

UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

**ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR Y FACULTAD DE
CIENCIAS EXPERIMENTALES**

INGENIERO TÉCNICO AGRÍCOLA



PROYECTO FIN DE CARRERA

COMPOSICIÓN BROMATOLÓGICA *HERMETIA ILLUCENS*

ALUMNO:

MACARENA SEGURA CAZORLA

DIRECTORES:

MARIA JOSE SANCHES-MUROS LOZANO

ELVIRA MOROTE CORDOBA

ALMERÍA, MAYO 2014

ÍNDICE

ÍNDICE

1. ANTECEDENTES	6
1.1 SITUACIÓN ACTUAL DE LA ACUICULTURA Y LIMITACIONES DE LA HARINA DE PESCADO.....	6
1.2 FUENTES ALTERNATIVAS A LA HARINA DE PESCADO.....	8
1.3 LA HARINA DE INSECTOS COMO FUENTE ALTERNATIVA A LA HARINA DE PESCADO	12
1.4 CARACTERÍSTICAS DE LA <i>HERMETIA ILLUCENS</i>	14
1.5 IMPORTANCIA DE LOS ÁCIDOS GRASOS	17
1.6 PRODUCCIÓN DE INSECTOS.....	20
1.7 MEJORA DEL VALOR NUTRITIVO	22
2. OBJETIVOS.....	25
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	27
3.1 DISEÑO EXPERIMENTAL DEL EXPERIMENTO 1.	27
3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL DEL EXPERIMENTO 2.	28
3.2.1 Harinas cárnicas.....	29
3.2.2 Pienso de gallina.....	29
3.2.3 Alperujo.	29
3.2.4 Cáscaras de limón y naranja.....	30
3.2.5 Piel de tomate.....	30
3.3 MÉTODOS ANALÍTICOS.....	30
3.4 DETERMINACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS.....	33
4. RESULTADOS	36
4.1 ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE <i>HERMETIA ILLUCENS</i> ALIMENTADA CON PIENSO ENRIQUECIDO DE HARINA DE PESCADO DURANTE DIFERENTES TIEMPOS ANTES DE SACRIFICIO.EXPERIMENTO 1.....	38
4.1.1 Proteína Bruta.....	39
4.1.2 Grasas.....	40
4.1.3 Cenizas	41
4.1.6 Ácido docosahexaenoico (DHA; 22:6n3).....	47
4.2 ANÁLISIS BROMATOLOGICO DE <i>HERMETIA ILLUCENS</i> ALIMENTADA CON DIFERENTES SUSTRATOS.EXPERIMENTO 2.	47
4.2.1 Sustratos de origen animal.....	48
4.2.2 Sustratos vegetales no grasos.....	49
4.2.3 Sustratos vegetales grasos.	50
4.2.4 Comparación del análisis bromatológico entre las diferentes agrupaciones de sustratos alimenticios.....	52
5. DISCUSIÓN	57
5.1 CARACTERÍSTICAS NUTRITIVAS DE LA LARVA, PUPA Y LOS RESTOS DEL MEDIO DE CULTIVO DE <i>HERMETIA ILLUCENS</i>	58
5.2 DISCUSION EXP.1 ALIMENTACION DE LA LARVA <i>HERMETIA ILLUCENS</i> CON PIENSO CONTROL Y PIENSO ENRIQUECIDO.	60

5.3	DISCUSIÓN EXP.2 ALIMENTACIÓN DE LARVA DE <i>HERMETIA. ILLUCENS</i> CON DIFERENTES SUSTRATOS.	64
6.	CONCLUSIONES	68
6.1	CONCLUSIÓN FINAL.....	68
7.	BIBLIOGRAFÍA	70

**REVISIÓN
BIBLIOGRÁFICA**

1. ANTECEDENTES

1.1 SITUACIÓN ACTUAL DE LA ACUICULTURA Y LIMITACIONES DE LA HARINA DE PESCADO

Tradicionalmente, la materia prima que ha constituido el mayor aporte de proteína en los piensos ha sido la harina de pescado, ya que posee ciertas características que ponen de manifiesto su extraordinaria calidad nutritiva:

- Su contenido en proteína es superior al 60% en materia seca.
- Alta digestibilidad de la proteína.
- Su aporte de aminoácidos esenciales y no esenciales satisface las necesidades de los peces y garantiza una óptima síntesis proteica.
- Cubre las necesidades de ácidos grasos de los peces, especialmente, de los poliinsaturados.
- Alto contenido en proteínas del tipo B.
- Aporta gran cantidad de minerales, especialmente, fósforo asimilable.
- Tienen una buena palatabilidad para los peces, asegurando un adecuado nivel de ingesta.

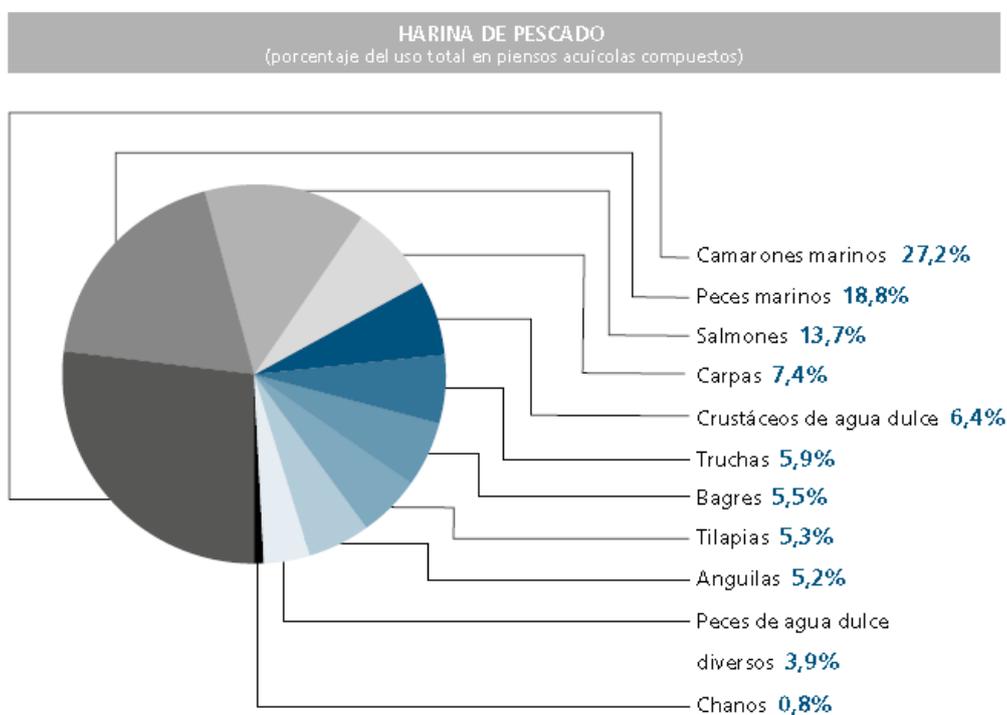
Sin embargo, el proceso de elaboración de harina de pescado implica unos costes muy elevados, de manera que, hablando en términos energéticos, para producir 1kg de pez carnívoro o de crustáceo en piscifactoría son necesarios 3kg de otros tres peces si asumimos gastos por pesca, elaboración de harina, transporte, etc.

La crisis a nivel mundial de la harina de pescado no comenzó realmente hasta los años 70. Hasta ese momento, su situación en el mercado se había mantenido al alza, con una buena disponibilidad y precios competitivos. Sin embargo, la simultaneidad de una serie de factores en el contexto económico global provocó un aumento considerable del precio de la harina de pescado y, con ello, un coste desorbitado en piensos en las piscifactorías. Para empezar, la crisis del petróleo afectó a todos los transportes, incluidos los barcos de pesca, y a toda la cadena de procesado. El número de capturas en alta mar se vio mermado tras las restricciones de muchos países para pescar en sus aguas y el progresivo cambio en las corrientes oceánicas.

