissões de gases de efeito estufa e consumo de água (STONE et al., 2022), visto que insetos emitem uma quantidade de gases inferior comparado à pecuária, e a biomassa, no estágio larval, possui alto valor nutritivo em termos de gorduras, proteínas, vitaminas, fibras e minerais (HUIS, 2013). Entretanto, o consumo de insetos ainda é restrito devido a uma percepção do consumidor de que são “sujos” e “assustadores” (CHEN, FENG e CHEN, 2009). Segundo Lombardi et al. (2018), aumentar a divulgação sobre os efeitos positivos do consumo de insetos comestíveis, usá-los em alimentos e utilizar seus produtos derivados, como os lipídeos, na forma de ingrediente alimentar, podem aumentar a disposição dos consumidores em ingerir insetos.

Os lipídeos são uma fonte de energia, representam um elemento importante da dieta e podem ser separados da biomassa de insetos usando diferentes técnicas e agentes extrativos (NONGONIERMA e FITZGERALD, 2017). Assim, diversos métodos de extração de lipídeos estão sendo estudados visando obter um processo que seja aplicado em escala industrial, de maneira alternativa sustentável e acessível (AGUILAR, 2021). Em aspectos tecnológicos, os lipídeos conferem características físicas, químicas e sensoriais nos alimentos (AGUILAR, 2021).

O valor nutricional da biomassa de insetos comestíveis é variável devido à existência de um grande número de espécies de insetos (KOUŘIMSKÁ E ADÁMKOVÁ, 2016). Certas espécies possuem altos teores de gordura (BARROSO et al., 2014), como a mosca soldado negra (MSN, *Hermetia illucens*), pertencente à ordem Diptera. Esta é uma espécie rica em lipídeos, cujo conteúdo lipídico larval de até 39% tem potencial para substituir gorduras na alimentação humana, animal e na produção de biodiesel (RAMOS-BUENO, 2016; BARRAGAN-FONSECA, DICKE e VAN LOON, 2017). No entanto, a quantidade de lipídeos recuperado das larvas depende da eficiência do método extrativo aplicado, que dentre outros, pode utilizar água ou solventes orgânicos (TZOMPA-SOSA et al., 2014). Além disso, a MSN também exibe alta eficiência como bioconversor de resíduos orgânicos durante o desenvolvimento larval (SALOMONE et al., 2017).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar dois métodos de extração de lipídeos da larva da mosca soldado negra (*Hermetia illucens*).

2.2 Objetivos específicos

- Aplicar as técnicas de extração aquosa e Bligh-Dyer para separar lipídeos da larva da mosca soldado negra.
- Quantificar o rendimento dos lipídeos extraídos da larva da MSN pelas duas técnicas extrativas avaliadas.
- Comparar a composição centesimal das biomassas obtidas nos dois métodos de extração de lipídeos das larvas da MSN.
- Caracterizar os extratos lipídicos obtidos pelas duas metodologias extrativas, quanto à cor e ao perfil de ácidos graxos.

3 CAPÍTULO I - LIPIDS FROM EDIBLE INSECTS: A REVIEW ON THE APPLICATION EXTRACTION, COMPOSITION, AND CHALLENGES

ABSTRACT

Research on new food sources is a worldwide challenge due to the constant increase in the global population. In this scenario, insects and bug-based products have been investigated as feasible food alternatives. They are nutritionally healthy and environmentally sustainable. Eating insects (entomophagy) or utilizing their macronutrients in food formulations can efficiently solve the demand for nutritious food. The benefits regarding insect-based foods are reported in the literature, mainly because they are viable sources of fat (~38%) and proteins (~68%). Fats and oils are recognized as essential nutrients in human nutrition, as they provide a concentrated source of energy and act as structural components of cell membranes and signaling pathways. The high levels of fats/oils of edible insects open the perspective in the food industry to be used as ingredients in the enrichment of several products, such as cookies, biscuits, butter, and margarine, among others, thus contributing to consumer acceptance. Insect fat/oil can be obtained using extraction techniques, such as solvent and supercritical CO₂ methods. The method depends on the insect species, fat/oil yield, and process costs. Thus, this review aims to provide current information on the consumption, processing, production, application, and extraction of edible insect oils.

Keywords: bug-based food; entomophagy; environmental sustainability, lipids, solvent.

3.1 Introduction

The world population is constantly growing and is expected to increase from 7.7 billion to 9.2 billion people in 2050 (MOK, TAN, CHEN, 2020). The increase in inhabitants will affect the already limited environmental resources, such as land, water, energy, and food (FAO, 2013). Valin et al. (2014) compared various global economic models and forecasted an increase in world food demand from 59% to 98% between 2005 and 2050. Therefore, innovative methods of food production are necessary to ensure the supply, quality, safety, and nutritive value of food, which should always be available and accessible to everyone (ALEXANDRATOS and BRUINSMA, 2012).

Insects are supposed to be an alternative food supply because they are (1) a new food source able to contribute to environmental sustainability since insect farming causes lower levels of greenhouse gas emission compared to conventional agriculture and livestock and requires less water, feed, space, housing, and maintenance (HUIS et al., 2013); (2) a nutritive food as the insect larvae contents of protein, vitamin, and mineral are similar to that of fish and meat; and (3) a source of essential fatty acids since the composition of omega-3 and omega-6 fatty acids in insect larva meal is comparable to that of fish and higher than in cattle and pigs (HUIS et al., 2013).

Insects belong to the arthropod group with an exoskeleton, a three-part body (head, chest, and abdomen), three pairs of articulated legs, compound eyes, and two antennae (HUIS et al., 2013). They are among the most abundant and specific groups of animals. More than 1 million species of insects have been described thus far (ARAQUE and MONTENGRO, 2021). More than 2100 different species, divided into 18 orders, were reported as edible insects (TANG et al., 2019), of which 1900 species are consumed by humans (LESNIK, 2018). The nutritional content of many insects needs to be further investigated because it is affected by species, development stage, insect diet, and processing (LUCAS et al., 2019; OONINCX and DIERENFELD, 2012). Nevertheless, Castro-Lopez et al. (2020) reported edible insects as a good source of proteins (33% to 68.33%), fats (18.71% to 37.95%), minerals (61.58 mg/100 g to 539.85 mg/100 g), and energy (427 kcal/100 g to 655 kcal/100 g).

Entomophagy is the practice of eating insects by humans and animals (KLUNDER et al., 2012). After harvesting in domesticated environments or nature, edible insects are processed by freeze-drying, boiling, drying, dehydrating, or roasting and used to fortify food as a source of protein, fat, or chitin (HUIS et al., 2013). It should be noted that the ingestion of insects as a type of food is not new, as some cultures have practiced it to provide unique and nutritious food to consumers (ELORDUY, 2009).

Edible insects are an acceptable food source among specific consumers, especially young males and people concerned about environmental issues regarding food sources (SOGARI, MENOZZI, and MORA 2017; VERBEKE, 2015). Therefore, this practice has gained interest globally. Thus, the present review aims to compile current information on the consumption, processing, production, application, and extraction of edible insect oils and challenges regarding insects as a potential food source.

3.2 Insects as an alternative food source

Insects are the subject of thriving scientific literature since (1) they provide humans with various commercial products, such as honey, silk, and dyes; (2) they have inspired technology and engineering methods, such as the use of strong elastic silk proteins of arthropods (e.g., spiders) as biomaterials (LEWIS, 2006); (3) their proteins can be applied in medicine, such as the resilin protein that is used to repair arteries due to its elastic properties. This protein acts in insect jumping (ELVIN et al., 2005); (4) their polymers can be used in industries such as chitosan in food packaging due to their biodegradability and antimicrobial activity against bacteria, fungi, and yeasts. Chitosan is a material derived from chitin found in the exoskeleton of insects (CUTTER, 2006; PORTES et al., 2009); (5) the impacts of chitosan farming on the environment are low compared with those of other animal food sources, as depicted in Figure 1, which contributes to combatting climate change.

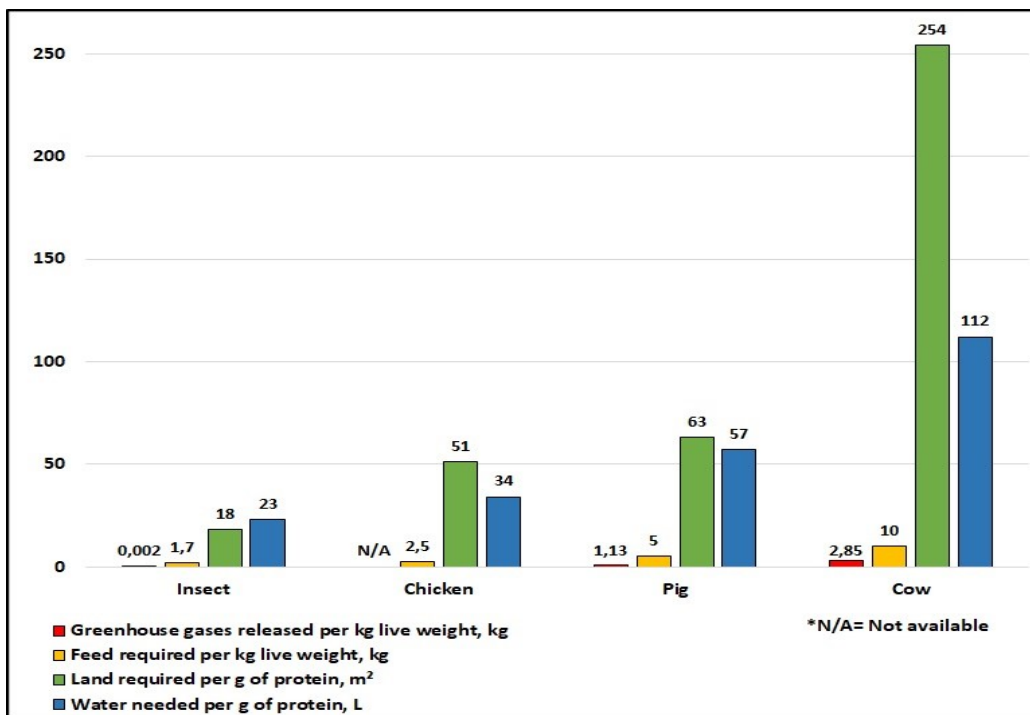


Figure 1: Environmental impact parameters on insect breeding compared to other animals
Source: Oonincx et al. (2010): greenhouse gases; Miglietta et al. (2015): water; Oonincx and de Boer (2012): land; Smil (2002): feed.

Although there are still cultural barriers, research can help to improve the perception of insects as food by incorporating them into appropriate food products with good sensory quality (TAN, VERBAAN, STIEGER, 2017). Therefore, edible insects and their constituents are arousing interest as potential ingredients in food products among researchers, lawmakers, and the food industry (FAO, 2013).

Figure 2 shows some insect-based delicacies. In the Uganda districts of Kampala and Makaka, a market study of the delicacy grasshopper *Ruspolia nitidula* described that 1 kg of the insect fetched prices 40% higher than 1 kg of beef (AGEA et al., 2008). Thus, insects are also a product of high economic value.



Figure 2: Insect-based delicacies

(A) Sushi with insects in a restaurant in Japan (<https://www.nonilo.com/insect-sushi>); (B) Insect chocolates made in France (<https://www.bitlanders.com/blogs/are-insect-chocolates-the-next-big-thing/76158>); (C) Roasted insect skewers sold on the streets of China (<http://www.danielmcbane.com/china/eating-scorpions-wangfujing-beijing/>).

According to Jongema (2017), the largest group of edible insects is Coleoptera, followed by Lepidoptera, Hymenoptera, Orthoptera, Hemiptera, Odonata, Isoptera, and Diptera, as shown in Figure 3.

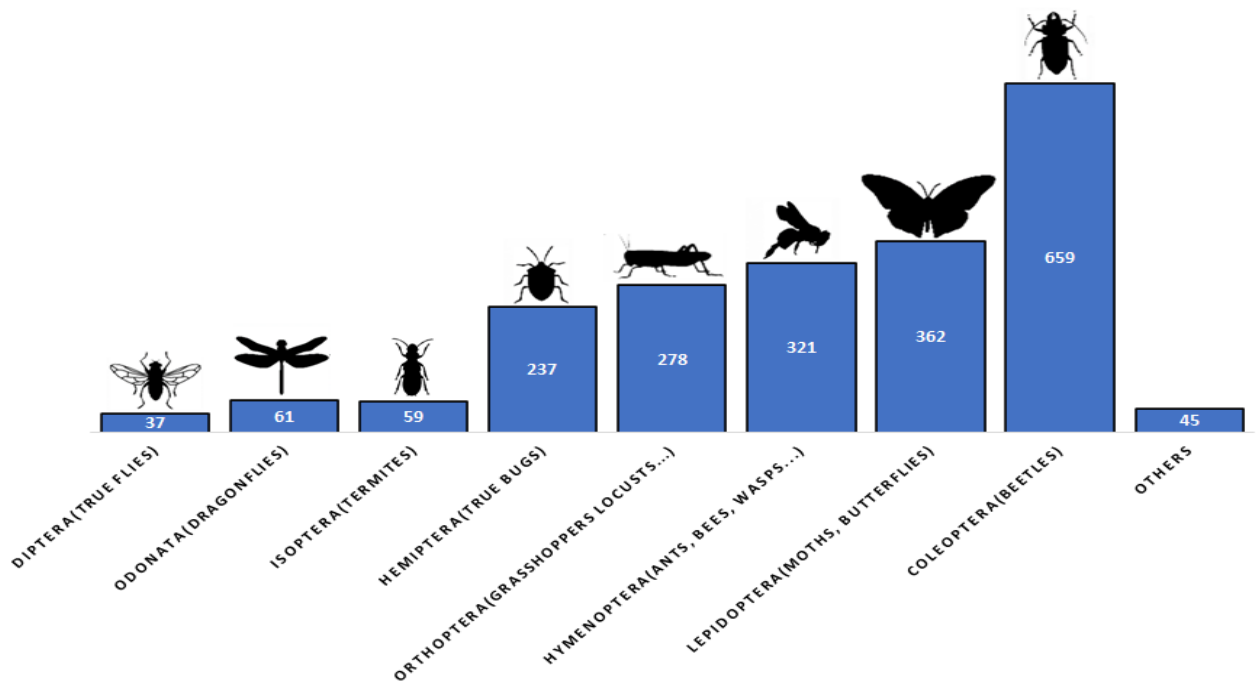


Figure 3: Edible insect species in the world

Consumers consider salty insect foods more appropriate than sweet foods because insects are advertised as a meat alternative (TAN et al., 2015; TAN, BERG, SRIEGER, 2016). A German survey with consumers on accepting an insect-based hamburger stated that 41.9% of the participants were willing to consume an insect-based hamburger (LAMMERS, ULLMANN, FIEBELKORN, 2019). In addition to insects, other new food sources are sustainable animal-based protein alternatives, such as mycoproteins, algae, cultured meat, and plant-based products (SMETANA et al., 2015).

The preference of four insect-based snacks was evaluated through a sensory panel with 62 participants aged between 18 and 35 years: (a) chips with 15% cricket flour (*Acheta domestica*); (b) dry whole crickets (*A. domestica*) with salt and vinegar; (c) a chocolate bar with figs and 5.5% cricket (*A. domestica*) flour; and (d) entire and dry *Tenebrio molitor* larvae. The sensory scale from 1 to 9 corresponding to "1 = I did not like it slightly" and "9 = I liked it extremely" was used to represent the results. The chocolate bar with insect flour was the most appreciated product (6.95), followed by whole crickets (6.64) and chips (6.33), and the whole and dried larvae of *Tenebrio molitor* was the snack that received the lowest score (6.02) (CICATIELLO, VITALI, LACETERA, 2020). Correia (2019) found that incorporating *Acheta domestica* cricket flour in supplemented biscuits seems to be sensory imperceptible up to 5% (mass %) in the flour mixture.

Edible insect powders are added to foods with low protein content to increase their nutritional value. In Thailand and the Lao People's Democratic Republic, milled, giant bugs (*Lethocerus indicus*) are very popular as food ingredients (HUIS et al., 2013). Oliveira et al. (2017) added cinerea cockroach (*Nauphoeta cinerea*) flour to bread for the protein enrichment of food formulations. The addition of 10% cinnamon cockroach flour to bread increased 49.16% in the protein content of insect-based bread compared to the traditional one, a bread with a good overall quality index and low values of crumb hardness.

Amarender et al. (2020) reported the macronutrient composition of commercially available cricket (*Gryllidae*) flour of 63.43% protein, 20.86% fat, 4.65% ash, and 7.56% carbohydrates. The calorie value of the ground cricket powder was 472 kcal/100 g. Ghosh et al. (2017) reported a variation in the lipid content of edible insects (*Allomyrina dichotoma*, *Protaetia brevitarsis*, *Tenebrio molitor*, *Teleogryllus emma adult*) from South Korea between 11.9% and 34.5%. The authors suggested the commercial use of *T. molitor* oil since it exhibited a high lipid content. Lipids are used in various applications, including food, biofuels, oleochemicals, pharmaceuticals, and cosmetics, and are the insects' second-largest nutritional component after the protein content (GHAZANI MARANFONI, 2021; YI et al., 2013).

3.3 Edible insects and food allergies

Food allergies are considered a serious public health and food safety concern (YANG et al., 2022), as it is estimated that more than 220 million people worldwide suffer from food allergies (DUNLOP and KEET, 2018; SCHUSSLER; et al., 2018), mainly children (SCHUSSLER et al., 2018). Immune-mediated reactions can cause severe reactions and are responsible for significant morbidity (SIHERER et al., 2014; LONGO et al., 2014; SILVA et al., 2013).

According to experts at the National Institute of Allergy and Infectious Diseases, food allergy is “an adverse health effect arising from a specific immune response that occurs reproducibly on exposure to a given food” (VALENTA et al., 2015). As insects are introduced into the diet as a new food source, allergenicity issues are critical to protecting consumers' health (DOWNS, JOHNSON, ZECE, 2016).

People already ingest, without knowing it, approximately 500 g of traces of insects per year (FDA, 2005). Thus, the increase in entomophagy makes it essential to understand the allergy to edible insects that can lead to mild to severe symptoms, such as dermatitis, swelling, pain, anaphylaxis, and necrosis among others (DOWNS, JOHNSON, ZECE, 2016). Some proteins contained in edible insects, such as arginine kinase, α -amylase, and tropomyosin, are considered allergens (MUREFU et al., 2019). It was recently reported that the tropomyosin compound from the field cricket (*Gryllus bimaculatus*) could induce an allergic reaction in individuals with an allergy to crustaceans, which should be considered before consuming the insect (KAMEMURA et al., 2019).

Allergy after ingestion of edible insects has also been reported in some case studies. JI et al. (2009) reviewed the causes of food-induced anaphylaxis and reported that insects were the third source of food allergies behind fruits and aquatic products in China. Among the 358 conditions of food-induced anaphylaxis found in the literature, 54 were attributed to the grasshopper, 5 to silkworm pupae, 1 to cicada pupa, 1 to bee pupa, 1 to bee larva, and 1 to *Clanis bilineata* moth. In China, it is estimated that more than 1,000 patients per year experience anaphylactic reactions after consuming silkworm pupae, 50 of whom receive emergency treatment for severe anaphylactic reactions (JI et al., 2008).

According to Barennes, Phimmasane, Rajaonarivo (2015), some points about insects need to be discussed, such as the side effects of insect consumption, since in their study, 7.6% of consumers reported allergy problems after eating insects, mainly grasshoppers and bed bugs. Therefore, it is important to understand through research the adverse health effects of

consumers concerning the allergenicity of insects, insect-based foods, and insect derivatives, such as proteins and lipids.

3.3 Edible insect lipids

Lipids are a diverse group of organic compounds insoluble in water and soluble in organic solvents (SMITH, 2000) with many biological functions. They act as structural components of cell membranes, participate in signaling pathways and are energy storage sources (FAHY et al., 2011). Since lipids are naturally present in foods or added to foods during processing, they play a role in nutrition and provide foods with physical, chemical, and sensory characteristics (AGUILAR, 2021; SHAHIDI and ABAD, 2018). Lipids can combat malnutrition in populations with inadequate total energy intake because dietary fats are essential macronutrients that contribute to increased energy intake (FAO, 2010; SMIT, MUSKIET, BOERMA, 2004).

According to Elorduy (2008), insect lipids can contribute to human nutrition, providing energy and essential fatty acids. The groups of health-related fatty acids, such as unsaturated fatty acids, help reduce the cholesterol content in the blood, reveal anticancer and antidiabetic actions, and improve immunomodulation (SIMOPOULOS, 2003) and act in maintaining children's health (MICHAELSEN et al., 2009). Oleic and linoleic fatty acids have been identified as the main fatty acids found unsaturated in the insect lipid composition (AGUILAR, 2021).

According to Cicatiello, Vitali, and Lacetera (2020) and Shelomi (2015), insect oils and fats used as food ingredients can also contribute to accepting this new food source. Previous studies found good functionality in food matrices supplemented with oil from black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*), *Tenebrio molitor* larva flour (*T. molitor*), desert grasshopper (*Schistocerca gregaria*), and african cricket (*Ruspolia differens*) (CHESETO et al., 2020; DELICATO et al., 2020, SMETANA et al., 2020).

Research on extracting lipids from insects as a food ingredient and their extraction mechanisms has grown in this context. Tzompa-Sosa et al. (2014) evaluated the behavior of different methods to extract lipids from insects, such as *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, *Acheta domesticus*, and *Blaptica dubious*.

3.4 Uses of edible insect oil in the human diet

The production of edible insects for humans is growing in several countries (ELHASSAN, WENDIN, OLSSON, 2019). Thus, improvements in the processing chain, sensory quality, shelf life, and insect component use as food ingredients are sought to increase the availability of insect foods and consumer acceptance (KOURIMSKÁ and ADÁMKOVÁ, 2016). An alternative to ingesting edible insects is adding lipids in food formulations rich in essential unsaturated fatty acids, such as linoleic acid and alpha-linolenic acid (AGUILAR, 2021). The global edible insect market size was estimated at USD 972.33 million in 2020 and is expected to reach USD 1,296.92 million in 2021, at a compound annual growth rate (CAGR) of 33.72% to reach USD 5,559.27 million by 2026 (RESEARCH AND MARKETS, 2021).

Oliveira et al. (2017) reported contents of 10.94% of unsaturated fatty acids for cinerea cockroach (*Nauphoeta cinerea*) oil from the total insect lipid (18.45% of the insect). The lipids extracted from the weld fly insect (*H. illucens*) ranged from 57% to 75% saturated fatty acids, the most abundant being C12: 0 (\approx 45% of the total fatty acid), C14: 0 (\approx 9% of the total fatty acid) and C16: 0 (\approx 12% of total fatty acid) (OONINCX et al., 2015; USHAKOVA et al., 2016). They are appropriate for pasta, confectionery, and margarine, among other food products (TZOMPA-SOSA and FOGLIANO, 2017).

It should be mentioned that insect lipids called insect oils are mostly liquids at room temperature. The solid insect lipids at room temperature are called insect fats, like those extracted from the larva of the black soldier fly (*H. illucens*) (LUCAS et al., 2019; TZOMPA-SOSA and FOGLIANO, 2017).

Womeni et al. (2009) described an oil extraction yield of 53.75% for larvae of the raphia weevil (*Rhynchophorus phoenicis*), 67.25% for crickets (*Homorocoryphus nitidulus*), 9.12% for grasshoppers (*Zonocerus variegates*), 49.35% for termites (*Macrotermes sp.*), 24.44% for *Imbrasia* (*Imbrasia sp.*), and 20.17% for unidentified larvae forest (*Carterpillar UI*). The main group of lipids in insects are triacylglycerols, representing approximately 80% of lipid extracts, serving as energy for periods of high energy intensity, such as long flights (KOURIMSKÁ and ADÁMKOVÁ, 2016; TZOMPA-SOSA and FOGLIANO, 2017). Phospholipids represent less than 20% (TZOMPA-SOSA et al., 2014), and steroids and aliphatic compounds are found in small amounts (CERKOWNIAK et al., 2013). Ekpo et al. (2009) found an average cholesterol content of 3.6% in the fat of termite insects (*Macrotermes bellicosus*) and caterpillars (*Imbrasia belina*), which are commonly consumed in Nigeria. Cholesterol is the most abundant sterol in insects (KOUŘIMSKÁ and ADÁMKOVÁ, 2016).

Delicato et al. (2020) used fat from black soldier fly larvae as a butter substitute in cakes and biscuits by up to 25% and in waffles by up to 50%, without influencing consumer acceptance. According to Smetana et al. (2020), lipids from *Hermetia illucens* and *Tenebrio molitor* can replace plant and animal lipids in margarine and butter. The authors also reported the possibility of using up to 75% insect lipids with improvement in yellowish product color and without adverse effects on spreading capacity.

The complete replacement of insect oils in food is still challenging due to foreign flavors. Cheseto et al. (2020) replaced butter with oil isolated from two species of locusts (*R. differens* and *S. gregaria*) during cookie production. These insect oils are frequently ingested in sub-Saharan Africa. The substitution did not change the colors of the cookies but altered their taste. Thus, cookies prepared with insect oils had more than 50% rejection for aroma and flavor, and less than 20% of respondents recommended them. Nevertheless, oil deodorization could reduce the off-flavors of insect oils. Tzompa-Sosa et al. (2021) produced cracker biscuits with 50% vegetable oil and 50% deodorized oil from *Tenebrio molitor* larvae flour, which was consumed in Sudan without causing adverse effects on consumer acceptance.

Edible insect lipids can also be utilized as a food preservative. Oil from the melon stink bug (*Aspongopus viduatus*) was added to seven bacterial isolates and found to have high antibacterial activity against gram-positive bacteria in meat products (MUSTAFA, MARIOD, MATTHÄUS, 2008; MARIOD et al., 2005).

3.5 Extraction methods and characterization of edible insect oils

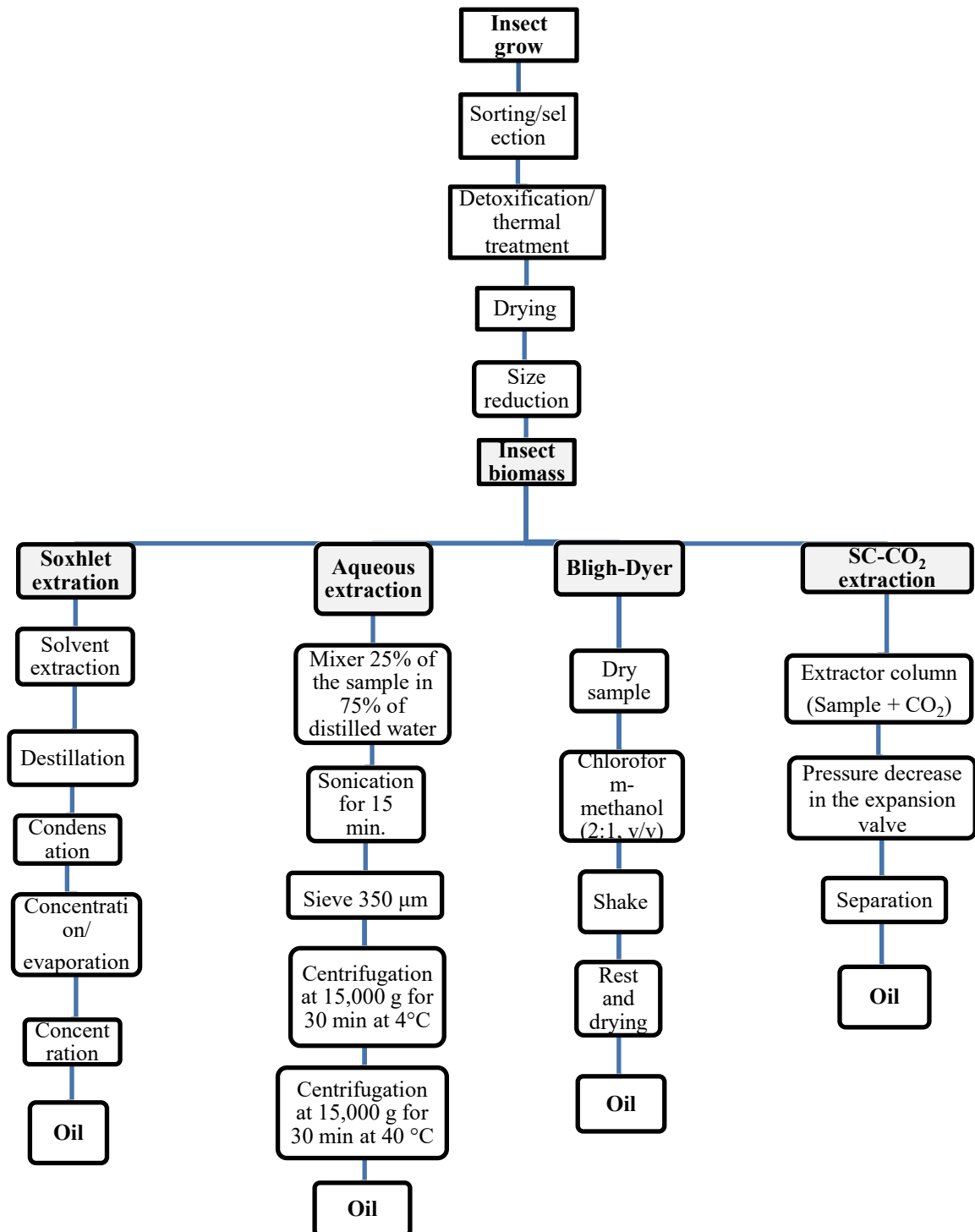
Edible insects can provide large amounts of lipids, which vary according to their species and life stage (DOSSEY, TATUM, GILL et al., 2016; TZOMPA-SOSA et al., 2014) since lipids accumulate more in the larval stage than in the adult stage. Lipids can be separated from insect biomass using different separation techniques, such as Soxhlet, Bligh-Dyer, aqueous extraction, and supercritical CO₂ extraction, as shown in Table 1 (NONGONIERMA and FITZGERALD, 2017; PURSCHKE et al., 2016; TZOMPA-SOSA et al., 2014).

Table 1. Lipid extraction methods for edible insects

Insect	Extraction technique	Operating conditions	Extraction yield or percentage of extraction	Reference
<i>Tenebrio molitor</i> <i>Alphitobius diaperinus</i> <i>Acheta domesticus</i> <i>Blaptica dubia</i>	Soxhlet	Solvent: petroleum ether	12.7% for <i>T. molitor</i> 10.7% for <i>A. diaperinus</i> 6.0% for <i>A. domesticus</i> 7.6% for <i>B. dubia</i>	TZOMPA-SOSA et al., 2014.
<i>Acheta domesticus</i>	Soxhlet	Solvents: hexane petroleum ether	14.6% for hexane 14.7% for petroleum ether 15.1% for ethyl acetate 22.7% for ethanol	LAROCHE et al., 2019
<i>Tenebrio molitor</i>	Soxhlet	ethyl acetate ethanol	25.5% for hexane 24.3% for petroleum ether 25.7% for ethyl acetate 28.8% for ethanol	
<i>Black Soldier Fly (BSF)</i>	Bligh-Dyer	Solution: Chloroform:methanol 1:2 (v/v)	33.32%	RODRIGUE S et al., 2022
<i>Copris nevinsoni</i> Waterhouse <i>Brachytrupes portentosus</i> Lichtenstein <i>Holotrichi</i> sp.	Bligh-Dyer	Solutions: Chloroform:methanol (2:1, v/v) + 10 mg/L of butylated hydroxytoluene	13.61% for <i>C. nevinsoni</i> 20.6% for <i>B. portentosus</i> 5.41% for <i>Holotrichi</i> sp 36.87% and 13.46% for <i>O. smaragdina</i> 36.55% for <i>Termes</i> sp.	RAKSAKAN TONG et al., 2010

<i>Oecophylla smaragdina</i> Fabricius <i>Termes</i> sp. <i>Tessaratomya papillosa</i> <i>Meimuna opalifera</i> Walker		+ 0.1 mg/mL of nanodecanoic acid	23.55% for <i>T. papillosa</i> 8.53% for <i>M. opalifera</i>	
<i>Pachymerus nucleorum</i>	Bligh-Dyer	Chloroform:metanol	37.87%	ALVES et al., 2016
<i>Tenebrio molitor</i> <i>Alphitobius diaperinus</i> <i>Acheta domesticus</i> <i>Blaptica dubia</i>	Aqueous extraction	Centrifugation: 15000g (a) 4°C/30 min (b) 40°C/30 min	7.8% for <i>T. molitor</i> 5.5% for <i>A. diaperinus</i> 1.6% for <i>A. domesticus</i> 3.1% for <i>B. dubia</i>	TZOMPA-SOSA et al., 2014
<i>Schistocerca gregaria</i> <i>Ruspolia differens</i>	Aqueous extraction	Heating: 80°C/3 h agitation filtration centrifugation: 30 min/14000 rpm	4% for <i>S. gregaria</i> 8% for <i>R. differens</i>	CHESETO et al., 2020
<i>Acheta domesticus</i> <i>Tenebrio molitor</i>	SC-CO ₂	325 bar 75 min	11.9% for <i>A. domesticus</i> 22.1% for <i>T. molitor</i>	LAROCHE et al., 2019
<i>Tenebrio molitor</i> <i>Zophobas morio</i>	SC-CO ₂	300 bar 110.4 kg/h CO ₂	30.8% for <i>T. molitor</i> 33.6% for <i>Z. morio</i>	KIEROŃCZ YK et al., 2018

Figure 4 shows a typical scheme of the separation of edible insect oil, in which oil



extraction is carried out using three methods: Soxhlet, Bligh-Dyer, aqueous extraction, and SC-CO₂.