Con el tiempo, los caladeros habituales se fueron agotando y paulatinamente se fueron introduciendo en el mercado especies hasta entonces extrañas para el consumidor y que tradicionalmente se habían empleado para la fabricación de harina de pescado. Este nuevo destino de la materia prima para elaborar la harina, junto con una mayor demanda del producto por parte de China, fue el último factor que provocó una subida tan acusada de los precios.

Aunque esta situación de crisis ya se ha aliviado bastante, los productores se alejan cada vez más del uso de harina de pescado, ya que depender de la pesca para producir pescado en piscifactorías continúa siendo un hecho paradójico y dudosamente rentable. Este cambio de mentalidad le abrió las puertas a la investigación para buscar nuevas materias primas que, cumpliendo con los requisitos nutritivos, no hiciesen fluctuar tanto el precio de los piensos.

Gráfico 1: Consumo mundial de harinas y aceites de pescado por parte de los principales grupos de especies acuícolas en 2008.



Fuente: FAO 2012

1.2 FUENTES ALTERNATIVAS A LA HARINA DE PESCADO.

A la hora de buscar una fuente de proteína alternativa a la harina de pescado, hay que tener en cuenta los siguientes criterios (Higuera y Cardenete, 1987):

- Debe contener suficiente proteína como para poder sustituir en gran medida la harina de pescado sin que ello suponga desequilibrios o problemas para ajustar la inclusión del resto de componentes de la ración: lípidos, glúcidos, vitaminas, etc.
- La calidad de la proteína, es decir, su aporte de aminoácidos esenciales y sus niveles de digestibilidad, debe ser la apropiada para cada especie.
- Es necesario controlar los procesos tecnológicos por los que deba pasar el alimento y la manera en que éstos pueden afectar a la disponibilidad de la proteína.
- Evaluar la posible presencia de factores anti-nutritivos, especialmente en las harinas de origen vegetal.

Proteínas de origen vegetal

Los vegetales suponen un grupo de materias primas muy competitivas para incluir en piensos. Su alta productividad, no necesariamente ligada al medio, y el aprovechamiento de vegetales subproductos de la agricultura, son dos factores que han permitido posicionar a determinadas especies vegetales como principales sustitutivos de la harina de pescado.

Sin embargo, las fuentes proteicas de origen vegetal presentan ciertos inconvenientes. En primer lugar, su contenido en proteína es significativamente inferior al de la harina de pescado y son deficientes en aminoácidos esenciales, especialmente, lisina y metionina. Además, su palatabilidad es inferior, lo que reduce el nivel de ingesta, y no son muy digestibles debido a la presencia de determinados factores anti-nutritivos. Por otro lado, con la aplicación de tratamientos a los componentes vegetales de los piensos se puede incrementar la palatabilidad y la digestibilidad, así como

mejorar su balance aminoacídico adicionando aminoácidos esenciales y facilitando la disponibilidad de éstos.

Las materias vegetales con mayor aptitud para desplazar significativamente a la harina de pescado son las leguminosas, las oleaginosas y los concentrados proteicos procedentes de subproductos industriales. En cualquier caso, la inclusión de productos vegetales en piensos queda limitada al aporte energético y aporte de proteína secundario, esto es, que no suministre más del 25% de proteína de la ración. En caso contrario, el crecimiento del pez queda restringido (Murai, 1992) debido, principalmente, a un mal balance de aminoácidos, baja palatabilidad y presencia de factores antinutritivos.

Cabe destacar en este apartado la importancia de la harina de soja, pues ha sido la materia más estudiada y empleada en alimentación piscícola. Posee un alto contenido en proteína y un buen perfil aminoacídico. Todo esto unido a un tratamiento adecuado de su semilla para eliminar factores antinutritivos garantiza una disponibilidad de aminoácidos suficiente para conseguir un desarrollo aceptable. Si además se suplementa la harina de soja con aminoácidos, ésta puede ser empleada como fuente proteica mayoritaria en piensos, llegando a sustituir hasta en un 50% la harina de pescado. Sin embargo, el precio al que se comercia actualmente la harina de soja se acerca peligrosamente al de la harina de pescado, lo cual supone un freno para su uso.

Otras materias vegetales probadas como fuentes de proteínas son la colza (Hilton y Slinger, 1986), la semilla de algodón (Anwar et al., 1982) y el gluten de maíz (Moyano et al., 1992). En todos estos casos, los principales inconvenientes derivan de lo ya citado anteriormente: mala digestibilidad por contener factores antinutritivos, baja palatabilidad y desbalance de aminoácidos.

Proteínas de organismos unicelulares

Aunque se han empleado muy poco en alimentación de peces (generalmente, sólo como aditivo probiótico), los microorganismos unicelulares presentan una serie de ventajas como fuente de proteínas (Kihlberg, 1972):

- En primer lugar, su contenido en proteína ronda en torno a un 40-70% medido en masa seca.
- Son capaces de crecer sobre sustratos pobres y de bajo costo como subproductos industriales.
- En condiciones óptimas, presentan una alta velocidad de reproducción.
- Son capaces de crecer en medios reducidos (colonias que aprovechan bien el espacio) y controlados.
- Su manipulación genética es relativamente sencilla, lo que permite modificar su valor nutritivo.
- Constituyen una fuente importante de vitamina C y ácidos grasos esenciales (Kaushik, 1990).

Las más empleadas hasta ahora han sido, por orden decreciente, las levaduras, las bacterias y las algas, especialmente importantes estas últimas en la alimentación de larvas de peces marinos. Sin embargo, se han observado una serie de problemas en su inclusión en dietas para peces. Por un lado, se ha observado que el aporte de nitrógeno procedente de ácidos nucleicos produce alteraciones a nivel hepático, hematológico y hasta acumulaciones anormales de ácido úrico (fenómenos descritos en truchas por Sánchez-Muñiz et al., 1983). Además de esto, muchas bacterias son deficientes en aminoácidos azufrados (Murray y Marchant, 1986) y la mayoría de ellas requieren de un tratamiento especial para romper su pared celular y poder mejorar su digestibilidad (Murray y Marchant, 1986).

Visto todo esto, no es de extrañar que no se comercialicen organismos unicelulares como aporte proteico en piensos.

Proteínas de origen animal

Se elaboran principalmente a base de subproductos de distintas industrias y no se emplean en alimentación humana, por lo que su precio es bastante competitivo. Los principales tipos estudiados hasta ahora son tres:

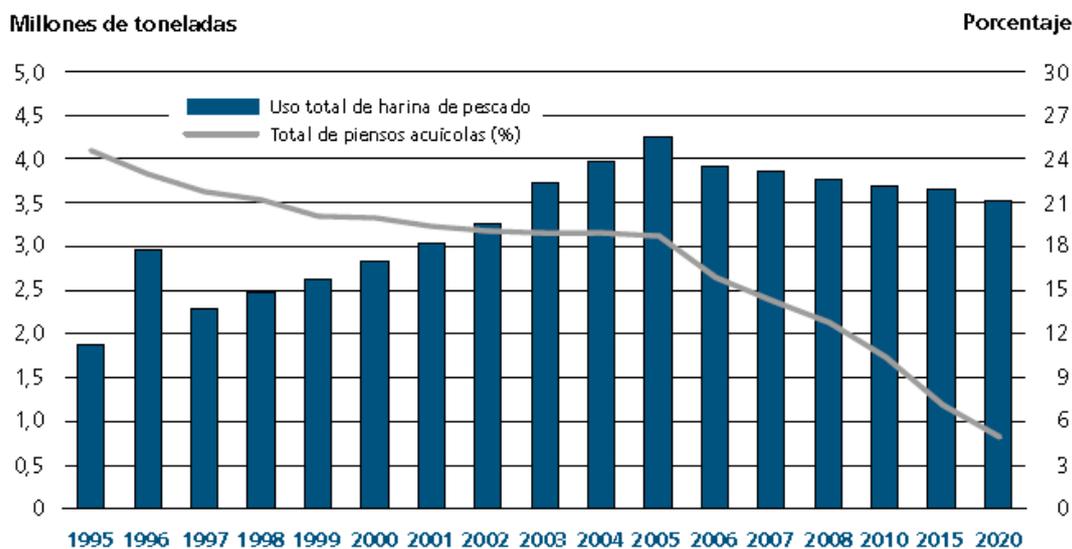
Subproductos de matadero: Harinas de sangre, plumas hidrolizadas, huesos... Han sido incorporadas a distintos piensos con relativa asiduidad y, además, han sido sometidas a estrictos controles sanitarios durante todo su proceso de producción. Pese a su alto contenido en proteína, algunas de ellas presentan una baja digestibilidad y deficiencias en aminoácidos esenciales, principalmente, lisina, metionina y triptófano. Aun así, se han obtenido buenos resultados al realizar sustituciones de más de un 50% de harina de pescado por subproductos avícolas y de matadero en algunas especies carnívoras de peces (Moshen y Lowell, 1990; Fowler, 1990).