Figure 4: Flowchart of extraction methods

(Source: Tzompa-Sosa et al., 2014; Laroche et al., 2019; Bligh e Dyer,1959)

3.5.1 Soxhlet extraction of edible insect lipids

Soxhlet extraction is a straightforward methodology widely used in industry that requires little training and exhibits a high extraction capacity. Soxhlet extraction is still a reference technique compared to other leaching techniques (ZYGLER, SLOMINSKA, NAMIESNIK, 2012). An evaporation/concentration step after extraction is mandatory because it requires a large quantity of solvent. Carbon disulfide, petroleum ether, benzene, trichloroethylene, alcohol, pentane, and commercial hexane are the most commonly used solvents (HAMM, HAMILTON, CALLIAUW, 2013; CASTRO and PRIEGO-CAPOTE, 2010).

Soxhlet extraction has been used to isolate lipids from foods (VIROT et al., 2007), oilseeds (VIROT et al., 2008), and insects. Wu et al. (2019) applied the Soxhlet method to extract lipids from *Tenebrio molitor* larva meal and found 16 fatty acids with higher contents for oleic acid (C18:1) ($45.79 \pm 0.11\%$), linoleic acid (C18:2) ($27.99 \pm 0.19\%$), palmitic acid (C16) ($16.27 \pm 0.06\%$), and α -linolenic acid (C18: 3) ($2.98 \pm 0.00\%$). Sabolová et al. (2016) also used petroleum ether to extract lipids from *Zophobas morio* and *Tenebrio molitor*, whose composition on sterols and tocopherols was determined.

The Soxhlet extractor contains a distillation flask, sample holder (thimble), siphon, and condenser (ZYGLER, SLOMINSKA, NAMIESNIK, 2012). Generally, insect biomass is wrapped in filter paper or a Soxhlet cartridge and placed in the thimble. Then, the solvent vapors from the distillation flask pass through the thimble containing the material to be extracted and liquefied in the condenser. Once the liquid reaches the overflow level in the thimble, a siphon aspires to the solution, and the liquid falls back into the distillation flask, carrying the extracted solutes into the bulk liquid. Solute and solvent separation takes place in the distillation flask. Then, the solute is left in the vial, and the solvent vapors pass back into the sample. The operation is repeated until complete extraction is achieved (LÓPEZ-BASCÓN and CASTRO, 2020; WANG and WELLER, 2006).

A disadvantage of Soxhlet extraction is assembly without agitation, which would help speed up the process. Another is the solvent waste during the extraction, making the process more expensive and not environmentally friendly (CASTRO and PRIEGO-CAPOTE, 2010).

3.5.2 Bligh-Dyer extraction of edible insect lipids

The methodology of Bligh and Dyer (1959) is commonly used to analyze total lipids and is also known to provide high extraction yields (MURPHY and AXELSEN, 2010; MILNE et al., 2006). This method was originally proposed to measure the lipid content of mammalian cells that do not contain chlorophyll but was later used to measure the lipid content of many different cells, including those with chlorophyll. The method involves using water and the organic solvents, methanol, and chloroform, in specific proportions (ARCHANAA, MOISE, and SURAISHKUMAR, 2012). After extraction with a single-phase mixture of chloroform, methanol, and water, the sample is separated into organic and aqueous phases. Lipids are found in the non-polar organic phase, while polar and water-soluble metabolites are in the aqueous phase (BUYER et al., 2019).

The combination of methanol and chloroform is used to non-selectively and reproducibly extract a wide range of lipid classes from various sample matrices (ULMER et al., 2018). In contrast, in the study by MBA et al. (2021), the lipids extracted from the larva *Rhynchophorus phoenicis* were mainly composed of triacylglycerols (0.21 to 0.95 mg/mL) and free fatty acids (0.06 to 0.62 mg/mL). However, the Bligh-Dyer and other efficient laboratory extractions are not scalable due to an economic and ecological impediment, in this case, regarding highly toxic and expensive solvents such as chloroform, and relatively less toxic but still harmful to health, methanol (PINTO et al., 2022). Even though the use of chlorinated solvents remains problematic (FIGUEIREDO et al., 2019), the method is still widely used in lipid extraction, and chemists generally apply a modification of this method (SMEDES and ASKLAND, 1999, ABIMBOLA, CHRISTODOULATOS, LAWAL, 2021; TRIEBL et al., 2014).

3.5.3 Aqueous extraction of edible insect lipids

The aqueous extraction of lipids is advantageous because it does not use organic solvents and allows the simultaneous recovery of oils and proteins (CAMPBELL et al., 2011; ROSENTHAL et al., 1996). Aqueous extractions are industrially applied to extract animal fat and vegetable oils for safety, quality, and the environment (TZOMPA-SOSA et al., 2014).

According to Campbell et al. (2010), the typical steps of the aqueous extraction process are (1) mechanical disruption of cells by grinding; (2) oil and protein extraction with or without enzymes; (3) centrifugal separation of the rich oil emulsion to split the insoluble solid phase

from the aqueous phase containing soluble solids; and (4) demulsification of the oil-rich cream fraction to recover the free oil.

Lipids from four insects commercially available in Europe (*Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, *Acheta domesticus*, and *Blaptica dubia*) were obtained through aqueous extraction. The lipids were characterized for color, thermal behavior, and aroma profile. The wide range of melting peaks, from -30.7 to 22.7 °C, indicated insect lipids as liquid (oil) at room temperature. The oil color was bright reddish-yellow, and most oils had compounds related to pleasant aromas, except for the *Blaptica dubia* (TZOMPA-SOSA et al., 2019). Aqueous extraction of insect lipids provided high-quality oils similar to virgin oils, but the yield was lower than supercritical CO₂ extraction (TZOMPA-SOSA and FOGLIANO, 2017).

3.5.4 Supercritical carbon dioxide extraction of edible insect lipids

Carbon dioxide is the most common solvent used in supercritical fluid extraction applications, as it is readily available in high purity, safe to handle, and physiologically harmless at low food levels. Carbon dioxide is characterized by a critical point, defined in terms of critical temperature (above 31.1°C) and pressure (above 7.38 MPa), making it an ideal solvent for the extraction of thermally sensitive materials (SAHENA et al., 2009; BRUNNER, 2005; BRUNNER, 1994). Thus, supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) extraction is organic solvent residue-free and promotes better aromatic retention.

The CO₂ fluid is brought to a specific pressure-temperature combination, which allows it to achieve supercritical solvent properties for selectively extracting lipids from the sample matrix. Thus, the system is exposed to the CO₂ fluid under controlled time, temperature, and pressure conditions, allowing lipids to dissolve in the SC-CO₂. Then, the dissolved lipid is separated from the supercritical solvent by decreasing the system pressure (NIELSEN, 2010).

Purschke et al. (2016) used SC-CO₂ for lipid extraction from edible *Tenebrio molitor*. The authors reported values of 72% for fatty acids and 42% for oleic acids in lipid composition. The extraction kinetics showed an increase in lipid solubility in SC-CO₂ with increasing pressure, which sped the extraction.

Since different lipid extraction methods result in different yields, the method for oil extraction must be carefully selected according to the desired application and the costs of each process (LUCAS et al., 2020; PEREZ-PALACIOS et al., 2008).

3.6 Patents on edible insect oil extraction

The unit operations supercritical CO₂ extraction and milling and heat treatment were used to develop the products and processes from edible insect oil in the patents listed in Table 2. Thus, faced with the low number of patents reported in the literature, it can be emphasized that developing products and processes using edible insects is a study subject of interest to researchers and industry.

Table 2. Patents on edible insect oil

	Title	Claim	Product/process
CN106360731A (2017)	Insect oil health product and method of preparation of insect oil	A health care product from insect oil made with 75-90 parts (mass%) of dried barley larvae, 1-20 parts of yellow cattail, and 1-20 parts of cassia seeds	An insect oil health product and a preparation method; the product regulates blood lipids
CN101117612B (2012)	Edible insect oil and its method of production and application	Production and processing of oil from edible insects (locusts and yellow mealworms): grow/purchase, sorting, detoxification, hot water treatment, lyophilization, crushing, supercritical CO ₂ extraction, and other processes	Health products from edible oil with functional function for food, medicine, cosmetic; extraction rate up to 30% oil
CN1331422C (2010)	Pupa oil and its production process	Pupa oil production: silkworm pupa grinding, supercritical CO ₂ oil extraction, adsorption, oil separation. Method advantages: easy operation, low cost, removal of odor, solution for technical	A product with a high unsaturated fatty acid content, low palmitic acid content, no fishy odor, and good mouthfeel

		problems in the pupa oil production	
CN101348749A (2011)	Method of using fly larvae to produce oil	Fly larvae oil production: washing and cleaning of fly larvae, kill and dry them up to 10% moisture, heat it up to 3% moisture, press it (90-120°C), squeeze out it of more than 60% of oil, oil disinfection	Substitute of fuel oil and chemical feedstock. After refining, it can be used as high-quality oil for medicine, chemical industry, food, among others

3.7 Challenges

Despite the viability of insect oil as a food source alternative, there are some obstacles to its use in human nutrition since insects can act as vectors of pathogenic microorganisms such as bacteria, fungi, and parasites (SPIEGEL, 2016; ZIELIŃSKA et al., 2018). For example, most moth larvae (*Comadia redtenbacheri*), traditionally used as food in Mexican cuisine, show signs and symptoms of infection by bacteria such as *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter calcoaceticus*, and *Bacillus cereus*, which poses a potential human health risk (HERNANDEZ-FLORES et al., 2015). According to Rumpold and Schlüter (2013), safe and hygienic practices are needed to distribute edible insects on an industrial scale. Besides, some sensory properties of edible insect oils can prejudice consumer acceptance of their derived products; thus, research to improve oil sensory characteristics, such as color and taste, is necessary to boost their use in the food sector.

3.8 Final considerations

Edible insects are alternative suppliers of food ingredients such as proteins, oils, and lipids for humans because the predicted growth of conventional food matrices will not be enough to feed people worldwide in the future. Insect oil in cookies, cakes, hamburgers, chocolate bars, and butter was accepted by consumers from countries with no eating-insect culture. Thus, the demand for new insect-based foods may increase in the coming years, and these can become commonly found products. Nevertheless, more studies on extracting oils from

edible insects are still needed to improve the quality, process conditions, yield, and sensory characteristics of the oils, as no precise downstream process is applied to obtain oil.

3.9 References

- ABIMBOLA, T.; CHRISTODOULATOS, C.; LAWAL, A. Performance and optimization studies of oil extraction from *Nannochloropsis spp.* and *Scenedesmus obliquus*. **Journal of Cleaner Production**, 311, 127295, 2021.
- ALVES, A. V.; SANJINEZ ARGANDOÑA, E. J.; LINZMEIER, A. M., CARDOSO, C. A. L.; MACEDO, M. L. R. Chemical Composition and Food Potential of *Pachymerus nucleorum* Larvae Parasitizing *Acrocomia aculeata* Kernels. **PLOS ONE**, 11(3), 2016.
- ARCHANAA, S.; MOISE, S.; SURAIISKUMAR, G. K. Chlorophyll interference in microalgal lipid quantification through the Bligh and Dyer method. *Biomass and Bioenergy*, v. 46, p. 805-808, 2012.
- AGEA, J. G., BIRYOMUMAISHO, D., BUYINZA, M. NABANOGA, G. N. Commercialization of *Ruspolia nitidula* (*Nsenene grasshoppers*) in Central Uganda. **African Journal of Food Agriculture and Development**, v.8(3), p.319–332, 2008.
- AGUILAR, J. G. S. An overview of lipids from insects. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 33, 2021. Disponível em <<https://www-sciencedirect.ez27.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S1878818121000633#bib3>>. ACESS: 14 May 2021.
- ALEXANDRATOS, N.; BRUINSMA, J. **World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision**. FAO, ROMA, p. 1-154, jun. 2012. Available: <https://ageconsearch.umn.edu/record/288998/>>. ACESS: 28 apr. 2021.
- AMARENDER, R. V.; BHARGAVA, K.; DOSSEY, A. T.; GAMAGEDARA, S. Lipid and protein extraction from edible insects-crickets (*Gryllidae*). **LWT - Food Science Technology**, v. 125, May 2020.
- ARAQUE, R. O.; MONTENEGRO, E.E. Edible insects: A food alternative for the sustainable development of the planet, **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 23, apr. 2021.
- BARENNE, H.; PHIMMASANE, M.; RAJAONARIVO, C. Insect Consumption to Address Undernutrition, a National Survey on the Prevalence of Insect Consumption among Adults and Vendors in Laos. *Plos one*, 10(8), 2015.

- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), p. 911-917, 1959.
- BRUNNER G. **Gas Extraction. An Introduction to Fundamentals of Supercritical Fluids and the Application to Separation Processes.** Springer, New York, NY, 1994.
- BRUNNER, G. Supercritical fluids: technology and application to food processing. *Journal of Food Engineering*, v.67 p.21-3, 2005.
- BUYER, J. S.; VINYARD, B.; MAUL, J.; SELMER, K.; LUPITSKY, R.; RICE, C.; ROBERTS, D. P. Combined extraction method for metabolomic and PLFA analysis of soil. *Applied Soil Ecology*, v. 135, p. 129-136, 2019.
- CAMPBELL, K. A.; GLATZ, C. E.; JOHNSON, L. A.; JUNG, S.; MOURA, J. M. N.; KAPCHIE, V.; MURPHY, P. Advances in aqueous extraction processing of soybeans. *Journal of American Oil Chemists Society*, v. 88, p. 449-465, 2011.
- CASTRO, M. D. L.; PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography*, v.1217(16), p.2383–2389, 2010.
- CASTRO-LÓPEZ, C.; SANTIAGO-LÓPEZ, L.; VALLEJO-CORDOBA, B., GONZÁLEZ-CÓRDOVA, A. F.; LICEAGA, A. M.; GARCÍA, H. S.; HERNÁNDEZ-MENDOZA, A. An insight to fermented edible insects: A global perspective and prospective, *Food Research International*, 2020.
- CERKOWNIAK, M.; PUCKOWSKI, A.; STEPNOWSKI, P.; GOŁEBIOWSKI, M. **The use of chromatographic techniques for the separation and the identification of insect lipids.** *Journal of Chromatography B*, v. 937, p.67-78, 2013.
- CHESETO, X.; BALEBA, S. B. S.; TANGA, C. M.; KELEMU, S.; TORTO, B. Chemistry and Sensory Characterization of a Bakery Product Prepared with Oils from African Edible Insects. *Foods*, v. 9, 2020.
- CICATIELLO, C.; VITALI, A.; LACETERA, N. How does it taste? Appreciation of insect-based snacks and its determinants. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, v.21, p.100-211, oct. 2020.
- CORREIA, P. J. S. F. **Desenvolvimento de produtos de pastelaria elaborados com farinha de insetos.** 2019. 54f. Dissertação (Mestrado em alimentação Coletiva) - Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto, Porto, 2019.
- CUTTER, C.N. Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods. *Meat Science*, v.74(1), p.131–142, 2006.
- CN106360731A. Insect oil health product and method of preparation of insect oil. 2017.

Available in <<https://patents.google.com/patent/CN106360731A/en?q=CN106360731A>>. Access: 18 jan. 2022.

CN101117612B. Edible insect oil and its method of production and application, 2012. Available in <<https://patents.google.com/patent/CN101117612B/en?q=CN101117612BEdible+insect+oil+and+its+method+of+production+and+application>>. Access: 18 jan. 2022.

CN101348749A. Method of using fly larvae to produce oil, 2011. Available in <<https://patents.google.com/patent/CN101348749A/en?q=CN101348749A>>. Access in 18 jan. 2022.

CN1331422C. Pupa oil and its production process, 2010. Available in: <<https://patents.google.com/patent/CN1331422C/en?q=CN1331422C>>. Access in: 18 jan. 2022.

DELICATO, C.; SCHOUTETEN, J.; DEWETTINCK, K.; GELLYNCK, X.; TZOMPA-SOSA, D. A. Insect margarine: Processing, sustainability and design. **Food Quality and Preference**, v. 79, jan. 2020.

DIJKSTRA, A. J.; SEGERS, J.C. **Production and refining of oils and fats**. F.D. Gunstone, J. L. Harwood, A.J. Dijkstra (Eds.), *The Lipid Handbook* (3rd ed.), CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 143-251, 2007.

DOSSEY, A. T, TATUM, J. T.; GILL, M. W. L. Modern insect-based food industry: current status, insect processing technology, and recommendations moving forward. A.T. Dossey, J.A. Morales–Ramos, M.G. Rojas (Eds.), **Insects as Sustainable Food Ingredients**, Academic Press, San Diego .p. 113-152, 2016.

DOWNS, M.; JOHNSON, P.; ZEECE, M. Insects and Their Connection to Food Allergy. **Insects as Sustainable Food Ingredients**, 255-272, 2016.

DUNLOP J. H; KEET C. A. Epidemiology of food allergy. **Immunol. Allergy Clin. Immunol.** v. 38, p.13-25, 2018.

EKPO, K. E.; ONIGBINDE, A.; ASIA, I. O Pharmaceutical potentials of the oils of some popular insects consumed in southern Nigeria. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology** v.3(2), p.051-057, 2009.