Harinas de invertebrados: Éstas son menos convencionales y las conclusiones derivadas de su inclusión en dietas son muy dispares según los casos. La abundante población de krill del Antártico y el Atlántico Norte y los resultados positivos obtenidos en alimentación de peces llevaron a muchos a considerar este crustáceo como sustituto perfecto para la harina de pescado (Shimizu et al., 1990), pero no constituye una fuente viable a largo plazo ya que presenta los mismos inconvenientes que la harina de pescado: alta dependencia de la producción natural y de la pesca extractiva.

Otro grupo de invertebrados con el que se ha experimentado mucho han sido los lumbrícos procedentes de granjas de lombrices dedicadas a la producción de humus. Los datos resultantes de estos experimentos concluyen que para algunas especies (por ejemplo en salmón), la sustitución parcial de harina de pescado por lombriz promueve el crecimiento (Akiyama et al., 1984; Stafford y Tacon, 1985; Velasquez et al., 1991). Por el contrario, la harina de lombriz tiene muy baja palatabilidad y puede contener factores anti-nutritivos o contaminantes (Cardenete et al., 1991).

Otra harina de invertebrados que va cobrando importancia es la de insectos que, por ser la que atañe a este proyecto, será desarrollada en un apartado propio.

Gráfico 2: Reducción efectiva y prevista del uso de harina de pescado en relación con la producción mundial de piensos acuícolas compuestos.



Fuente: Adaptado de Tacon, A.G.J., Hasan, M.R y Metian, M. 2011.

1.3 LA HARINA DE INSECTOS COMO FUENTE ALTERNATIVA A LA HARINA DE PESCADO

La entomofagia practicada por distintas culturas en diversas partes del mundo (Ramos-Elorduy, J. et al., 1998) llevó a muchos nutricionistas a evaluar sus aportes como alimento. De todos estos trabajos se concluye que la mayoría de los insectos analizados poseen, entre otros, un aporte proteico similar al de la carne. Esto, si bien no pareció aumentar su consumo para nutrición humana, arrojó nueva luz para la búsqueda de fuentes alternativas en acuicultura.

Aunque a nivel global son muy pocos los estudios que se han centrado en obtener proteína a partir de harina de insectos, es destacable el proyecto de investigación “Aquaculture and Technology Group Neptune Industrie” desarrollado en la Universidad Estatal de Mississippi que se inició en abril de 2007. Los ensayos, llevados a cabo en lubina *Dicentrarchus labrax* son bastante positivos, ya que en este caso no se observó verdadera preferencia de los peces por la harina de pescado frente a la de insectos y no se aprecian diferencias en la apariencia, sabor o textura entre los peces alimentados con distintas dietas (Ratliff, 2007).

El estudio de la composición química y el valor nutritivo de algunos insectos indica que contiene una gran proporción de proteína (Landry et al., 1986; Phelps et al., 1975). En los países con un déficit proteico en la alimentación humana se ha estudiado su valor nutritivo como fuente de alimento y proteína para los humanos (DeFoliart, 1989; Conconi et al., 1984; Ramos-Elorduy et al., 1998).

Concretamente, Wang et al. (2007) han estudiado el valor nutritivo del saltamontes *Acrida cinerea*, encontrando que el adulto está constituido (en materia seca) principalmente por: 65,4% de proteína bruta (PB), 8,3% de grasa, 8,7% de quitina y 3,5% de cenizas. Otras especies de insectos analizadas han sido el grillo mormón *Anabrus simplex* (58% PB) (DeFoliart et al., 1982), el grillo doméstico *Acheta domesticus* (62% PB) (Nakagaki y DeFoliart, 1987), y seis especies de larvas de lepidópteros (de 49,4% a 58,1% PB) (Landry et al., 1986). Como puede observarse, aunque estos valores sean inferiores a los obtenidos por Wang et al. (2007) para el saltamontes *Acrida cinerea*, se puede decir que la proporción de proteína en estos insectos es similar a la harina de pescado (aproximadamente un 60% PB).

Por otra parte, Ramos-Elorduy et al. (1998), ha analizado 104 especies distintas de insectos tanto acuáticos como terrestres, pertenecientes a diez órdenes diferentes, pensando en su influencia sobre la nutrición humana. El contenido proteico variaba desde el 9,5% (*Myrmecosistus melliger*) al 77% (*Melanoplus mexicanus*). Más de 20 especies poseían niveles superiores al 60% de proteína, y sólo 30 especies menos del 50%. En general, las fases larvarias de los insectos se caracterizan por contener menor proporción de proteína y mayor de grasa que los adultos, y así por ejemplo, la larva del picudo de la palmera *Rhynchophorus phoenicis* presenta un nivel proteico únicamente del 20,3% (Cerdeira et al., 1999).

También se ha descrito que el contenido de aminoácidos más similar al de la harina de pescado (metionina 1,6%, lisina 0,5% y cisteína 1,6%) es el de la harina del saltamontes *Acrida cinerea* (metionina 1,7%, lisina 0,7% y cisteína 3,8%) (Wang et al., 2007). Sin embargo, el grillo mormón y común son deficientes en metionina (DeFoliart et al., 1982; Finke et al., 1985; Nakagaki y DeFoliart, 1987), y se ha descrito que seis especies de lepidópteros son deficientes en los aminoácidos esenciales metionina, cisteína y posiblemente lisina (Landry et al., 1986).

La mosca *Hermetia illucens* tiene la capacidad de reducir el nitrógeno y fósforo de residuos hasta en un 75%, y la masa de residuos de estiércol por encima de 50% en sistemas de aves de corral y cerdos (Sheppard et al. 1994, 1998; Newton et al. 2005). Además, las prepupas tienen aproximadamente un 40% de proteína y 30% de grasa (Sheppard et al. 1994, 1998. (Newton et al. 2005), lo que lo convierte en una fuente adecuada de alimento para animales (Newton et al. 1977; Bondari y Sheppard 1981, 1987).

1.4 CARACTERÍSTICAS DE LA *HERMETIA ILLUCENS*.

Clasificación científica

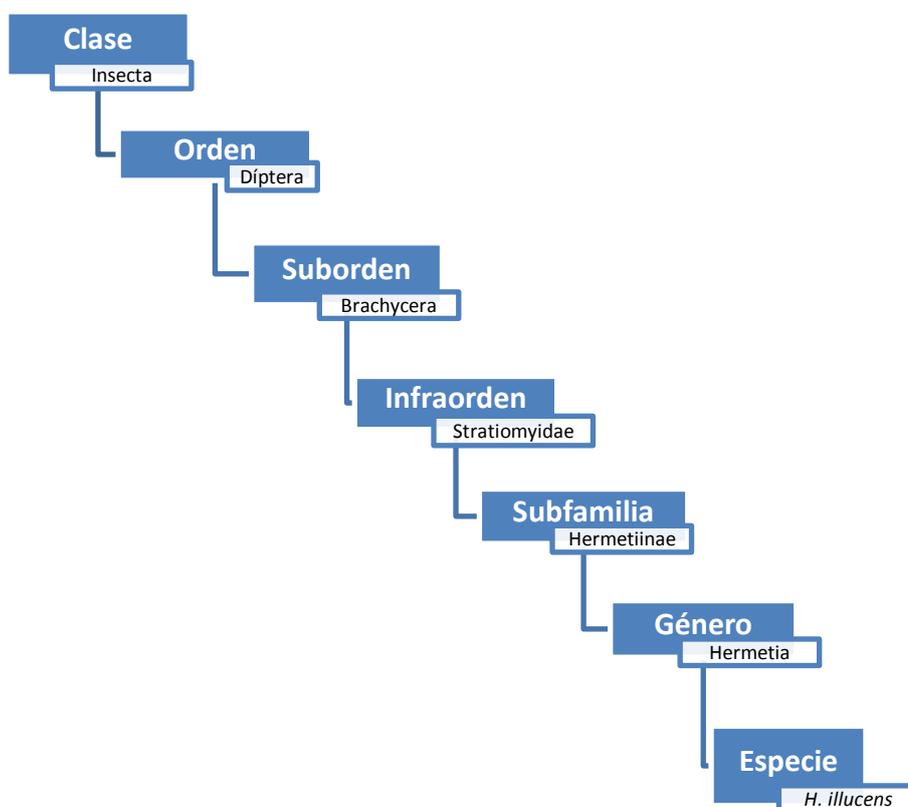


Fig.1.: Descripción de la clasificación de *Hermetia illucens*.

La mosca soldado negro *Hermetia illucens* es una especie de díptero braquícero (con dos alas) de la familia Stratiomyidae originaria de América, a pesar de que se ha extendido por el sur de Europa, África, Asia e islas del Pacífico. En la península Ibérica se registró por primera vez en 1954 (Martínez Sánchez *et. al.*, 2011). La forma adulta se asemeja a una abeja, sin embargo carece de aguijón. Sus larvas tienen una longitud de

1-4cm, con un grosor de 0.5mm y su coloración varía desde el amarillo, verde, negro o azul con cierto aspecto metálico.

Los adultos miden 20mm de largo, tienen una coloración azulada-negra con tarsos amarillo-blancos y dos puntos traslúcidos laterales en el segundo segmento abdominal.

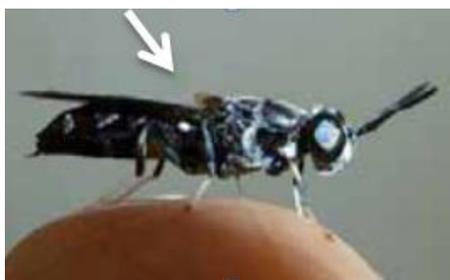


Fig.2: *Hermetia illucens*. Fuente: Final Report Saurin HEM, Bioconversion Indonesia 2005 – 2011 11

Pueden vivir dentro del compost en su fase larvaria según las condiciones de temperatura y humedad que haya dentro de éste. Su alimentación es muy amplia y variada.

Las poblaciones de las mosca soldado pueden ser tan abundantes que pueden llegar a convertir la masa de la excreta de las gallinas en un medio líquido, evitando así que otras moscas se desarrollen. Como dato curioso es que reducen hasta en un 50% la basura orgánica.

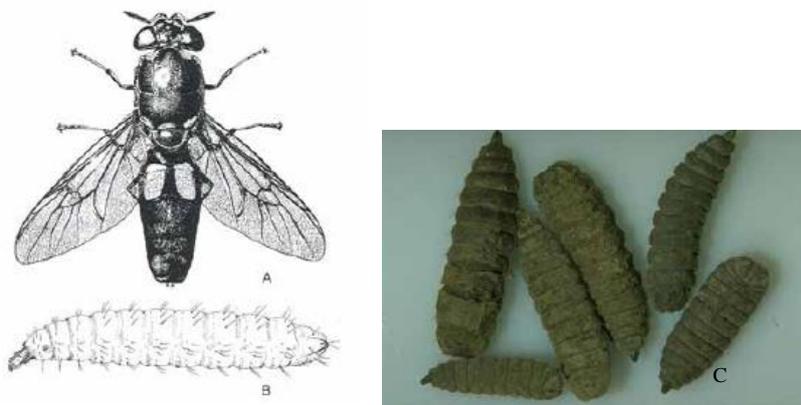


Fig. 3.: *Hermetia illucens* adulto (A) y larva (B,C)

Ciclo de vida

El ciclo de vida de la mosca soldado negro comienza cuando la hembra pone alrededor de 600 huevos en grietas y hendiduras cercanas a restos orgánicos húmedos y ricos en nutrientes. La incubación de los huevos es de 3 a 4 días y después alcanzan un estado larvario. Las larvas son de crecimiento rápido y se caracterizan por seis estadios larvales (L1, L2, L3, L4, L5 y prepupa). En condiciones ideales, la larva puede madurar en 10 días, cuando ya tienen los tejidos desarrollados y han almacenado suficientes reservas.

Los adultos no necesitan alimentarse por lo que dependen de las reservas acumuladas durante la fase larvaria (Newton *et al.*, 2005) mueren rápidamente y tienen un período de 5-8 días para aparearse, encontrar un lugar para poner los huevos y depositarlos. Todo esto dificulta la existencia de una colonia de moscas soldado adultas en el compostado.

La temperatura afecta directamente sobre el crecimiento y desarrollo (Gullan & Craston, 2000). El desarrollo de un insecto se puede describir mediante una curva de rendimiento térmico, donde desde una temperatura mínima su desarrollo aumenta hasta una temperatura óptima, disminuyendo rápidamente a una temperatura máxima (Deutsch *et al.*, 2008). Las temperaturas mínima y máxima se denominan umbrales de desarrollo y cuando los insectos se enfrentan a entornos ambientales más allá de sus umbrales de desarrollo, éste se ralentiza o detiene. Las temperaturas óptimas para el ciclo biológico de *H. illucens* se sitúan en el rango de 24 a 29,3°C.

Gráfico 3: El ciclo vital de la mosca soldado, *Hermetia illucens* a 25°.



Fuente: investiga. Tec., Año 2, No. 4, enero de 2009 - ISSN: 1659-3383

Usos de la mosca

Como se ha mencionado en el apartado anterior del ciclo de vida, la fase larvaria es la más larga y es cuando ocurre la alimentación de esta especie, que puede consumir enormes cantidades de residuos de alimentos o de estiércol. Se han realizado estudios en Costa Rica donde se pueden usar para el manejo de residuos municipales orgánicos, La larva de la mosca *Hermetia illucens* procesa desechos orgánicos reciclando los nutrientes que ingiere en proteína propia de alto valor. Esta proteína del insecto puede ser comercializada como alimento animal, además de generar residuos orgánicos aptos para enmiendas agrícolas. Se obtiene de este proceso dos subproductos útiles: 1) las propias larvas que representan una excelente fuente de alimento para muchos tipos de animales, incluyendo peces, aves, reptiles, anfibios etc., 2) el residuo o piezas de fundición que se puede utilizar como una enmienda del suelo.

Desde los años 80 se está investigando esta especie y más concretamente en la última década, donde se ha comercializado como alimento para los animales domésticos exóticos y existe la posibilidad de su provecho a gran escala sobre una base comercial.