ELHASSAN, M.; WENDIN, K.; OLSSON, V.; LANGTON, M. Quality Aspects of Insects as Food-Nutritional, Sensory, and Related Concepts. **Foods**, v.8(3), p.95. 2019.

ELORDUY, J. R. Anthro-po-entomophagy: cultures, evolution and sustainability. **Entomological Research**, México, v.39, p. 271-288, sep. 2009.

- ELORDUY, R. J. Energy supplied by edible insects from Mexico and their nutritional and ecological importance. **Ecology of Food and Nutrition**, v.47, 280–297, 2008.
- ELVIN, C. M.; CARR, A. G.; HUSON, M. G., MAXWELL, J. M., PEARSON, R. D., VUOCOLO, T., LIYOU, N. E.; WONG, D. C. C., MERITT, D. J.; DIXON, N.E. Synthesis and properties of crosslinked recombinant pro-resilin. **Nature**, v.437, p.999-1002. 2005.
- FAHY, E.; COTTER, D., SUD, M.; SUBRAMANIAM, S. Lipid classification, structures and tools. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*. **Molecular and Cell Biology of Lipids**, v.1811(11), p.637-647, 2011.
- FAO. **Edible insects. Future prospects for food and feed security**. Food and Agriculture Organization of the United Nations, p.171, 2013.
- FAO. **Fats and fatty acids in human nutrition: Report of an expert consultation**, Geneva. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, p 10–14, 2010.
- FAO. Food security. 2006. Available in <https://www.usaid.gov/sites/default/files/documents/1860/BF%20Fact%20Sheet%20-%20Food%20Security.pdf> > Access: 28 jun. 2021.
- FAO (United Nations Food and Agriculture Organization). 2013. Available in <http://www.fao.org/docrep/018/i3253e/i3253e00.htm>>. Access : 04 jul.2021.
- FDA. **Defect Levels Handbook. The Food Defect Action Levels: Levels of Natural or Unavoidable Defects in Foods That Present No Health Hazards for Humans** (2005).
- FIGUEIREDO, A. R. P.; DA COSTA, E.; SILVA, J.; DOMINGUES, M. R.; DOMINGUES, P. The effects of different extraction methods of lipids from *Nannochloropsis oceanica* on the contents of omega-3 fatty acids. **Algal Research**, 41, 101556, 2019.
- GHAZANI, S. M.; MARANGONI, A. Microbial lipids for foods. **Trends in Food Science e Technology**, 15p. 16 oct. 2021.
- GHOSH, S.; LEE, S.-M.; JUNG, C.; MEYER-ROCHOW, V. B. Nutritional composition of five commercial edible insects in South Korea. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v.20(2), p.686-694, 2017.
- HAMM, W.; HAMILTON, R. J.; CALLIAUW, G. **Edible Oil Processing**, ed. 2, p.97-125, 2013.
- HERNÁNDEZ-FLORES, L.; LLANDERAL-CÁZARES, C.; GUZMÁN-FRANCO, A. W.; ARANDA-OCAMPO, S. Bacteria Present in *Comadia redtenbacheri* Larvae (*Lepidoptera: Cossidae*). **Journal of Medical Entomology**, v..52(5), p.1150-1158, 2015.
- HUIS, A. V.; ITTERBEECK, J. V.; KLUNDER, H.; MERTENS, E.; HALLORAN, A.; MUIR, G.; VANTOMME, P. **Edible insects: future prospects for food and feed security**, Food and

- Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2013. Available in <<https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/fulltext/258042>>. Access: 24 apr. 2021.
- JI, K.; CHEN, J.; LI, M.; LIU, Z.; WANG, C.; ZHAN, Z., ... XIA, Q. Anaphylactic shock and lethal anaphylaxis caused by food consumption in China. **Trends in Food Science & Technology**, 20(5), 227-231, 2009.
- JI, K. M.; ZHAN, Z. K.; CHEN, J. J.; LIU, Z. G. Anaphylactic shock caused by silkworm pupa consumption in China. **Allergy**, 63(10), 2008.
- JONGEMA, Y. **Worldwide list of recorded edible insects**. Department of Entomology, Wageningen University & Research. Netherlands, 2017.
- KAMEMURA, N.; SUGIMOTO, M.; TAMEHIRO, N.; ADACHI, R.; TOMONARI, S.; WATANABE, T.; MITO, T. Cross-allergenicity of crustacean and the edible insect *Gryllus bimaculatus* in patients with shrimp allergy. **Molecular Immunology**, 106, p. 127-134, 2019.
- KIEROŃCZYK, B., RAWSKI, M., JÓZEFIAK, A., MAZURKIEWICZ, J., ŚWIĄTKIEWICZ, S., SIWEK, M., ... JÓZEFIAK, D. Effects of replacing soybean oil with selected insect fats on broilers. **Animal Feed Science and Technology**, 240, 170–183, 2018.
- KLUNDER, H. C.; WOLKERS-ROOIJACKERS, J.; KORPELA, J. M.; NOUT, M. J. R. Microbiological Aspects of Processing and Storage of Edible Insects. **Food Control**, v. 26, p. 628-631, 2012.
- KOURIMSKÁ, L.; ADÁMKOVÁ, A. Nutritional and sensory quality of edible insects **NFS Journal**, v.4, p. 22-26, 2016.
- LAMMERS, P.; ULLMANN, L. M.; FIEBELKORN, F. Acceptance of insects as food in Germany: Is it about sensation seeking, sustainability consciousness, or food disgust? **Food Quality and Preference**. 2019.
- LAROCHE, M.; PERREAULT, V.; MARCINIAK, A.; GRAVEL, A.; CHAMBERLAND, J.; DOYEN, A. Comparison of conventional and sustainable lipid extraction methods for the production of oil and protein isolate from edible insect meal. **Foods**, v. 8, p. 1-11, 2019.
- LESNIK, J. J. **Edible Insects and Human Evolution**. University Press of Florida, 2018.
- LEWIS, R. V. Spider silk: Ancient ideas for new biomaterials. **Chemical Reviews**, 106:3762-74, 2006.
- LONGO, G.; BERTI, I.; BURKS, A. W.; KRAUSS, B.; BARBI, E. IgE-mediated food allergy in children. *The Lancet*, 382(9905), 1656-1664, 2013.
- LÓPEZ-BASCÓN, M. A.; CASTRO, L. M. D **Soxhlet Extraction**. **Liquid-Phase Extraction**, p. 327-354, 2020.

- LUCAS, A. J. S.; OLIVEIRA, L. M.; ROCHA, M.; PRENTICE, C. Edible insects: an alternative of nutritional, functional and bioactive compounds. **Food Chemistry**, 2019.
- MARIOD, A.; MATTHÄUS, B.; EICHNER, K.; HUSSEIN, I. H. Improving the oxidative stability of sunflower oil by blending with *Sclerocarya birrea* and *Aspongopus viduatus* oils. **Journal Food Lipids**, v.12, p.150–158. 2005.
- MBA, A. R. F.; DAVID-BRIAND, E.; VIAU, M.; RIAUBLANC, A.; KANSCI, G.; GENOT, C. Protein extraction yield, lipid composition, and emulsifying properties of aqueous extracts of *Rhynchophorus phoenicis* larvae extracted at pH 3.0 to 10.0. **Future Foods**, v. 4, 10037, 2021.
- MICHAELSEN, K. F., HOPPE, C., ROOS, N., KAESTEL, P., STOUGAARD, M., LAURITZEN, L., ... FRIIS, H. Choice of Foods and Ingredients for Moderately Malnourished Children 6 Months to 5 Years of Age. **Food and Nutrition Bulletin**, 30, 343–S404, 2009.
- MILNE, S.; IVANOVA, P.; FORRESTER, J.; ALEX BROWN, H. Lipidomics: An analysis of cellular lipids by ESI-MS. **Methods**, 39(2), 92–103, 2006.
- MIGLIETTA, P.; DE LEO, F.; RUBERTI, M.; MASSARI, S. Mealworms for Food: A Water Footprint Perspective. **Water**, 7(11), 6190–6203, 2015.
- MOK, W. K., TAN, Y. X., & CHEN, W. N. Technology innovations for food security in Singapore: A case study of future food systems for an increasingly natural resource-scarce world. **Trends in Food Science e Technology**, 2020.
- MUREFU, T. R.; MACHEKA, L.; MUSUNDIRE, R.; MANDITSERA, F. A. Safety of wild harvested and reared edible insects: A review. **Food Control**, 101, 209-224, 2019.
- MURPHY, R. C.; AXELSEN, P. H. Mass spectrometric analysis of long-chain lipids. **Mass Spectrometry Reviews**, 30(4), p. 579-599, 2010.
- MUSTAFA, N.E. M.; MARIOD, A. A.; MATTHÄUS, B. Antibacterial activity of *Aspongopus Viduatus* (melon bug) oil. **Journal of Food Safety**, v. 28, p.577–58, 2008.
- NONGONIERMA, A. B.; FITZGERALD, R. J. Unlocking the biological potential of proteins from edible insects through enzymatic hydrolysis: a review Innovative. **Food Science Emerging Technologies**, v 43, p. 239-252, out. 2017.
- NIELSEN, S. S. **Food Analysis Laboratory**. Food Science Texts Series Manual, 2010.
- OLIVEIRA, L. M.; LUCAS, A. J. S.; CADAVAL, C. L.; MELLADO, M. S. Bread enriched with flour from cinereous cockroach (*Nauphoeta cinerea*). **Innovative Food Science is Emerging Technologies**, v.44, p.30–35, 2017.
- OONINCX, D. G. A. B.; DIERENFELD, E. S. An investigation into the chemical composition of alternative invertebrate prey. **Zoo Biology**, v.31(1), p.40-54. 2012.

- OONINCX, D. G. A. B., S. BROEKHOVEN, V. A. HUIS, V.; LOON, V. J. J. A. Feed conversion, survival and development, and composition of four insect species on diets composed of food by-products. **PLOS One**, 2015.
- OONINCX, D. G. A. B.; ITTERBEECK, J.V, HEETKAMP, M. J. W.; VAN DEN BRAND, H.; VAN LOON, J. J. A.; VAN HUIS, A. An Exploration on Greenhouse Gas and Ammonia Production by Insect Species Suitable for Animal or Human Consumption. **PLoS ONE**, 5(12), 2010.
- OONINCX, D. G. A. B., Boer, I. J. M. Environmental Impact of the Production of Mealworms as a Protein Source for Humans – A Life Cycle Assessment. **PLoS ONE**, v. 7 (12): e51145, 2012.
- PEREZ-PALACIOS, T.; RUIZ, J.; MARTIN, D; MURIEL, E.; ANTEQUERA, T. Comparison of different methods for total lipid quantification in meat and meat products. **Food Chemistry**, v.110 (4) p.1025-1029, 2008.
- PORTES, E.; GARDRAT, C.; CASTELLAN, A.; COMA, V. Environmentally friendly films based on chitosan and tetrahydrocurcuminoid derivatives exhibiting antibacterial and antioxidative properties. **Carbohydrate Polymers**, v.76(4), p.578–584, 2009.
- PINTO, L. F. R.; FERREIRA, G. F.; BEATRIZ, F. P.; CABRAL, F. A.; FILHO, R. M. Lipid and phycocyanin extractions from Spirulina and economic assessment. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 184, 105567, 2022.
- PURSCHE, B., T. STEGMANN, M. SCHREINER AND H. JÄGER, Pilot-scale supercritical CO₂ edible insect oil extraction from *Tenebrio molitor* larvae L. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.2, p.119, 2016.
- RAKSAKANTONG, P.; MEESO, N.; KUBOLA, J.; SIRIAMORNUN, S. Fatty acids and proximate composition of eight Thai edible terricolous insects. **Food Research International**, 43(1), 350-355, 2010.
- RESEARCH AND MARKETS. **Edible Insects Market Research Report by Form, Type, Application, Distribution Channel, and Region - Global Forecast to 2026 - Cumulative Impact of COVID-19**, p.185, oct.2021. Available in <<https://www.researchandmarkets.com/r/h3y69b>>. Access: 15 nov.2021.
- RODRIGUES, D. P.; CALADO, R.; PINHO, M.; DOMINGUES, R.; VÁZQUEZ, J. A.; AMEIXA, O. M. C. C. Bioconversion and performance of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) in the recovery of nutrients from expired fish feeds. **Waste Management**, v. 141, p. 183-193, 2022.

- ROSENTHAL, A.; PYLE, D. L.; NIRANJAN, K. Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 19, p. 402-420, 1996.
- RUMPOLD, B. A.; SCHLÜTER, O. K. Nutritional composition and safety aspects of edible insects. **Molecular Nutrition e Food Research**, v.57(5), p.802-823, 2013.
- SABOLOVÁ, M.; ADÁMKOVÁ, A.; KOURIMSKÁ, L.; CHRPOVÁ, D.; PÁNEK, J. Minor lipophilic compounds in edible insects. **Potravinárstvo**, v.10(1), p.400–406, 2016.
- SAHENA, F.; ZAIDUL, I. S.; M.; JINAP, S.; KARIM, A. A.; ABBAS, K. A., NORULAINI, N. A. N.; OMAR, A. K. M. Application of supercritical CO₂ in lipid extraction – A review. **Journal of Food Engineering**, v.95(2), p.240-253.2009.
- SALOMONE, R.; SAIJA, G.; MONDELLO, G.; GIANNETTO, A.; FASULO, S.; SAVASTANO, D. Environmental impact of food waste bioconversion by insects: Application of Life Cycle Assessment to process using *Hermetia illucens*. **Journal of Cleaner Production**, 140, 890–905, 2017.
- SCHUSSLER, E.; SOBEL, J.; HSU, J.; YU, P.; MEANEY-DELMAN, D.; GRAMMER, L. C.; NOWAK-WĘGRZYN, A. Workgroup Report by the Joint Task Force Involving American Academy of Allergy, Asthma & Immunology (AAAAI); Food Allergy, Anaphylaxis, Dermatology and Drug Allergy (FADDA) (Adverse Reactions to Foods Committee and Adverse Reactions to Drugs, Biologicals, and Latex Committee); and the Centers for Disease Control and Prevention Botulism Clinical Treatment Guidelines Workgroup—Allergic Reactions to Botulinum Antitoxin: A Systematic Review. **Clinical Infectious Diseases**, 66(suppl_1), p 65-72. 2018.
- SHAHIDI, F.; ABAD, A. Lipid-Derived Flavours and Off-Flavours in Food. **Reference Module in Food Science**, 2018.
- SHELOMI, M. Why we still don't eat insects: Assessing entomophagy promotion through a diffusion of innovations framework. **Trends in Food Science & Technology**, v.45(2), p.311-318, 2015.
- SICHERER, S. H.; SAMPSON, H. A. Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, 133(2), 291-307, 2014.
- SILVA, D. D.; GEROMI, M.; PANESAR, S. S.; MURARO, A.; WERFEL, T., ... HOFFMANN-SOMMERGRUBER, K. Acute and long-term management of food allergy: systematic review. **Allergy**, 69(2), 159-167, 2013.
- SIMOPOULOS, A. P. Importance of the Ratio of Omega-6/Omega-3 Essential Fatty Acids: Evolutionary Aspects. Omega-6/Omega-3 Essential Fatty Acid Ratio. **The Scientific Evidence**, p.1-22, 2003.

- SMEDES, F.; ASKLAND, T. K. Revisiting the Development of the Bligh and Dyer Total Lipid Determination Method. **Marine Pollution Bulletin**, 38(3), p. 193-201, 1999.
- SMETANA, S.; LEONHARDT, L.; KAUPPI, S.M.; PAJIC, A.; HEINZ, V. Insect margarine: Processing, sustainability and design. **Journal of Cleaner Production**, v. 264, ag. 2020.
- SMETANA, S.; MATHYS, A.; A. KNOCH, A.; HEINZ, V. Meat alternatives: Life cycle assessment of most known meat substitutes. **International Journal of Life Cycle Assessment**, v.20, p.1254-1267, 2015.
- SMITH, A. D. **Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology** (Rev. ed.), Oxford University Press, Oxford, 2000.
- SMIT, E. N.; MUSKIET, F. A. J.; BOERSMA, E. R. **The possible role of essential fatty acids in the pathophysiology of malnutrition: A review.** Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids, 71(4), 241–250, 2004.
- SMIL, V. Nitrogen and Food Production: Proteins for Human Diets. **AMBIO: A Journal of the Human Environment**, 31(2), 126–131, 2002.
- SOGARI, G.; MENOZZI, D.; MORA, C. Exploring young foodies' knowledge and attitude regarding entomophagy: a qualitative study in Italy. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v.7, p16-19, apr. 2017.
- SPIEGEL, M. V. D. **Safety of Foods Based on Insects. Regulating Safety of Traditional and Ethnic Foods**, p.205–216, 2016.
- TAN, H. S. G.; BERG, E V. D.; STIEGER, M. The influence of product preparation, familiarity and individual traits on the consumer acceptance of insects as food. **Food Quality and Preference**, v.52, p.222-231, 2016.
- TAN, H. S. G.; FISCHER, A. R. H.; TINCHAN, P.; STIEGER, M.; STEENBEKKERS, L. P. A.; VAN TRIJP, H. C. M. Exploring cultural exposure and individual experience as determinants of acceptance. **Food Quality and Preference**, v.42, p.78-89, 2015.
- TAN, H. S.G.; VERBAAN, Y. T.; STIEGER, M. How will better products improve the sensory-liking and willingness to buy insect-based foods? **Food Research International**, v.92, p.95-105, 2017.
- TANG, C., YANG, D., LIAO, H., SUN, H., LIU, C., WEI, L., LI, F. Edible insects as a food source: A review. **Food Production, Processing and Nutrition**, v.1, p.8, 2019.
- TRIEBL, A.; TRÖTZMÜLLER, M.; EBERL, A.; HANEL, P.; HARTLER, J.; KÖFELER, H. C. Quantitation of phosphatidic acid and lysophosphatidic acid molecular species using hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to electrospray ionization high resolution mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 1347, 104-110, 2014.