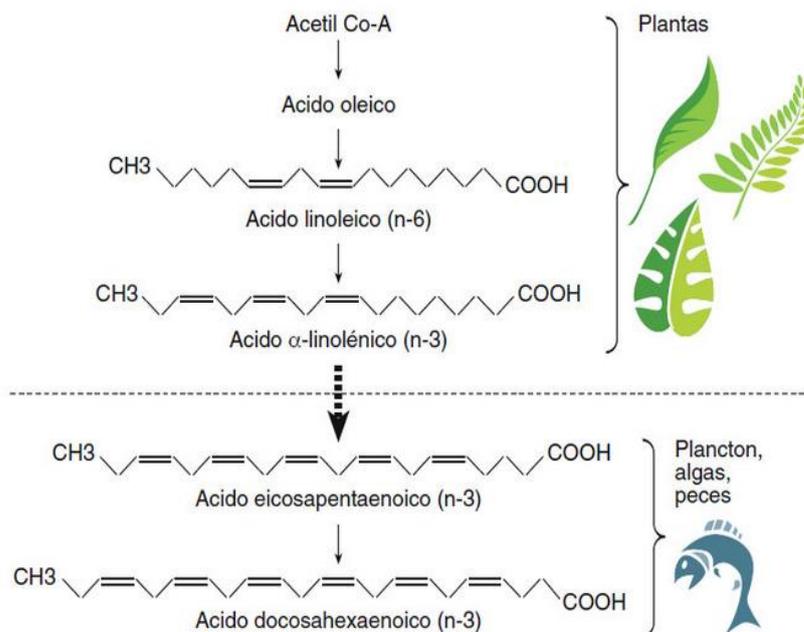
1.5 IMPORTANCIA DE LOS ÁCIDOS GRASOS

Los ácidos grasos tienen una función muy importante en la alimentación, además de un gran número de propiedades saludables puestas de manifiesto en numerosas investigaciones, cabe destacar su intervención en el crecimiento, pues son los elementos de las membranas de las células. Durante la gestación, son primordiales para un buen desarrollo y funcionamiento del cerebro y la retina del feto. Los ácidos grasos tienen la capacidad de corregir problemas visuales y cerebrales en pacientes con deficiencia demostrada y son precursores de compuestos hormonales como los prostanoïdes (prostaglandinas y tromboxanos) que facilitan la transmisión de mensajes en el sistema nervioso central (Simopoulos, 1999).

Los Omega 3 junto con los Omega 6 conforman los ácidos grasos poliinsaturados. Ambos son considerados como "esenciales" ya que el ser humano no los puede sintetizar, razón por la cual deben ser incluidos en la alimentación diaria o a

través de suplementos farmacéuticos. Mientras que el ácido alfa linolénico (ALA) es el precursor del ácido eicosapentaenoico (EPA) (20:5 n-3) y de ácido docosahexaenoico (DHA) (22: 6 n-3), el ácido linolénico lo es para los Omega 6.

Gráfico 4: Procedencia y composición de los ácidos grasos omega-3.



Fuente: <http://www.medicinapreventiva.com>

Los peces contienen niveles altos de ácidos grasos insaturados dentro de los que destacan el EPA y el DHA. Los peces no producen estos ácidos grasos, más bien los sintetizan a partir del ALA aportado por los microorganismos unicelulares del plancton. El requerimiento de DHA es mayor al de EPA debido a su importancia en diversas funciones fisiológicas. Por otro lado, DHA y EPA deben ser incluidos en las dietas artificiales en una proporción adecuada para evitar un efecto negativo en los sistemas neurológicos y visuales (Sargent *et al.* 1999b).

Como norma general, la proporción utilizada en la formulación de dietas es de 2:1 (DHA: EPA). Además del DHA y EPA, existe otro ácido graso que resulta esencial, el ácido araquidónico, o 20:4(w- 6). Este es el principal precursor de las prostaglandinas y los leucotrienos, sustancias hormonales de actividad paracrina importantes en la

respuesta fisiológica al estrés y en los procesos de coagulación y anti-inflamación (Castell *et al.* 1994; Sargent *et al.* 1997). Por otro lado, los altos niveles de EPA pueden inhibir la producción de prostaglandinas a partir del ácido araquidónico por inhibición enzimática competitiva (Sargent *et al.* 1999a). Por ello, es importante tener en cuenta que al manipular la proporción de DHA: EPA, la proporción de EPA: ácido araquidónico también se ve afectada.

La concentración de EPA y DHA es variable entre las distintas especies y en general, se considera que mientras más grasa contiene el pez, mayor es la concentración de estos ácidos grasos, tales como el atún, la sardina, el salmón y el arenque.

La constante investigación sobre sucedáneos del aceite de pescado seguirá siendo una prioridad, con el objetivo de mantener la calidad de las especies destinadas al cultivo en lo que respecta al contenido de ácidos grasos altamente insaturados en los productos finales, se prevé que el consumo total de aceite de pescado en la acuicultura aumente (FAO 2012), aunque se espera un descenso del nivel de inclusión de aceite de pescado en diversas especies de crustáceos y peces carnívoros.

Tabla 1: Ácidos grasos Ω -3 en moluscos (g/100).

ÁCIDOS GRASOS Ω - 3 EN MOLUSCOS (g / 100g)			
MOLUSCOS	ALA	EPA	DHA
Almeja de concha blanda	Tr	0,2	0,2
Almeja de cuello angosto	Tr	Tr	Tr
Almeja de surf	Tr	0,1	0,1
Almeja japonesa	-	0,1	0,1
Almeja de concha dura	Tr	Tr	Tr
Almeja de río	-	Tr	Tr
Calamar de aleta corta	Tr	0,2	0,4
Calamar del atlántico	Tr	0,1	0,3
Caracola	Tr	0,6	0,4
litorina caracolillo común	0,2	0,5	Tr
Mejillón azul	Tr	0,2	0,3
Mejillón del mediterráneo	-	0,1	0,1
Ostión del pacífico	Tr	0,4	0,2
Ostión europeo	0,1	0,3	0,2
Ostra oriental	Tr	0,2	0,2
Pulpo común	-	0,1	0,1
Venera calico	Tr	0,1	0,1

Fuentes: Mahan y Escott 1998; Chow 1992; Nettleton, 1991.

Tr = trazas (menos de 0,05 g por 100 de alimento)

1.6 PRODUCCIÓN DE INSECTOS.

Los primeros intentos de criar insectos en cautividad fueron llevados a cabo por Reamur, con el propósito de estudiar en el laboratorio las metamorfosis de las especies que atacaban las plantas. Redi y Megnin utilizaron estas mismas técnicas para el estudio de los insectos y ácaros encontrados sobre los cadáveres consiguiendo con ello importantes avances en los estudios de medicina legal.

Cuatro son los fines que se pretenden con la cría de insectos en cautividad: aprovechamiento industrial de alguna de sus fases evolutivas, cultivos masivos de predadores utilizados en luchas biológicas, material de ensayo en investigaciones bioecológicas y especies seleccionadas para intentar estudios genéticos e inmunológicos.

En relación con el primer aspecto, el ejemplo más típico lo constituye el cultivo o cría del gusano de la seda *bombix moris*. El interés de la industria sericícola ha hecho posible que se perfeccionen las técnicas para llegar a una tecnología verdaderamente ejemplar en todas y cada una de sus facetas: obtención de los huevos fecundos, incubación, eclosión, alimentación, suministro de alimentos, cuidados higiénicos, etc.

El aspecto que ocupa mayor importancia en este proyecto supone la cría de insectos con fines bromatológicos principalmente, para conseguir alimentos apropiados para peces, ranas y aves. El *Tenebrio molitor* es uno de los que se manejan, debido a las facilidades de su cría.

Las campañas de lucha biológica, a través de los insectos, con las que se están abriendo espectaculares posibilidades en orden a la profilaxis, obligan a perfeccionar los dispositivos necesarios para criar las especies predatoras. De las primeras prácticas de lucha biológica ya se ocupó el entomólogo francés Boisgrau en 1840, utilizando para ellos el coleóptero *Calasoma sycophanta*. En la cría en cautividad de este insecto utilizaba, preferentemente, jugos de frutas o extractos de las larvas que le servían de alimento en libertad. Los *Calasoma* se crían en insectarios de la mayoría de los países, así como *coccinélidos* y *coccidófagos*. Igualmente se cultivan en cautividad, con idénticos fines, el *Rodolia cardinalis*, enemigo mortal de la *Icerya purchaisi*; el *Cryptolaemus monttrouzieri*, predador del *Pseudococcus citri*, parásito de los naranjales; el lepidóptero *Catoblastis cactorum*, para luchas contra el *Opuntia inermis*, el himenóptero *Schedius kuwanae*, parásito de los huevos del *Liparis* y el *Lidharipis unchi* enemigo del *Clidemia histico*.

Entre el cultivo de insectos para su uso en ensayos farmacológicos podemos citar el *Desmontes ater*, el *Desmontes maculatus*, y la *Silotroga cerellela*. La cría de insectos con destino a estudios genéticos cuenta con una antigua e interesante historia, referida a la *Drosophila melanogaster* (mosca del vinagre). Fueron los Americanos Wooworth y Castle los primeros en descubrir, que este pequeño díptero podría rendir espléndidos frutos en los estudios de la herencia, entrando pronto en la categoría de reactivos biológicos a estos fines. El interés que en aquel entonces se concedió a estos trabajos, aconsejó crear una organización internacional “*Drosophila Information Service*” dedicada, entre otras cosas, a perfeccionar los métodos de cultivo y manejo de

esta mosca, llegando a conseguir técnicas muy sofisticadas, que se encuentran ampliamente divulgadas.

En las publicaciones especializadas se describen 4 tipos de insectarios según el régimen de vida natural de los insectos que se intenta cultivar, referidos a:

1. Especies que viven en las partes aéreas de las plantas
2. Los insectos parásitos de alimentos almacenados.
3. Para medios de cultivo de insectos destinados a luchar biológicas.
4. Destinados a especies que necesitan sangre para su alimentación.

Cada uno de estos tipos de insectarios exige que se les acomode a las características ecológicas de los biotipos naturales, en relación con los siguientes parámetros: Ventilación, humedad del aire, temperatura y alimentación. Cuando se trata de hematófagos, es imprescindible adoptar un sistema que haga posible la llegada del insecto a un animal vivo o a su cadáver fresco. Generalmente se adoptan simples frascos de vidrio, de mayor o menor volumen, tapados con una malla metálica, capaz de evitar su salida. La alimentación se consigue volcando el frasco y poniendo la malla en contacto con el animal que facilita la sangre.

1.7 MEJORA DEL VALOR NUTRITIVO

Los insectos presentan un perfil de aminoácidos esenciales similar a la harina de pescado, y los Dípteros son el grupo más similar a la misma. Sin embargo el contenido de ácidos grasos de los insectos es muy diferente a la harina de pescado. Mientras la harina de pescado es rica en omegas 3 (14% EPA, 16% DHA), los insectos prácticamente carecen de ellos, y presentan una mayor proporción de omega 6 y monoinsaturados.

El estado larvario en moscas es una etapa de su metamorfosis previa al estado de pupa, el cual se caracteriza por la acumulación de cantidades importantes de triacilgliceroles que utiliza como fuente de energía para su transformación en adulto, esto hace que el estudio del valor nutritivo del estado de larva sea el más interesante a la hora de elaborar piensos para la acuicultura.

Los estudios realizados para evaluar la composición y el valor nutritivo de las larvas de mosca son muy escasos. Resultados de los análisis del contenido de proteína y grasa de la larvas de moca indican que son altos, 63 y 17% respectivamente (Villasana, 1981).

La mosca soldado negra *Hermetia illucens* tiene un alto valor nutricional (Sheppard *et al.* 1998). Las prepupas contienen un 42% de proteína y 35% de grasa (Newton *et al.* 1977). Resulta ser un componente muy completo en dietas para apoyar el buen crecimiento de los pollitos (Hale 1973), cerdos (Newton 1977), la trucha arco iris (St-Hilaire *et al.* 2007) o el barbo de canal (Newton *et al.* 2004). Estudios similares muestran que a partir de harina de prepupas de *Hermetia* es posible reemplazar al menos en un 25% la harina de pescado en una dieta sin reducir la tasa de conversión de ganancia o alimento ejemplo de ello es la trucha arco iris (St-Hilaire *et al.* 2007) o el barbo de canal (Newton *et al.* 2004).

Separar grasa y proteína en prepupas permitiría formular dietas más equilibradas y producir una comida con más del 60% de proteína. La eliminación de la quitina mejoraría aún más el contenido de proteínas y la digestibilidad.

Las prepupas de *Hermetia* alimentadas con desechos de pescado mezclado con estiércol de vaca (St-Hilaire *et al.* 2007) mejoran el contenido de ácidos grasos omega 3 desde unos niveles insignificantes hasta alcanzar un 3%. Este hallazgo plantea la posibilidad de mejorar otros factores nutricionales en prepupas de *Hermetia* por medio de la alimentación de sus larvas.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

En la búsqueda de una fuente proteica y lipídica alternativa para la elaboración de piensos, se ha evaluado el potencial de la harina de insectos compuesta a partir de larvas de *Hermetia illucens*, conocida como mosca soldado negro.

Los motivos por los que se eligió la *Hermetia illucens* para llevar a cabo esta experiencia fueron:

- Tiene el potencial de producir un alimento con alto grado de proteínas y grasas a partir de desechos animales.
- La posibilidad de modificar el valor nutritivo y en particular el perfil de ácidos grasos, mediante la alimentación durante la fase larvaria.
- Si este experimento tuviera éxito, podría reducirse la presión pesquera sobre la pesca forrajera en los mares, y favorecería una acuicultura más sostenible.

La Harina de pescado es una fuente proteica, hoy por hoy, imprescindible en acuicultura además de ser un recurso extraíble con problemas medioambientales y económicos. El estudio de fuentes alternativas a la harina de pescado ha abierto una línea prioritaria en la investigación en acuicultura. El objetivo que establece la FAO es pasar del 20 % del total harina de pescado que se usa en piensos para la acuicultura en 2005 a un 3% en 2020. Cada vez se hace más necesario la búsqueda a favor de otras fuentes alternativas a la harina de pescado. En este trabajo se estudia el potencial de la *Hermetia illucens* como fuente sostenible y alternativa a la harina de pescado.

MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 DISEÑO EXPERIMENTAL DEL EXPERIMENTO 1.

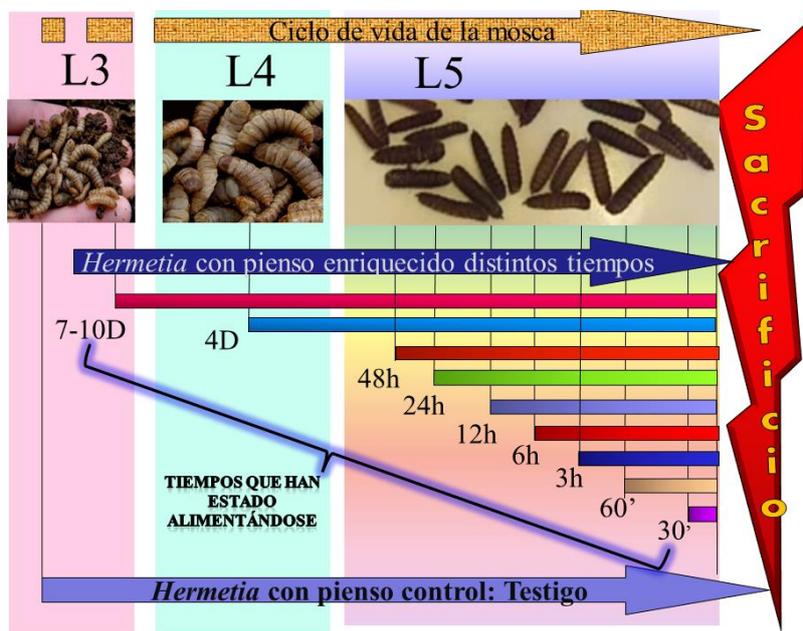
Las larvas de *Hermetia illucens* utilizadas en este experimento, se obtuvieron de una colonia, la cual fue criada con una dieta a base de granos y 70% de humedad (Pienso control. PC en las instalaciones de Entomotech S.L (Almería, España).