- TZOMPA-SOSA, D. A.; YI, L.; VALENBERG, H. J.F.; BOEKEL, M. A. J. S.; LAKEMON, C. M. M. Insect lipid profile: aqueous versus organic solvent-based extraction methods. **Food Research International**, v.62, p.1087-1094, aug. 2014.
- TZOMPA-SOSA, D. A.; DEWETTINCK, K.; GELLYNCK, X.; SCHOUTETEN, J. Replacing vegetable oil by insect oil in food products: Effect of deodorization on the sensory evaluation. **Food Research International**, v. 141, 2021.
- TZOMPA-SOSA, D. A.; FOGLIANO, V. Potential of insect-derived ingredients for food applications. **Insect Physiology and Ecology**, p.215-23, 2017.
- TZOMPA-SOSA, D. A.; YI, L.; VAN VALENBERG, H.J.F.; LAKEMON, C.M. Four insect oils as food ingredient: physical and chemical characterisation of insect oils obtained by an aqueous oil extraction. **Journal of insects as food and feed**. v.5 (4). Pag 279-292. 2019.
- ULMER, C. Z.; JONES, C. M.; YOST, R. A.; GARRETT, T. J.; BOWDEN, J. A. Optimization of Folch, Bligh-Dyer, and Matyash sample-to-extraction solvent ratios for human plasma-based lipidomics studies. **Analytica Chimica Acta**, v. 1037, p 351-357, 2018.
- USHAKOVA, N. A.; BRODSKII, E. S.; KOVALENKO, A. A.; BASTRAKOV, A. I.; KOZLOVA, A. A.; PAVLOV, D. S. Characteristics of lipid fractions of larvae of the black soldier fly *Hermetia illucens*. **Doklady Biochemistry and Biophysics**, v.468 (1), p.209-212, 2016.
- VALENTA, R.; HOCHWALLNER, H.; LINHART, B.; PAHR, S. Food Allergies: The Basics. **Gastroenterology**, 148(6), 1120-1131, 2015.
- VALIN, H.; SANDS, R. D.; VAN DER MENSBRUGGHE, D.; NELSON, G. C.; AHAMMAD, H.; BLANC, E.; WILLENBOCKEL, D. The future of food demand: understanding differences in global economic models. **Agricultural Economics**, v.45(1), p.51-67, 2014.
- VERBEKE, W. Profiling consumers who are ready to adopt insects as a meat substitute in a Western society. **Food Quality and Preference**, v. 39, p. 147-155, jan. 2015.
- VIROT, M.; TOMAO V.; COLNAGUI G.; VISINONI F.; CHEMAT F.; New microwave-integrated Soxhlet extraction. **Journal of Chromatography A**, v.1174(1-2), p.138-144, 2007.
- VIROT, M.; TOMAO, V.; GINIES, C.; VISINONI, F.; CHEMAT, F. Green procedure with a green solvent for fats and oils' determination. **Journal of Chromatography**, 1196-1197, 147-152. 2008.
- WANG, L.; WELLER, C. L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends in Food Science e Technology** , v.17, p.,300-312, 2006,

WATANABE, K.; YASUGI, E.; OSHIMA, M. How to Search the Glycolipid data in "LIPIDBANK for Web" the Newly Developed Lipid Database in Japan. **Trends in Glycoscience and Glycotechnology**, v.12(65), p.175–184, 2000.

WOMENI, H. M.; LINDER, M.; TIENCHEU, B.; MBIAPO, F. T.; VILLENEUVE, P., FANNI, J.; PARMENTIER, M. **Oils of insects and larvae consumed in Africa: potential sources of polyunsaturated fatty acids.** *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, v.16(4-5-6), p.230-235, 2009.

WU, R. A., DING, Q., LU, H., TAN, H., SUN, N., WANG, K., LI, Z. Caspase 3-mediated cytotoxicity of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) oil extract against human hepatocellular carcinoma and colorectal adenocarcinoma. **Journal of Ethnopharmacology**, 2019.

YANG, H.; QU, Y.; GAO, Y.; SUN, S.; DING, R.; CANG, W.; WU, R.; WU, J. Role of the dietary components in food allergy: A comprehensive review. **Food Chemistry**, V 386, aug. 2022.

ZIELIŃSKA, E.; KARAŚ, M.; JAKUBCZYK, A.; ZIELIŃSKI, D.; BARANIAK, B. Insetos Comestíveis como Fonte de Proteínas. **Reference Series in Phytochemistry**, p.1-53, 2018.

ZYGLER, A.; SŁOMINSKA, M.; NAMIESNIK, J. **Soxhlet Extraction and New Developments Such as Soxtec.** In: J.Pawliszyn, Ed., *Comprehensive Sampling and Sample Preparation. Analytical Techniques for Scientists, Vol. 2, Theory of Extraction Techniques*, 65-82. University of Technology, Gdansk, Polan. 2012.

4 CAPÍTULO II - EXTRAÇÃO DE LIPÍDEOS DA LARVA DA MOSCA SOLDADO NEGRA (*HERMETIA ILLUCENS*)

RESUMO

No presente trabalho, lipídeos da larva da mosca soldado negra (*Hermetia illucens*) foram separados da biomassa utilizando dois métodos extrativos, a extração aquosa (EAQ) e a extração por Bligh-Dyer (EBD). Análises de rendimento, cor e ácidos graxos do extrato lipídico, da composição centesimal (proteínas, lipídeos, cinzas e umidade) da larva da MSN, das farinhas da larva seca na estufa e no liofilizador e das biomassas originadas nas duas técnicas extrativas (EAQ e EBD) foram realizadas durante os experimentos. Todas as larvas MSN foram alimentadas com farelo de milho até o seu 25º dia de desenvolvimento. Após esse período, foram mantidas em jejum por cerca de 24 h e armazenados em freezer a -20 °C. Posteriormente, foram adicionadas em nitrogênio líquido e trituradas. No processo por EAQ, as larvas moídas foram liofilizadas até atingir massa constante, misturadas em água seguida por 15 min de sonicação, e filtradas em uma malha de 300 µm. O filtrado foi centrifugado a 15.000g por 30 min a 4 °C a fração lipídica obtida foi centrifugada a 15.000g por 30 min a 40 °C, resultando no extrato lipídico. Na EBD as larvas moídas foram secas em estufa a 60 °C até massa constante, os lipídeos foram extraídos com a mistura clorofórmio, metanol e água na proporção 1:2:0,8 e solução sulfato de sódio a 1,5 % (p/v). A cor dominante dos extratos lipídicos originados na EAQ e EBD foram amarelo-esverdeado e marrom-avermelhado, respectivamente. Esta diferença de cor está associada com as operações de secagem aplicadas durante a extração de lipídeos. Altos teores de proteínas (38,85-42,68 %) e lipídeos (25,33-24,80 %) foram determinados nas farinhas da larva da MSN. A biomassa da EBD apresentou conteúdos de proteínas e cinzas superiores ao da biomassa da EAQ. O rendimento de lipídeos (3,08 %) e a eficiência (50 %) da EBD, foi maior que o da EAQ (1,7%) e (26,98 %). No entanto, a EAQ não emprega solventes orgânicos para a extração de lipídeos da larva MSN. Os mesmos tipos de ácidos graxos foram identificados nos lipídeos da larva MSN extraídos pela técnica da EAQ e EBD (C12:0; C14:0, C16:0, C18:2 $\Delta^{10,12}$, C18:1 Δ^9 , C18:0). Assim sendo, a EAQ pode ser considerada uma alternativa para a obtenção de lipídeos de uso como ingrediente alimentar, pois não emprega solventes orgânicos. No entanto, o rendimento lipídico é menor na EAQ comparado ao obtido com a EBD. Adicionalmente, mais estudos são necessários para viabilizar a utilização de lipídeos das larvas MSN na alimentação humana.

Palavras-chave: ácido graxos, Bligh-Dyer, MSN, extração aquosa, lipídeos.

4.1 Introdução

A mosca soldado negra (*Hermetia illucens*) ou igualmente Black Soldier Fly (BSF) é um inseto encontrado nos trópicos e subtropicais. A criação da mosca soldado negra tem sido proposta desde a década de 1990 como uma forma eficiente de dispor de resíduos orgânicos, convertendo-os em uma biomassa rica em proteínas e gorduras (MAKKAR et al., 2014). Seu ciclo de vida é dividido em quatro fases, ovos, larvas, pupa e adultos (LI et al., 2011b). As larvas podem se alimentar rapidamente, com 25 a 500 mg de matéria fresca/larva/dia, de uma ampla gama de materiais orgânicos em decomposição, como frutas e vegetais podres, polpa de café, grãos de destilaria, miudezas de peixes e principalmente esterco animal e excrementos humanos (HUIS et al., 2013). Uma vantagem da MSN sobre outras espécies é que os insetos adultos se alimentam somente com as gorduras armazenadas desde a fase larval; portanto, não requerem cuidados especiais e não são potenciais portadores de doenças (DICLARO e KAUFMAN, 2009).

Segundo Makkar et al., (2014) as larvas da MSN são uma fonte de alimentos rica em gorduras, cujo teor de lipídeos varia de 7 a 39 % em matéria seca, dependendo dos substratos usados no cultivo das suas larvas (BARRAGAN-FONSECA, DICKE e VAN LOON, 2017). Os lipídeos das larvas da MSN exibem características que permitem a substituição do óleo de soja na alimentação animal, posto que não foram observados efeitos adversos no desenvolvimento e crescimento de frangos e de carpa Jian (*Cyprinus carpio* var. Jian) quando houve a substituição de 100 % do óleo de soja por gordura da larva de *H. illucens* nas dietas dos animais (SCHIAVONE et al, 2018; LI et al., 2016).

Na alimentação humana a percepção sensorial aceitável em alimentos à base de lipídeos da MSN é um desafio. Delicado et al. (2020), em estudos de substituição de manteiga pela gordura das larvas da MSN em produtos de panificação (bolo, biscoitos e *waffles*), observaram que a substituição integral da manteiga afetou a aceitação dos consumidores, que perceberam sabores estranhos nos produtos. Já a substituição parcial, de 25% a 50% da manteiga por gordura das larvas de MSN, não influenciou na aceitação dos produtos avaliados pelos consumidores. Os lipídeos da larva *H. illucens* também foram usados com sucesso na produção de biodiesel (SU et al., 2019; WANG et al., 2017; LEONG et al., 2016; LI et al, 2011a; LI et al., 2011b).

Os lipídeos de insetos podem ser separados da biomassa usando diferentes técnicas e agentes de extração (NONGONIERMA e FITZGERALD, 2017) que afetam a recuperação e tipo dos lipídeos extraídos (TZOMPA-SOSA et al., 2014). Dentre as técnicas extrativas, a de Bligh-Dyer é usada para a extração de lipídeos totais com os solventes metanol e clorofórmio e o cossolvente água (BLIGH e DYER, 1959). O clorofórmio é um solvente não polar que dissolve os lipídeos neutros, enquanto o metanol dissolve os lipídeos polares, rompendo as ligações de hidrogênio e as forças eletrostáticas entre os lipídeos e as proteínas (KANDA et al., 2019). A água auxilia a extração dos lipídeos polares, pois causa inchaço celular o que proporciona permeabilidade das paredes celulares aos solventes (GUCKERT e WHITE, 1988).

Comumente, o emprego de solventes orgânicos para a extração de lipídeos, como os solventes clorados, o clorofórmio e o metanol, é considerado um problema devido à toxicidade deles, o que pode afetar a saúde e segurança dos trabalhadores e o meio ambiente. A abordagem da química verde pode ser adotada na extração de lipídeos pois visa substituir solventes tóxicos por aqueles considerados verdes, que não agridem pessoas e biomas (BREIL et al., 2017). Neste contexto, a extração aquosa de lipídeos pode ser considerada uma técnica verde (CAMPBELL, et al., 2011) que resulta na obtenção de três frações principais do sistema, uma fração insolúvel, uma fração líquida e uma emulsão óleo em água estabilizada por proteínas e fosfolipídios (CAMPBELL et al., 2011; HAGENMAIER et al., 1972). A extração lipídica por via aquosa é então uma tecnologia ambientalmente segura para extração de lipídeos e de menor custo, uma vez que não requer a etapa de recuperação do solvente. A utilização de solventes orgânicos, como o hexano, também contribuem para o aumento das emissões industriais de compostos orgânicos voláteis (ROSENTHAL, PYLE e NIRANJAN, 1996). No entanto, a literatura reporta que os rendimentos de lipídeos na extração com hexano são maiores do que na extração aquosa (CAMPBELL e GLATZ, 2009).

A escolha de um método adequado para extrair lipídeos de insetos é dependente do tipo e da espécie do inseto (TZOMPA-SOS et al., 2014). Assim, é necessário avaliar o comportamento de diferentes técnicas extrativas sobre a separação de lipídeos da biomassa de insetos. Portanto, os objetivos desse trabalho foram (i) avaliar o rendimento dos lipídeos extraídos da larva da mosca soldado negra (*Hermetia illucens*) pelos métodos de extração aquosa e extração por solventes, utilizando Bligh-Dyer, (ii) caracterizar e determinar os parâmetros de cor e ácidos graxos dos extratos lipídicos, e (iii) analisar a composição centesimal da larva MSN, das farinhas da larva seca no liofilizador e na estufa e das biomassas resultantes dos processos extrativos.

4.2 Materiais e Métodos

Larvas da MSF, cultivadas na fazenda experimental do Instituto de Ciências Agrárias da UFMG e alimentadas com farelo de milho até o 25º dia de desenvolvimento, passaram por período de 24 h de jejum antes do abate. O mesmo se deu com o congelamento das larvas em freezer a -20 °C. Posteriormente reservou-se uma parte das larvas congeladas para análises centesimal e a outra parte foi adicionada em nitrogênio líquido, seguida de trituração em um Mixer (Arno Turbomix Duo MX2, 200W). As larvas da MSN congeladas e moídas foram armazenadas em freezer a -20 °C.

4.2.1 Extração de lipídeos das larvas MSN

Os lipídeos das larvas da mosca soldado negra (*Hermetia illucens*) foram extraídos utilizando duas metodologias de extração, a extração com os mesmos tipos de solventes (clorofórmio e metanol) empregados na metodologia de Bligh-Dyer (EBD) e a extração aquosa (EAQ).

Para os dois métodos de extração, os lipídeos extraídos e eficiência da extração de lipídeos foram calculados de acordo com a Equação (1) e (2), respectivamente (ROSE et al, 2021):

$$\text{Lipídeos extraídos (\%)} = (\text{mf/mi}) \times 100 \text{ (eq.1)}$$

Onde mf é a massa de lipídeos extraída (g) e mi é a massa da farinha da larva da mosca soldado negra (g)

$$\text{Eficiência da extração de lipídeos (\%)} = (\text{m1/m2}) \times 100 \text{ (eq.2)}$$

Onde m1 é a massa de lipídeos extraída (g) e m2 é a massa de lipídeos da farinha da larva da mosca soldado negra (g).

4.2.2 Extração de lipídeos da larva MSN pelo método de extração aquosa

A metodologia utilizada na extração aquosa de lipídeos da larva MSF foi adaptada do procedimento usado por Yi et al. (2013), citado por Tzompa-sosa et al. (2014). Inicialmente, as farinhas congeladas da larva da MSN foram liofilizadas até atingirem massas estáveis, posteriormente 10 g da farinha liofilizada foram adicionadas em 30 mL de água destilada e

misturadas manualmente por 1 min, seguido por 15 min de sonicação. A mistura foi então filtrada em um filtro de aço inoxidável com diâmetro de poro de 300 μm . Em seguida, o filtrado foi centrifugado a 15.000g por 30 min a 4 °C. Três frações foram obtidas do filtrado. Do topo para o fundo: a fração lipídica, sobrenadante e o precipitado (Figura 1). Posteriormente, a fração lipídica foi centrifugada a 15.000g por 30 min a 40 °C gerando o extrato lipídico na camada superior do tubo. As camadas inferiores foram a camada de creme, do sobrenadante e do resíduo (Figura 1). Os extratos lipídicos foram pesados e armazenados a -20 °C para análises posteriores.