La puesta de huevos de *Hermetia illucens* de la misma edad, se depositaron en recipientes de plástico que contenían la dieta control, se mantuvieron hasta que eclosionaron y alcanzaron la fase L3 de desarrollo.

Desde la L3 hasta la L5 las larvas se mantuvieron en cámaras de crecimiento a $23 \pm 1^\circ\text{C}$ y $75 \pm \%$ de humedad relativa. A la hora del sacrificio, las larvas se congelaron y se mantuvieron en el congelador hasta que se realizó el análisis lipídico.

Para estudiar la incorporación de HUFA n-3 en *Hermetia*, se sustituyó un 40% del pienso control por harina de pescado. Las larvas se alimentaron con este pienso en diferentes tiempos (30m, 60m 3h, 6h, 12h, 24h, 48h, 4d y 7d) antes de sacrificarlas en la etapa L5 de desarrollo. Las larvas testigo también fueron sacrificadas a los 7d y alimentadas solo con pienso control.

Figura 3.: Diagrama que explica los pasos del experimento 1. En la parte superior se indica las fases larvarias de la *H. illuscens* (L3, L4, L5, son fases larvarias prepupa). En la parte inferior se indican los tiempos en los que se ha alimentado con pienso enriquecido.



3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL DEL EXPERIMENTO 2.

Para evaluar el efecto del tipo de alimentación larvaria en *Hermetia illucens*, se procedió a su desarrollo sobre una variada muestras de sustratos orgánicos. Dado los hábitos omnívoros de esta especie, se determinó la composición química de su biomasa larvaria tras su alimentación en sustratos de origen tanto vegetal como animal y mezcla de ambos.

En cada ensayo se utilizaron larvas de 5 días de edad, procedentes de una colonia mantenida de forma permanente en las instalaciones de la empresa Bioflytech SL (Alicante). El sustrato y las larvas fueron colocados en envases de plástico (29 cm x 22 cm x 8,2 cm) con tapa hermética y cubierta con malla. En algunos casos, los sustratos a estudiar se mezclaron con una cantidad fija de la dieta control (pienso de gallina) para mejorar la consistencia del medio. Los envases fueron mantenidos en condiciones controladas en laboratorios de la Universidad de Alicante con temperatura entre 23 y 28°C, 50-60% humedad y un fotoperiodo de 14: 10 (L:O). Los ensayos duraron hasta la formación de la prepupa pasando las larvas de color claro a marrón

oscuro. Al final de cada ensayo 5 larvas fueron pesadas vivas con una balanza analítica ACUULAB-VI-1200 (0.1mg). También se pesó el sustrato final y se registró la duración de cada ensayo.

Los ensayos se detallan a continuación según el tipo de sustrato:

3.2.1 Harinas cárnicas

Se realizó una comparación entre 4 tipos de harinas cárnicas de origen comercial: harina de cerdo, harina de pollo, harina de pluma y harina tipo “multiespecie” (harina de origen mixto, incluyendo carne y hueso de ave, caprino, cunícola, ovino, porcino, vacuno). En cada tratamiento se utilizaron 300 gr de harina, 100 gr de pienso de gallina, 300 ml de agua, y 300 larvas de *Hermetia*. Para cada sustrato se realizaron 3 réplicas, un control basado en pienso de gallina y otro basado en harina cárnica multiespecies sin mezcla de pienso.

3.2.2 Pienso de gallina.

En este experimento se utilizó la dieta control, pienso de gallina, para analizar la acumulación de nutrientes en diferentes etapas del desarrollo de las larvas de *H. illucens*, así como en los restos del sustrato remanente no transformado en biomasa larvaria. Se realizaron 3 réplicas y en cada una se utilizaron 500 gr de pienso + 500ml de agua, para lograr una consistencia adecuada. Se analizaron 1) las larvas, 2) las pupas, 3) una mezcla de larva y pupas, 4) una mezcla de larvas, pupas y restos de sustrato, y 5) restos de sustrato.

3.2.3 Alperujo.

Para evaluar la eficiencia en la degradación del alperujo se realizaron dos ensayos. El alperujo fue suministrado por la empresa Troil Vegas Altas SC como subproducto del proceso de extracción de aceite de oliva, presentando una consistencia homogénea y pastosa. En un ensayo se utilizaron 1.000 gr de alperujo puro (sin mezclar

con ningún sustrato) y en otro se utilizó una mezcla de 700 gr de alperujo y 300 gr de pienso. En cada uno se emplearon 2.000 larvas

3.2.4 Cáscaras de limón y naranja.

Se realizaron dos ensayos para observar la capacidad de *H. illucens* para degradar restos de naranja y limón derivados del procesado de cítricos para la obtención industrial de zumos. Los sustratos estaban troceados y fueron conservados congelados hasta su utilización en el experimento. Se utilizaron 1.500 gr de limón con 1.500 larvas y 2.000 gr de naranja con 2.000 larvas en función de la disponibilidad de muestras. En cada tratamiento se realizaron 3 réplicas.

3.2.5 Piel de tomate.

Se realizó un ensayo para observar el efecto en el desarrollo de las larvas de *H. illucens* en restos de tomate. El sustrato estaba deshidratado como subproducto del proceso de elaboración de conservas. Se realizaron 3 réplicas, utilizando 250 gr de tomate y 250 gr de pienso de gallina con 500 larvas.

3.3 MÉTODOS ANALÍTICOS.

Valoración de la composición nutritiva de fuentes alimenticias, piensos experimentales.

Para determinar la composición de los macronutrientes que contienen los diferentes piensos experimentales se siguió el sistema desarrollado en la estación experimental de WEENDE, (AOC, 1995).

Preparación de la muestra

Para analizar las diferentes muestras se congelaron, liofilizaron y después, para obtener una muestra bien homogeneizada, se molieron con una malla de 1 mm.

Humedad

Para su determinación se pesaron las capsulas vacías completamente, enumeradas y taradas, después se añadieron 0,5 gramos de muestra triturada de forma homogénea y se volvieron a pesar. Fueron llevadas a estufa a una temperatura de $105 \pm 0,5$ °C (aproximadamente, 24 horas). Con la muestra completamente fría se volvió a pesar, para evitar que al estar caliente capte humedad del ambiente, se mantuvieron en un desecador el tiempo necesario.

Cálculos:

$$\% \text{Humedad} = \frac{\text{Peso de la capsula + Muestra} - \text{Peso capsula + Muestra seca}}{\text{Peso Muestra}} \times 100$$

Cenizas

Se obtuvieron incinerando las muestras resultantes utilizadas en humedad, en una Mufla a 500°C (aproximadamente, 24 horas), volviéndose a pesar las muestras tras la Mufla.

Proteína Bruta

Se determinaron por el método Kjel Dahl. La digestión de la muestra se hizo en ácido sulfúrico utilizando un mineralizador-digestor Büchi.

Se pesaron las muestras (0,3-0,5 g) introduciéndolas en bolsitas de plástico previamente numeradas y taradas. En cada matraz de digestión se añadió:

- 25 ml de ácido sulfúrico concentrado.
- 2 bolitas de vidrio (impiden que se forme espuma).

- Una cucharada de catalizador (mezcla de sulfato potásico, sulfato cúprico pentahidratado y selenio metálico).

A continuación se puso la placa calefactora a la máxima temperatura , se cerraron todos los tubos con las pinzas y se puso en marcha el digestor. A dichos tubos se le baja la temperatura hasta 200°C una vez empiece a salir humo, cuando disminuye la cantidad de humo se vuelve a elevar la temperatura al máximo hasta que tras varias horas el contenido de los tubos adquiere un color verde manzana transparente.

La destilación se llevó a cabo en un destilador BÜCHI, recogándose el nitrógeno en un matraz, hasta un volumen total de 150 ml habiéndose incorporado previamente 30 ml solución trampa de ácido bórico (además de etanol rojo de metilo, verde de bromocresol y agua) cuya misión es evitar que se evapore el amoniaco que contiene un indicador que vira al pasar de medio ácido (rojo) a medio básico (verde).