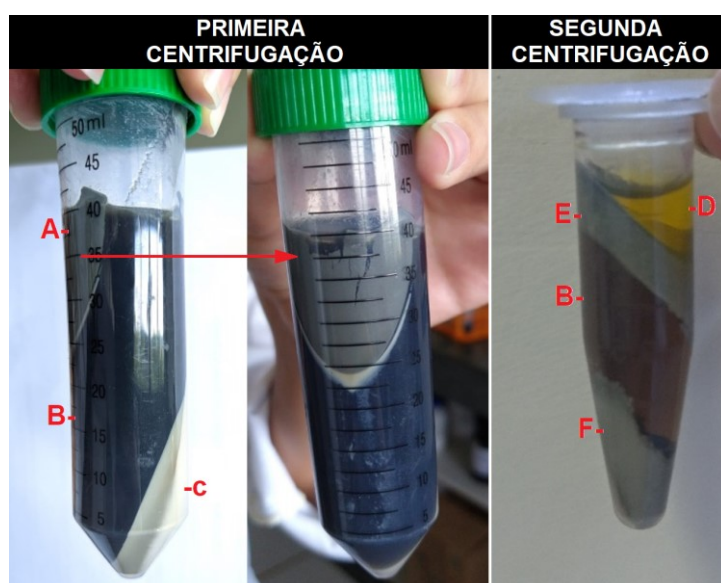


Figura 1: Camadas obtidas nas centrifugações dos sistemas lipídicos obtidos na extração aquosa. (A) Fração lipídica; (B) Sobrenadante; (C) Precipitado; (D) Extrato lipídico; (E) Creme; (F) Resíduo.

Fonte: Próprio autor

4.2.3 Extração de lipídeos da larva MSN pelo método de Bligh-Dyer

A extração lipídica da larva MSN usando a técnica de Bligh-Dyer foi adaptada da metodologia Bligh e Dyer (1959). Primeiramente, a farinha da MSN foi seca em estufa a 60 °C, até massa constante. Posteriormente, 5 g da farinha seca foram pesados em um Erlenmeyer, 38 mL da mistura de clorofórmio, metanol e água na proporção 1:2:0,8 (v/v) foram adicionados e o sistema foi misturado em uma mesa agitadora Shaker por 30 min. Em seguida, 10 mL de clorofórmio e 10 mL da solução sulfato de sódio a 1,5 % (p/v) foram adicionados e o sistema foi agitado por 2 min. Após a agitação, a mistura foi deixada em repouso por 10 min e uma

alíquota de 5 mL da fração inferior foi transferida para um béquer previamente tarado (Figura 2). O béquer e a alíquota foram levados à estufa a 60 °C por 2 h. Os extratos lipídicos foram pesados e armazenados a -20 °C para análises posteriores.

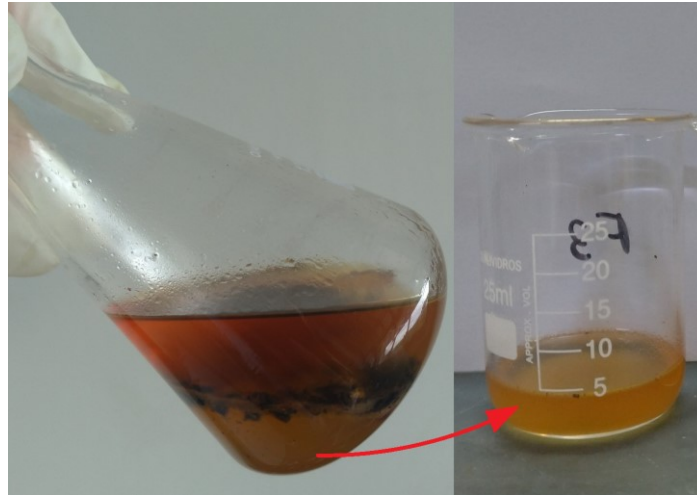


Figura 2:Extração Bligh-Dyer, transferência da alíquota para o béquer

Fonte: Próprio autor

4.2.4 Análises centesimal da larva MSN, das farinhas secas na estufa e no liofilizador e das biomassas (EBD) e (EAQ)

Análises centesimais foram realizadas na larva MSN (*Hermetia illucens*), nas farinhas da larva seca na estufa e no liofilizador (Figura 3) e nas biomassas obtidas após a separação dos lipídeos nas extrações aquosas (EAQ) e por Bligh-Dyer (EBD). As análises centesimais de umidade, cinzas, proteínas e lipídeos foram realizadas de acordo com as metodologias descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005). O teor de proteína foi determinado pelo método de Kjeldahl, usando um fator de conversão de 6,25 para converter o teor de nitrogênio ao teor de proteína. O teor de cinzas foi determinado pelo método de incineração e o teor de umidade utilizando-se estufa a 60 °C, até a obtenção de massa constante das amostras. Para a determinação de lipídeos utilizaram-se as mesmas amostras que foram realizadas as análises de umidade. O teor de lipídeos foi determinado pelo método Bligh-Dyer com os solventes clorofórmio, metanol, água (1:2:0,8) e sulfato de sódio à 1,5 % (p/v). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

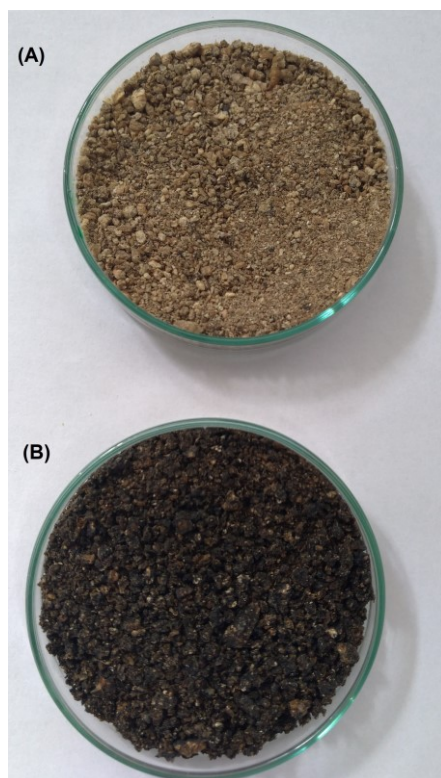


Figura 3: Farinhas da larva da mosca soldado negra: (A) farinha seca no liofilizador; (B) Farinha seca na estufa à 60 °C.

Fonte: Próprio autor

4.2.5 Caracterização da cor e determinação de ácidos graxos

A análise de cor (colorímetro Konica Minolta®, modelo CR-400/410, Japão) (MINOLTA, 2013) foi conduzida com o iluminante padrão D65 e observador a 10° (sistema CIELAB). Foram realizadas medições no extrato lipídico para determinar os valores L^* , a^* e b^* que significam, respectivamente: luminosidade, que varia de zero a 100 (preto/branco); intensidade de vermelho/verde (+/-); intensidade de amarelo/azul (+/-).

Para a derivatização dos óleos fixos, em um balão de fundo redondo (50 mL) foi adicionado 20 mg da amostra, em seguida, adicionou-se 5 mL de solução de KOH em metanol (0,5 mol L⁻¹ m/v) e aqueceu a 100 °C por 1 h, sob refluxo. Para a esterificação, 2 mL de solução de HCl em metanol (4:1, v/v) foram adicionados à mistura e aquecida novamente à 100 °C, por 1 h. Procedeu-se à extração dos ésteres metílicos; em que, após o resfriamento, acrescentou-se 5,0 mL de H₂O destilada e, em seguida, os derivados obtidos foram extraídos com diclorometano (3 x 5,0 mL). Após a extração, a fase orgânica foi secada com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada. O resíduo obtido, após completa remoção do solvente foi redissolvido em 1 mL de diclorometano e analisado por CG-EM (GEOCZE, 2011).

As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo a gás (Agilent Technologies, GC 7890A, USA) equipado com detector de massas (CG-EM) e coluna capilar

DB-5MS (Agilent Technologies, USA), com 30 m comprimento x 0,25 mm diâmetro interno x 0,25 µm espessura do filme. Hélio (99,99% de pureza) foi empregado como gás de arraste a uma taxa de 1,0 mL/min. Um auto-injetor (CTC combiPaL, Suíça) foi utilizado para injetar no cromatógrafo 1 µL da amostra a uma razão de 1:5. O injetor split/splitless foi mantido a 250 °C. A coluna cromatográfica inicialmente a 50 °C, permaneceu na isoterma por 1 min e então foi aquecida a uma taxa de 25 °C/min até 175 °C. Em seguida, a uma taxa de 4 °C/min, a temperatura foi elevada até 230 °C, onde permaneceu por 15 min. Após a separação dos compostos a temperatura foi elevada até 240 °C, onde permaneceu por 2 min (*post run*). A temperatura da interface foi mantida a 280 °C e a ionização realizada com impacto de 70 eV. A amplitude de varredura de m/z foi de 30 a 600 Da (GEOCZE, 2011).

4.3 Resultados e Discussão

O método Bligh-Dyer, apresentou a maior eficiência de extração de lipídeos (50 %) e um maior conteúdo lipídico (3,1 %) na farinha da larva da mosca soldado negra (Tabela 1). Estudos anteriores (AMARENDER et al., 2020; LAROCHE et al.; 2019; TZOMPA-SOSA et al., 2014) descreveram um aumento na extração de lipídeos de insetos como o uso de solventes orgânicos. Rose, Jaczynski e Matak (2021), apontam que as eficiências de extração de lipídeos para o grilo (*Acheta domesticus*) (69,32 %) e o gafanhoto (*Locusta migratoria*) (93,03 %) foram maiores usando clorofórmio-metanol como solvente do que usando hexano (grilo 42,69 % e gafanhoto 75,14 %). As combinações de clorofórmio/metanol/água formam um sistema bifásico, onde os lipídeos são extraídos para as camadas de clorofórmio, enquanto os não lipídeos, como as proteínas, são extraídos para a camada de metanol-água (ARCHANAA, MOISE e SURAIHKUMAR, 2012). Sendo assim, os lipídeos extraídos com os solventes citados podem conter resíduos tóxicos, pois a sua recuperação é realizada na camada inferior de clorofórmio. Segundo Mubarak, Shaija e Suchithra (2015), o uso do clorofórmio como solvente extrator causa riscos à saúde e ao meio ambiente, e é a principal desvantagem dos métodos de extração com solventes.

Conforme apresentado na Tabela 1, a extração aquosa resultou em um baixo conteúdo lipídico (1,7 %) próximo ao relatado na extração aquosa de lipídeos do grilo doméstico (*Acheta domesticus*) (1,6 %) (TZOMPA-SOSA et al., 2014). A extração aquosa se baseia na insolubilidade dos lipídeos no meio de extração e não na sua dissolução como observado na extração com solventes (RICOCHON e MUNIGLIA, 2010). Em razão disso a extração aquosa é menos eficiente na recuperação de lipídeos; no entanto, é um método que permite a obtenção

de lipídeos sem resíduos químicos (HANMOUNGJAI, PYLE e NIRANJAN, 2000). A perda dos lipídeos ocorre quando são aprisionados em sólidos insolúveis ou na emulsão óleo em água. De acordo com Wu, Johnson e Jung (2009), enzimas são necessárias para aumentar o rendimento da extração aquosa pois desestabilizam a emulsão rica em óleo. As enzimas quebram as proteínas na parede celular e pseudomembranas que cercam os corpos oleosos para eliminar/reduzir as barreiras à extração de óleo.

Tabela 1: Lipídeos extraídos da farinha da larva MSN (liofilizada e seca na estufa 60 °C) e eficiência da extração de lipídeos em função do método de extração, aquosa e Bligh-Dye.

Métodos de extração	Lipídeos extraídos (%)	Lipídeos da farinha (%) *	Eficiência da extração (%)
EAQ	1,7	6,3	26,98
EBD	3,1	6,2	50,00

EAQ = Extração aquosa; EBD = Extração Bligh-Dyer

*Lipídeos da farinha liofilizada (6,3 %), lipídeos da farinha seca na estufa a 60°C (6,2 %).

Os resultados das análises de composição centesimal da larva da MSN, das farinhas seca no liofilizador e na estufa à 60 °C da larva MSN e das biomassas desengorduradas nas extrações aquosa e Bligh-Dyer são apresentados na Tabela 1. O teor médio de umidade na amostra da biomassa EAQ ($64,58 \pm 1,40$ %), foi superior ao da biomassa EBD ($40,29 \pm 1,01$ %), visto que foi adicionada uma maior quantidade de água durante a extração de lipídeos pelo método aquoso. O teor de lipídeos na biomassa da EBD foi inferior a EAQ. A concentração de cinzas e proteínas da biomassa do EBD aumentou, uma vez que, à medida que uma quantidade considerável de lipídeo é extraída o percentual desses componentes aumenta.

Os principais nutrientes encontrados nas farinhas da larva MSN, foram proteínas e lipídeos com 39,58-42,68 % e 25,33-24,80 %, respectivamente. Os teores de proteínas das farinhas são superiores ao teor de proteínas da carne bovina e suína (~ 17 %), e do leite (25-35 % dependendo da espécie animal) (ROY et al., 2020; DAY, CAKEBREAD e LOVEDAY, 2022). Estudos sugerem que a farinha desengordurada da larva MSN, pode ser considerada ingrediente adequado e com alto valor proteico para a ração de animais aquáticos, podendo substituir até 25 % da farinha de peixe na alimentação de trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), 50 % na alimentação de carpa Jian (*Cyprinus carpio var. Jian*) e 60 % na alimentação de camarões (*Litopenaeus vannamei*) (CAIMI et al., 2021; Li et al., 2016; WANG et al., 2017).

O teor de lipídeos obtido nas larvas (16,78 %) é superior ao relatado nas larvas MSN alimentadas com ao estrume de cavalo (12,9 %) (MUTAFELA, 2015), mas inferior comparado aos teores de lipídeos das larvas alimentadas com estrume de aves (18,73 %) (GUTIÉRREZ, RUIZ e VÉLEZ, 2004), resíduos de restaurantes (39,6 %) (SPRANGHERS et al., 2017) e resíduos de frutas frescas (41,7 %) (MUTAFELA, 2015). Segundo Makkar et al. (2014), a quantidade de lipídeos das larvas (*H. illucens*) é extremamente variável e depende do tipo de dieta.

O percentual de cinzas obtidos na análise centesimal da larva da MSN ($11,17 \pm 0,31$ %) foi inferior ao teor de cinzas ($15,8 \pm 0,7$ %) das larvas alimentadas com algas marrons (*Ascophyllum nodosum*) (LILAND et al., 2017). De acordo com Ruperez (2002), as algas são ricas em conteúdo mineral que podem ser transferidas para as larvas dos insetos.

Tabela 2: Composição centesimal das larvas *H. illucens*, das farinhas da larva MSN e das biomassas desengorduradas da extração aquosa e de Bligh-Dyer

	Parâmetros			
	Umidade (%)	Proteína (%) ¹	Lipídeos (%) ¹	Cinzas (%) ¹
Larvas (<i>H. illucens</i>)	$64,25 \pm 0,16$	$43,40 \pm 0,14$	$16,78 \pm 3,68$	$11,17 \pm 0,31$
Farinha LMSN liofilizada	$61,24 \pm 0,30$	$39,58 \pm 0,66$	$25,33 \pm 1,43$	$10,54 \pm 0,04$
Farinha LMSN seca na estufa	$63,90 \pm 0,30$	$42,68 \pm 0,45$	$24,80 \pm 4,12$	$10,76 \pm 0,18$
Biomassa EAQ	$64,58 \pm 1,40$	$37,05 \pm 0,71$	$20,40 \pm 1,22$	$7,98 \pm 0,10$
Biomassa EBD	$40,29 \pm 1,01$	$46,40 \pm 0,40$	$12,56 \pm 0,78$	$16,65 \pm 1,81$

¹Valores expressos em % da Matéria seca

LMSN = Larva da mosca soldado negra

EAQ= Extração aquosa; EBD = Extração Bligh-Dyer

Alterações na aparência física do produto, como a cor por exemplo, podem ocorrer dependendo do método de secagem (LICEAGA, 2021). Neste estudo, foram aplicadas na larva da MSN, os processos de secagem por estufa e liofilização na EBD e EAQ, respectivamente. Diante disso pode-se perceber que a alta temperatura envolvida na secagem em estufa (60 °C) associada com a ausência do processo de branqueamento, levaram a reduções na luminosidade (L*) e dos pigmentos amarelos (b*) com um valor de a* positivo (vermelho) nas amostras da EBD (Figura 4), isso é devido a combinação do escurecimento enzimático e não enzimático resultando na formação de pigmentos com tonalidade marrom-avermelhado no extrato lipídico da EBD (Figura 4).

Jeon et al. (2016), obtiveram o valor de $L^* = 29,09$ no óleo extraído da farinha da larva do MSN liofilizada e de $L^* = 8,49$ nos óleos extraídos da farinha da larva MSN tostada por 15 min a 200 °C. A liofilização é uma prática industrial aplicada em larvas de insetos devido às baixas temperaturas de processamento e falta de oxigênio (EFSA, 2015). Assim, esse processo mantém a qualidade e preserva a cor do produto (HUANG e ZHANG,2012). Posto que quanto maior o valor de L^* mais clara é a cor do produto entende-se que o processo de liofilização realizada na larva MSF utilizada na EAQ, resultou em uma predominância no parâmetro L^* , seguido do parâmetro b^* (amarelo). A cor amarela é uma característica que indica a presença de carotenoides no extrato lipídico, e a sua quantidade depende da dieta das larvas MSN (AZZOLLINI, DEROSI e SEVERINI, 2016). Segundo BOLTON et al. (2021), as larvas são alimentadas com grandes volumes de material vegetal rico em carotenoides (por exemplo, subprodutos de cereais e resíduos vegetais), como luteína e zeaxantina, que podem causar pigmentação amarela (b^*).

Quanto ao parâmetro a^* ($-a^*$ = verde, $+a^*$ = vermelho) o valor encontrado no extrato lipídico da EAQ, foi negativo, indicando traços da cor verde. A cor típica da maioria dos óleos vegetais comestíveis é amarelo-esverdeado (TZOMPA-SOSA et al., 2019). Portanto essa característica pode facilitar a aceitação do consumidor se esses lipídeos forem usados na alimentação humana.

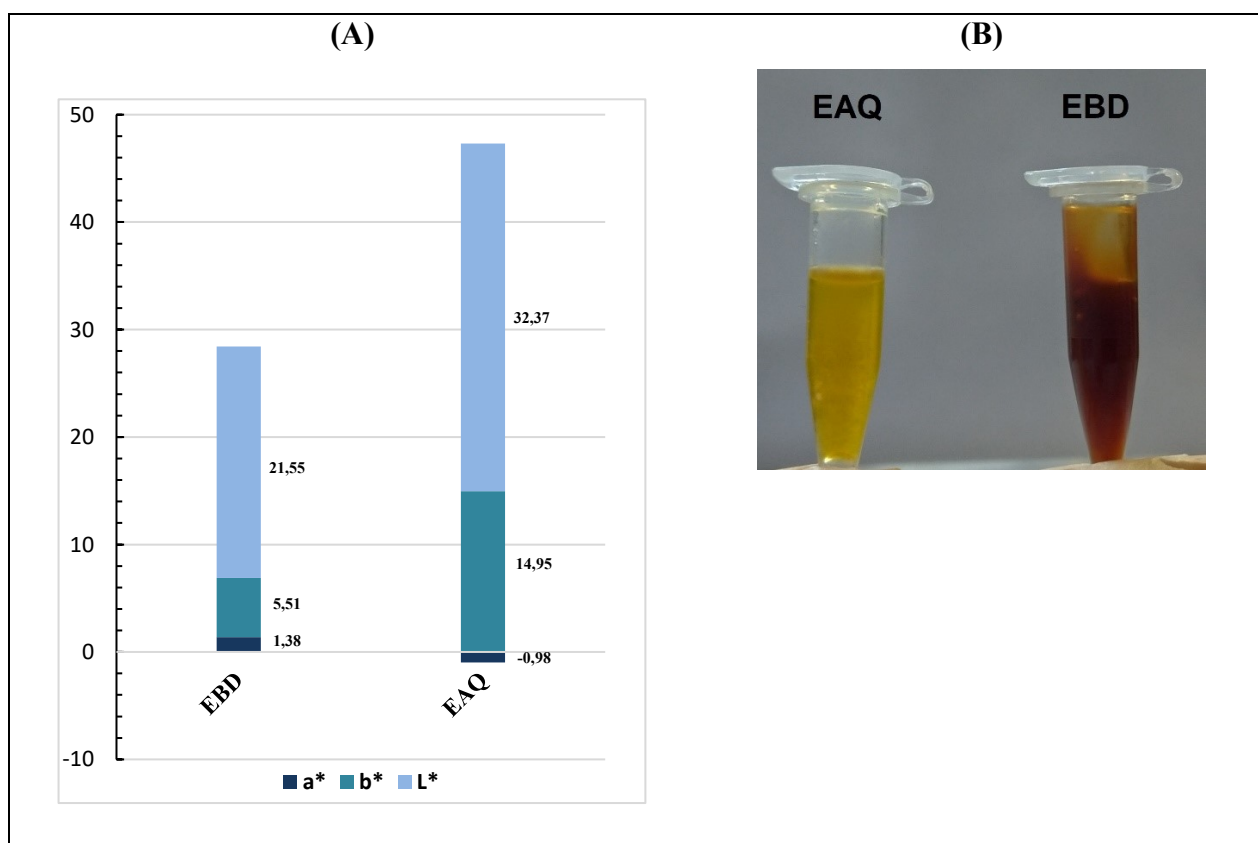


Figura 4: Cor dos extratos lipídicos das extrações aquosa (EAQ) e Bligh-Dyer (EBD).

(A) Parâmetros de cor, L^* , b^* e a^* , dos lipídeos extraídos; (B) Lipídeos extraídos.

As amostras extraídas EAQ e EBD, tiveram seus ácidos graxos constituintes caracterizados de forma indireta a partir da análise dos ésteres metílicos de ácidos graxos produzidos nas reações de transesterificação, através da cromatografia gasosa. A identificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos das amostras foi realizada com base na comparação entre os espectros de massas gerados e os espectros de massas padrão disponíveis no banco de dados do aparelho (NIST 2.0), também por comparação entre os tempos de retenção dos analitos das amostras (Figuras 5 e 6).

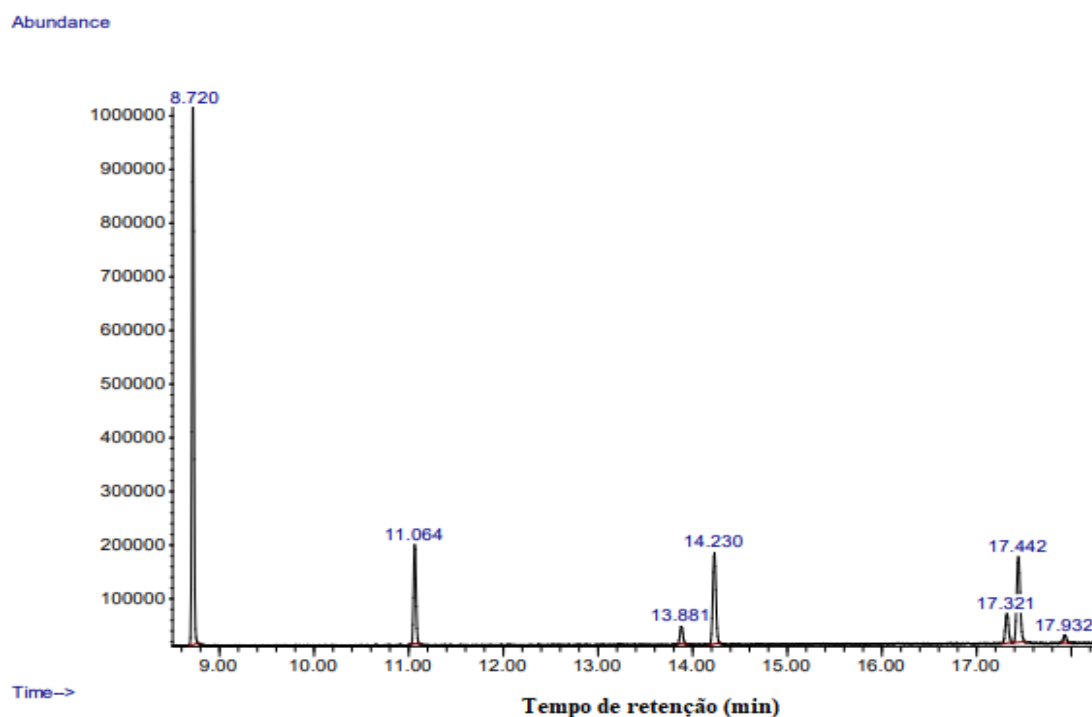


Figura 5: Cromatograma do lipídeo obtido na EBD.

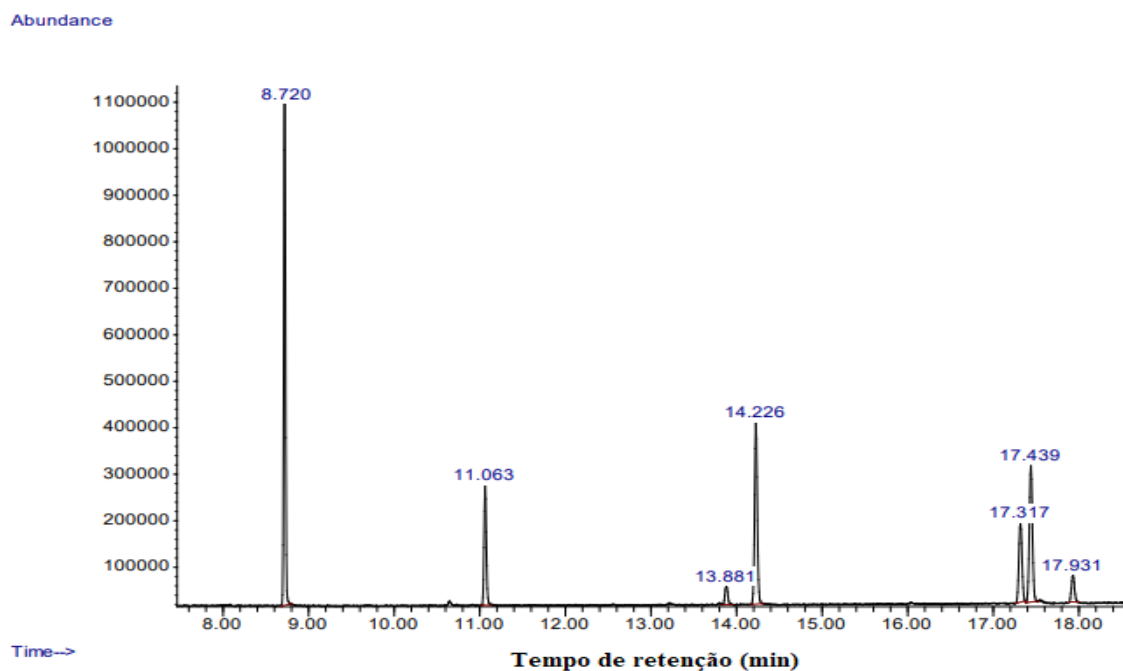


Figura 6: Cromatograma do lipídeo obtido na EAQ.

Foram identificados nos lipídeos da EAQ e EBD, os seguintes ésteres metílicos (saturados e insaturados): dodecanoato de metila; tetradecanoato de metila; hexadecanoato de metila; (10E,12Z)-Octadeca-10-12-dienoato de metila; (9Z)-Octadec-9-enoato de metila; octadecanoato de metila. Os cromatogramas demonstraram que os ésteres encontrados correspondem aos ácidos graxos que compõem os lipídeos extraídos pelos métodos de EAQ e EBD (Tabela 2).

Notavelmente, os ácidos graxos identificados foram os mesmos, tanto nos lipídeos extraídos pela EAQ, quanto nos lipídeos extraídos pela EBD. Segundo Hervás et al. (2022), os lipídeos da larva MSN, possuem quantidades relativamente altas de ácido graxo láurico (C12:0) e mirístico (C14:0). O ácido láurico (um ácido graxo saturado) é caracterizado por uma atividade antibacteriana e antiviral (DAYRIT, 2014) é o principal ácido graxo do coco e está contido em óleos vegetais, frutas e sementes (SILVA et al., 2015; SILBERSTEIN et al., 2013). O ácido mirístico, é o ácido graxo saturado (C14:0) mais abundante na gordura do leite (7% - 12% do total de ácidos graxos) ou nos óleos de palmiste (15% - 20% do total de ácidos graxos) (RIOUX, PÉDRONO e LEGRAND, 2011). O óleo de coco e palmiste, por serem altamente saturados, têm muitas aplicações na indústria alimentícia, mas também nas indústrias de sabão, farmacêutica, cosmética e plásticos entre outras (KRISHNA et al., 2010).

De acordo com a tabela 2, o ácido graxo saturado C16:0 (ácido palmítico) e C18:0 (ácido esteárico) também estão presentes no óleo de insetos das larvas da MSN. O ácido palmítico é um constituinte do leite materno; representa cerca de 25% dos lipídeos em sua composição (GONZALEZ, 2012) e é essencial para o neurodesenvolvimento e funções imunológicas em bebês (UAUY, 2001). O ácido esteárico é um ácido graxo com potencial para aumentar o consumo de matéria seca, produção de leite e componentes do leite de vacas (PIANTONI, LOCK e ALLEN, 2015). Dessa forma, suplementos lipídicos ricos em ácido esteárico têm sido avaliados para melhorar o desempenho produtivo de animais leiteiros (BESSANI et al., 2022).

Geralmente, os ácidos graxos insaturados C18 são identificados em lipídeos de insetos (TZOMPA-SOSA et al., 2014). No presente estudo foram identificados os C18:2 $\Delta^{10,12}$ (ácido

Tabela 3: Ésteres metílicos e ácido graxos dos lipídeos da larva MSN, extraídos pelo método EAQ e EBD.

Pico	Área (%)		Ésteres dos ácidos graxos dos lipídeos da EAQ e EBD	Ácidos graxos
	Lipídeos da EAQ	Lipídeos da EBD		
1	51,18	36,83	Dodecanoato de metila	C12:0
2	12,03	10,77	Tetradecanoato de metila	C14:0
3	2,52	2,09	Não identificado	-
4	13,56	19,64	Hexadecanoato de metila	C16:0
5	4,82	10,05	(10E,12Z) -Octadeca-10-12-dienoato de metila	C18:2 $\Delta^{10,12}$
6	14,78	16,97	(9Z) -Octadec-9-enoato de metila	C18:1 Δ^9
7	1,12	3,64	Octadecanoato de metila	C18:0

linoleico conjugado) e C18:1 Δ^9 (ácido oleico). Segundo Béliçin et al. (2016), o ácido linoleico conjugado está incorporado na família ômega-6, que é um ácido graxo essencial, mas não pode ser produzido por humanos e deve ser obtido da dieta. Os benefícios do consumo dos ácidos linoleico e oleico abrangem a atuação para a redução de inflamações e doenças coronarianas (SIMOPOULOS, 2013; BÉLIGON et al., 2016). Fontes alimentares ricas de ácidos linoleico incluem muitos óleos vegetais, nozes, sementes e produtos feitos de óleos vegetais, como margarinas (INNES e CALDER, 2018).

4.4 Conclusão

Além de ser uma fonte de proteínas, as larvas da mosca soldado negra (*Hermetia illucens*) apresentaram quantidades consideráveis de ácidos graxos necessários para a

manutenção da saúde e para aumentar a qualidade nutricional de produtos alimentícios quando usados como ingredientes. Os mesmos tipos de ácidos graxos (C12:0; C14:0, C16:0, C18:2 Δ ^{10,12}, C18:1 Δ ⁹, C18:0) foram identificados nos lipídeos da larva MSN da EAQ e EBD. O rendimento e a eficiência da extração de lipídeos da larva da MSN foram maiores usando a EBD, sendo está uma alternativa para a extração de lipídeos; mas a EAQ elimina os desafios associados ao uso de solventes orgânicos. Em razão do rendimento na EBD ser maior, as concentrações dos outros componentes da biomassa da EBD aumentaram e foram superiores aos encontrados na biomassa da EAQ. Em relação a cor, os lipídeos extraídos na EAQ e EBD possuem pigmentos de cor diferentes provavelmente decorrente do processo de secagem realizada nos métodos de extração. A secagem por liofilização é um processo caro e demorado para a indústria, mas possibilita a obtenção de um extrato lipídico com cor semelhante aos óleos comercializados para alimentação humana.

Ainda que o rendimento do lipídeo da larva MSN e a eficiência usando a EAQ seja menor, não é necessário o uso de solventes orgânicos neste tipo de extração, e os ácidos graxos identificados não diferiram da EBD. Portanto, essas características possibilitam que os lipídeos da larva MSN da EAQ se tornem um ingrediente alimentar que seja mais viável em comparação com a EBD. No entanto, ainda são necessários mais estudos quanto à aplicação desses lipídeos na alimentação humana.

4.5 Referências

AMARENDER, R. V.; BHARGAVA, K.; DOSSEY, A. T.; GAMAGEDARA, S. Lipid and protein extraction from edible insects-crickets (*Gryllidae*). **LWT - Food Science Technology**, v. 125, May 2020.

ARCHANAA, S.; MOISE, S.; SURAIHKUMAR, G. K. Chlorophyll interference in microalgal lipid quantification through the Bligh and Dyer method. *Biomass and Bioenergy*, 46, 805–808. 2012

AZZOLLINI, D.; DEROSI, A.; SEVERINI, C. Understanding the drying kinetic and hygroscopic behaviour of larvae of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) and the effects on their quality. **Journal of Insects as Food and Feed**, 2(4), 233–243, 2016.

BARRAGAN-FONSECA, K. B.; DICKE, M.; VAN LOON, J. J. A. Nutritional value of the black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) and its suitability as animal feed – a review. **Journal of Insects as Food and Feed**, 3(2), 105–120, 2017.

- BÉLIGON, V.; CHRISTOPHE, G.; FONTANILLE, P.; LARROCHE, C. Microbial lipids as potential source to food supplements. **Current Opinion in Food Science**, 7, 35-42, 2016.
- BESSANI, D. T.C.; HORSTMANN, R.; LARSEN, R.; PADILHA, C.G.; RIBEIRO, C. V. D. M.; OLIVEIRA, D.E. Combination of palmitic and stearic acids increases the expression of lipogenic genes in mammary gland explants of lactating ewes. **Small Ruminant Research**, v. 208, 106634, 2022.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, 37(8), 911–917, 1959.
- BOLTON, C. M.; MULLER, N.; HYLAND, J.; JOHNSON; M. P.; SOUZA VALENTE, C.; DAVIES, S. J.; WAN, A. H. L. Black soldier fly larval meal with exogenous protease in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) production meeting consumer quality. **Journal of Agriculture and Food Research**, v 6, 100232, 2021.
- BREIL, C.; ABERT VIAN, M.; ZEMB, T.; KUNZ, W.; CHEMAT, F. “Bligh and Dyer” and Folch Methods for Solid–Liquid–Liquid Extraction of Lipids from Microorganisms. Comprehension of Solvation Mechanisms and towards Substitution with Alternative Solvents. **International Journal of Molecular Sciences**, 18(4), 2017.
- CAIMI, C., BIASATO, I., CHEMELLO, G., ODDON, S. B., LUSSIANA, C., MALFATTO, V. M., ... GASCO, L. Dietary inclusion of a partially defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larva meal in low fishmeal-based diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v 12, p. 885-895, 2021.
- CAMPBELL, K. A.; GLATZ, C. E. Mechanisms of Aqueous Extraction of Soybean Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 57(22), 10904-10912, 2009.
- CAMPBELL, K.A.; GLATZ, C.E.; JOHNSON, L.A.; JUNG, S.; DE MOURA, J.M.N., KAPCHIE, V.; MURPHY, P. Advances in aqueous extraction processing of soybeans. **Journal of the American Oil Chemists Society**. 88: 449-465, 2011.
- DAY, L.; CAKEBREAD, J. A.; LOVEDAY, S. M. Food proteins from animals and plants: Differences in the nutritional and functional properties, **Trends in Food Science & Technology**, v 119, p. 428-442, jan.2022.
- DAYRIT, F. M. The Properties of Lauric Acid and Their Significance in Coconut Oil. **Journal of the American Oil Chemists’ Society**, 92(1), 1–15, 2014.
- DICLARO J. W. II.; KAUFMAN, P. E. **Black soldier fly *Hermetia illucens* Linnaeus (Insecta: Diptera: Stratiomyidae)**. EENY-461, Entomology and Nematology Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, 2009.

- EFSA. Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. **EFSA Journal**, 13(10), 4257, 2015.
- GEOCZE, K. C. **Análise Exploratória de carotenoides, óleos essenciais e triacilglicerídeos do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) de municípios brasileiros situados no bioma cerrado**. Tese de Doutorado UFV, 2011, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2011.
- GONZALEZ, H. Perfil de triacilglicerídeos y porcentaje de ácido palmítico en la posición sn-2 en sustitutos de leche materna. **Archivos Argentinos de Pediatría**, 110(03), 227-230, 2012.
- GUCKERT, J. B.; WHITE, D. C. Evaluation of a hexane/isopropanol lipid solvent system for analysis of bacterial phospholipids and application to chloroform-soluble Nuclepore (polycarbonate) membranes with retained bacteria. **Journal of Microbiological Methods**, 8(3), 131–137.1988.
- GUTIÉRREZ, A. G. P., RUIZ R, V A.; VÉLEZ, M. H. Compositional, microbiological and protein digestibility analysis of the larva meal of *Hermetia illuscens* L. (diptera: Stratiomyiidae) at Angelópolis-Antioquia, Colombia. **Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín**;57:2491–2500, 2004.
- HAGENMAIER, R.; MATTIL, K. F.; CATER, C. M. Critical unit operations of aqueous processing of fresh coconuts. **Journal of the American Oil Chemists Society** 49: 178-181, 1972.
- HANMOUNGJAI, P.; PYLE, L.; NIRANJAN, K. Extraction of rice bran oil using aqueous media. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, 75(5), 348–352, 2000.
- HERVÁS, G.; BOUSSALIA, Y.; LABBOUZ, Y.; DELLA BADIA, A.; TORAL P.G.; FRUTOS, P. Insect oils and chitosan in sheep feeding: Effects on in vitro ruminal biohydrogenation and fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, v 285, 115222, 2022.
- HUANG, L; ZHANG, M. Trends in Development of Dried Vegetable Products as Snacks. **Drying Technology**, 30(5), 448–461, 2012.
- IAL-Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4.ed. Brasília: IAL, 2005. 1018p.
- INNES, J. K.; CALDER, P. C. Omega-6 fatty acids and inflammation. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 132, 41-48, 2018.
- JEON, Y. H.; SON, Y. J.; KIM, S. H.; YUN, E. Y.; KANG, H. J., HWANG, I. K. Physicochemical properties and oxidative stabilities of mealworm (*Tenebrio molitor*) oils under different roasting conditions. **Food Science and Biotechnology**, 25(1), 105–110, 2016.

- KANDA, H.; HOSHINO, R.; MURAKAMI, K.; WAHYUDIONO.; ZHENG, Q.; GOTO, M. Lipid extraction from microalgae covered with biomineralized cell walls using liquefied dimethyl ether. **Fuel**, 116590, 2019.
- KRISHNA, G. A. G.; GAURAV, R.; AJIT SINGH, B.; PRASANTH KUMAR, P. K. Coconut oil: Chemistry, production and its applications-a review. **Indian Coconut Journal**, 53 (3), p.15-27, 2010.
- LAROCHE, M.; PERREAULT, V.; MARCINIAK, A.; GRAVEL, A.; CHAMBERLAND, J.; DOYEN, A. Comparison of conventional and sustainable lipid extraction methods for the production of oil and protein isolate from edible insect meal. **Foods**, v. 8, p. 1-11, 2019.
- LEONG, S. Y.; KUTTY, S. R. M.; MALAKAHMAD, A.; TAN, C. K. Feasibility study of biodiesel production using lipids of *Hermetia illucens* larva fed with organic waste. **Waste Management**, 47, 84-90, 2016.
- LI, Q.; ZHENG, L.; CAI, H.; GARZA, E.; YU, Z.; ZHOU, S. From organic waste to biodiesel: Black soldier fly, *Hermetia illucens*, makes it feasible. **Fuel**, 90(4), 1545–1548, 2011a.
- LI, Q.; ZHENG, L., QIU, N.; CAI, H.; TOMBERLIN, J. K.; YU, Z. Bioconversion of dairy manure by black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) for biodiesel and sugar production. **Waste Management**, 31(6), 1316–1320, 2011b.
- LI, S.; JI, H.; ZHANG, B.; TIAN, J.; ZHOU, J.; YU, H. Influence of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae oil on growth performance, body composition, tissue fatty acid composition and lipid deposition in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Aquaculture**, 465, 43–52, 2016.
- LICEAGA, A. M. Processing insects for use in the food and feed industry. **Current Opinion in Insect Science**, 48, 32–36, 2021.
- LILAND, N. S., BIANCAROSA, I., ARAUJO, P., BIEMANS, D., BRUCKNER, C. G., WAAGBØ, R., ... LOCK, E. J. Modulation of nutrient composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae by feeding seaweed-enriched media. **Plos one**, 12(8), 2017.
- MAKKAR, H. P. S.; TRAN, G., HEUZÉ, V.; ANKERS, P. State-of-the-art on use of insects as animal feed. **Animal feed science and technology**, v.197, 1-33, 2014.
- MINOLTA, Choma meter CR-400/410: **Instruction manual**. Osaka, 2013. 156p. Disponível em: <https://www.konicaminolta.com/instruments/download/instruction_manual/color/pdf/cr-400-410_instruction_eng.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2022.
- MUBARAK, M.; SHAIJA, A.; SUCHITHRA, T. V. A review on the extraction of lipid from microalgae for biodiesel production. **Algal Research**, 7, 117–123. 2015.

- MUTAFELA R.N. **High Value Organic Waste Treatment via Black Soldier Fly Bioconversion: Onsite Pilot Study**. Master's Thesis. KTH Royal, Institute of Technology; Stockholm, Sweden: 2015.
- PIANTONI, P.; LOCK, A. L.; ALLEN, M. S. Milk production responses to dietary stearic acid vary by production level in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, 98(3), 1938-1949, 2015.
- ROSE, A.; JACZYNSKI, J.; MATAK, K. Extraction of lipids from insect powders using a one-step organic solvent extraction process. **Future Foods**, 4, 100073, 2021.
- ROSENTHAL, A.; PYLE, D. L.; NIRANJAN, K. Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction. **Enzyme and Microbial Technology**, 19(6), 402-420, 1996.
- ROY, D., YE, A., MOUGHAN, P. J., SINGH, H. Composition, Structure, and Digestive Dynamics of Milk From Different Species-A Review. **Frontiers in Nutrition**, 2020.
- RICOCHON, G.; MUNIGLIA, L. Influence of enzymes on the oil extraction processes in aqueous media. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 17(6), 356–359, 2010.
- RIOUX, V.; PÉDRONO, F.; LEGRAND, P. Regulation of mammalian desaturases by myristic acid: N-terminal myristoylation and other modulations. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1811(1), p.1-8, 2011.
- RUPEREZ, P. Mineral content of edible marine seaweeds. **Food Chemistry**, 79(1), 23-26, 2002.
- SALOMONE, R.; SAIJA, G.; MONDELLO, G.; GIANNETTO, A.; FASULO, S.; SAVASTANO, D. Environmental impact of food waste bioconversion by insects: Application of Life Cycle Assessment to process using *Hermetia illucens*. **Journal of Cleaner Production**, 140, 890–905, 2017.
- SILBERSTEIN T.; BURG A.; BLUMENFELD J.; SHEIZAF B.; TZUR T.; SAPHIER O. Saturated fatty acid composition of human milk in Israel: a comparison between Jewish and Bedouin women. **Israel Medical Association Journal**, v 15: 156-159.2013
- SILVA, R. B., SILVA-JÚNIOR, E. V., RODRIGUES, L. C., ANDRADE, L. H. C., SILVA, S. I. D., HARAND, W., & OLIVEIRA, A. F. M. A comparative study of nutritional composition and potential use of some underutilized tropical fruits of *Arecaceae*. **Proceedings of the Brazilian Academy of Sciences**, 87(3), 1701-1709. 2015
- SIMOPOULOS, A. P. Importance of the Ratio of Omega-6/Omega-3 Essential Fatty Acids: Evolutionary Aspects. *Omega-6/Omega-3 Essential Fatty Acid Ratio: The Scientific Evidence*, 1-22, 2003.

- SPRANGHERS, T.; OTTOBONI, M.; KLOOTWIJK, C.; OVYN, A.; DEBOOSERE, S.; DE MEULENAER, B.; ... DE SMET, S. Nutritional composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on different organic waste substrates. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 97(8), 2594–2600, 2017.
- SCHIAVONE, A., DABBOU, S., DE MARCO, M., CULLERE, M., BIASATO, I., BIASIBETTI, E., ... GASCO, L. Black soldier fly larva fat inclusion in finisher broiler chicken diet as an alternative fat source. **Animal**, 1-8, 2018.
- SU, C. H.; NGUYEN, H. C.; BUI, T. L.; HUANG, D. L. Enzyme-assisted extraction of insect fat for biodiesel production. **Journal of Cleaner Production**, v.223, p439-444,2019.
- TZOMPA-SOSA, D. A.; YI, L.; VAN VALENBERG, H. J. F.; VAN BOEKEL, M. A. J. S.; LAKEMON, C. M. M. Insect lipid profile: aqueous versus organic solvent-based extraction methods. **Food Research International**, v.62, p. 1087-1094, 2014.
- TZOMPA-SOSA, D. A.; DEWETTINCK, K.; GELLYNCK, X.; SCHOUTETEN, J. J. Replacing vegetable oil by insect oil in food products: Effect of deodorization on the sensory evaluation. **Food Research International**, 141, 110140, 2021.
- TZOMPA-SOSA, D. A.; YI, L.; VAN VALENBERG, H.J.F.; LAKEMON, C.M. Four insect oils as food ingredient: physical and chemical characterisation of insect oils obtained by an aqueous oil extraction. **Journal of insects as food and feed**. v.5 (4). Pag 279-292. 2019.
- UAUY, R.; HOFFMAN, D. R.; PEIRANO, P.; BIRCH, D. G.; BIRCH, E. E. Essential fatty acids in visual and brain development. **Lipids**, 36(9), 885-895. 2001.
- WANG, H.; REHMAN, K. UR.; LIU, X.; YANG, Q.; ZHENG, L.; LI, W., ... YU, Z. Insect biorefinery: a green approach for conversion of crop residues into biodiesel and protein. **Biotechnology for Biofuels**, v.10(1), p 2-13, 2017.
- WU, J.; JOHNSON, L. A.; JUNG, S. Demulsification of oil-rich emulsion from enzyme-assisted aqueous extraction of extruded soybean flakes. **Bioresource Technology**, 100(2), 527–533, 2019.
- YI, L.; LAKEMON, C. M. M.; SAGIS, L. M. C.; EISNER-SCHADLER, V.; VAN HUIS, A.; VAN BOEKEL, M. A. J. S. Extraction and characterisation of protein fractions from five insect species. **Food Chemistry**, 141(4), 3341-3348, 2013.

5 REFERÊNCIAS

- AGUILAR, J. G. S. An overview of lipids from insects. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 33, 101967, 2021.
- BARRAGAN-FONSECA, K. B.; DICKE, M.; VAN LOON, J. J. A. Nutritional value of the black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) and its suitability as animal feed – a review. **Journal of Insects as Food and Feed**, 3(2), 105-120, 2017.
- BARROSO, F. G.; HARO, C.; SÁNCHEZ-MUROS, M. J.; VENEGAS, E.; MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, A.; PÉREZ-BAÑÓN, C. The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture*, **Aquaculture**, 422-423, 193-201, 2014.
- CARVALHO, N. M.; MADUREIRA, A. R.; PINTADO, M. E. The potential of insects as food sources - a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 1–11. 2019.
- CHEN, X., FENG, Y., CHEN, Z. Common edible insects and their utilization in China. **Entomological Research**, 39(5), 299–303, 2019.
- HUIS, V. A. Potential of Insects as Food and Feed in Assuring Food Security. **Annual Review of Entomology**, 58(1), 563-583, 2013.
- HUIS, A. **Edible insects are the future? Proceedings of the Nutrition Society**, 75(03), 294–305, 2016.
- KOUŘIMSKÁ, L.; ADÁMKOVÁ, A. Nutritional and sensory quality of edible insects. **NFS Journal**, v.4, 22-26, 2016.
- LOMBARDI, A.; VECCHIO, R.; BORRELLO, M.; CARACCILO, F.; CEMBALO, L. Willingness to pay for insect-based food: the role of information and carrier. **Food Quality and Preference**, v. 72, p. 177-187, 2018.
- NONGONIERMA, A. B.; FITZGERALD, R. J. Unlocking the biological potential of proteins from edible insects through enzymatic hydrolysis: A review. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 43, 239-252, 2017.
- RAMOS-ELORDUY, J. Energy Supplied by Edible Insects from Mexico and their Nutritional and Ecological Importance. **Ecology of Food and Nutrition**, v. 47(3), 280-297, 2008.
- RAMOS-BUENO, R. P.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, M. J.; SÁNCHEZ-MUROS-LOZANO, M.; J.; GARCÍA-BARROSO, F.; GUIL-GUERRERO, J. L. Fatty acid profiles and cholesterol content of seven insect species assessed by several extraction systems. **European Food Research and Technology**, v.242(9), p.1471–1477, 2016.
- SALOMONE, R.; SAIJA, G.; MONDELLO, G.; GIANNETTO, A.; FASULO, S.; SAVASTANO, D. Environmental impact of food waste bioconversion by insects: Application

of Life Cycle Assessment to process using *Hermetia illucens*. **Journal of Cleaner Production**, v. 140, p. 890-905, 2017.

STONE, H., FITZGIBBON, L., MILIAN, E.; MURAYAMA, K. Curious to eat insects? Curiosity as a Key Predictor of Willingness to try novel food, **Apetite**, v. 168, 105790, 2022.

TZOMPA-SOSA, D. A.; YI, L.; VAN VALENBERG, H. J. F.; VAN BOEKEL, M. A. J. S.; LAKEMON, C. M. M. Insect lipid profile: aqueous versus organic solvent-based extraction methods. **Food Research International**, v.62, p. 1087-1094, 2014.