El destilado obtenido se debe valorar inmediatamente con HCl 0,5 N hasta que vire de color verde al rojo original de la solución trampa. Anotándose el volumen de ácido gastado.

Cálculos:

$$\% \text{ P. B. (SF)} = \frac{\text{ml de CIH} \times 0,5 \times 14 \times 100 \times 6,25}{\text{Peso muestra} \times 1000}$$

$$\% \text{ P. B. (SS)} = \frac{\% \text{ P.B. (SF)} \times 100}{100 - \% \text{ Humedad}}$$

Extracto etéreo

Se determinó mediante una extracción continua con éter etílico siguiendo el método Soxhlet, con un aparato Büchi.

La muestra a analizar se coloca en la cámara de extracción que se llenara repetidas veces con el disolvente. Este se evapora desde un vaso de muestra y se condensa en la cámara hasta llenarla, conteniendo parte de la grasa de la muestra. El tiempo completo de extracción es de una a dos horas.

Técnica:

- Se pesa el cartucho vacío, después se le añade la muestra (1 gr aproximadamente) directamente en el cartucho y anotar el peso. Tapar la muestra en el cartucho con algodón.
- Pesar los vasos y anotar pesos.
- Colocar los vasos en la unidad de extracción, bajar los condensadores, cerrar sobre los vasos e iniciar la extracción.

Se enciende el baño de agua que calienta la placa calefactora y se programa a 80°C de temperatura. La extracción se mantiene al menos una hora y media.

Los matraces en los que se ha quedado la grasa extraída se dejan a temperatura ambiente con el fin de que se evapore el éter , seguidamente se meten en la estufa y posteriormente se sacan para que se enfríen y cuando estén a temperatura ambiente se pesan y anota.

Cálculos:

$$\% \text{ Grasa Bruta (SF)} = \frac{\text{Peso matraz + grasa} - \text{Peso matraz}}{\text{Peso muestra}} \times 100$$

$$\% \text{ Grasa Bruta (SS)} = \frac{\% \text{ Grasa bruta (SF)} \times 100}{100 - \% \text{ Humedad}}$$

3.4 DETERMINACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS

Se han aplicado las técnicas de Folch et al. (1957), para la extracción y de Rodríguez-Ruiz et al. (1998), para la metilación. Para estudiar el patrón de ácidos grasos se ha trabajado con un cromatógrafo de gases Hewlett Packard, modelo 5890.

El objetivo de toda cromatografía es separar compuestos de una mezcla para identificarlos después. El proceso se basa en las diferencias de las velocidades con que

los compuestos individuales de una mezcla emigran a través de un medio estacionario en una columna por influencia de una fase móvil. Cuando la mezcla a separar es un gas hablamos de cromatografía de gases, en la que las fases son un gas inerte y un sólido (cromatografía gas-sólida) o un líquido no volátil (cromatografía gas-líquido).

En el laboratorio hemos estudiado la segunda de las técnicas, en la que la muestra se ha hecho pasar a través de una columna capilar de 0,25mm de grosor de fase estacionaria por medio de una corriente de gas inerte. En las paredes de la columna tenemos depositado una capa muy fina (de 2 o 3 moléculas) de líquido. Se introduce la muestra en forma de vapor en la cabeza de la columna; estos componentes, que tienen determinada solubilidad en la fase líquida estacionaria, se distribuyen entre esta fase y el gas según las leyes de equilibrio y por ello emergen a diferentes tiempos después de la introducción de la muestra. Los componentes de la muestra son desplazados del absorbente por un vapor desplazante, N_2 , el cual es arrastrado de manera continua a través de la columna a concentración constante en la corriente del gas. La velocidad a que los diferentes componentes migran depende de su tendencia a disolverse en la fase líquida estacionaria. El detector utilizado es el de ionización de llama (FID). Cuando el gas llega al detector se quema formándose iones, electrones, radicales orgánicos que hacen aumentar la conductividad del gas. Este aumento brusco de conductividad es lo que se detecta. Finalmente una impresora traduce estas señales eléctricas para poder visualizarlas.

La identificación cualitativa de un componente se basa en el tiempo de retención o tiempo necesario para que su pico aparezca al final de la columna, ya que cada componente tiene un tiempo de retención propio.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

En este trabajo se han realizado dos experimentos. Ambos con el objeto de ver cómo afecta el alimento a la composición corporal de la larva y por consiguiente al valor nutritivo de la harina de insectos:

- 1) Insectos que han sido alimentados con un pienso a base de pollo (control) y alimentados con un pienso experimental, donde se ha sustituido el 40% por harina de pescado, durante determinados tiempos antes del sacrificio.
- 2) Insectos que han sido alimentados con diversos sustratos, tanto vegetales como animales.

4.1 VALOR NUTRITIVO DE LA LARVA Y PUPA DE *HERMETIA ILLUCENS*.

Cualquier variación al modificar las condiciones de cría de la *Hermetia illucens* necesita tener un valor de referencia. Por eso, en este apartado se analiza la composición bromatológica de las larvas y pupas de *Hermetia illucens* criadas con el pienso estándar de la empresa BIOFLYTECH que consideramos control, además se han analizado los restos de *Hermetia illucens*. y de la comida que constituyen el medio donde se desarrolla la larva, con el objeto de determinar la necesidad de separar las larvas del medio para hacer la harina.

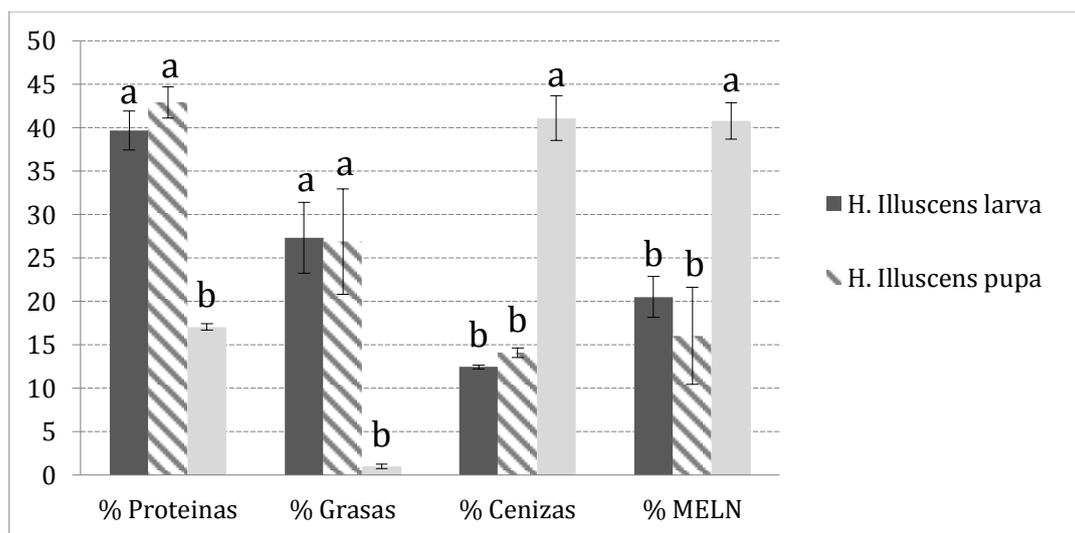
En la figura 4 se muestra como en el contenido proteico de la larva (39,68%) y la pupa (42,94%) que no tienen diferencias significativas ($p > 0.05$), pero sí, si los comparamos con el porcentaje de proteínas en el sustrato *H.Illucens*-restos (17,07%), cuyo valor no alcanza ni la mitad del porcentaje obtenido en el insecto.

Tampoco existen diferencias en la proporción de grasa entre la larva (27,32%) y la pupa (26,89%). En comparación con estos, se puede observar que el sustrato *H.Illucens*-restos tiene un contenido casi insignificante (1,02%).

Por el contrario, el contenido en material inorgánico es muy elevado en el sustrato *H. Illuscens*-restos (41,12%), y significativamente menor en la larva (12,46%) y pupa (14,13%).

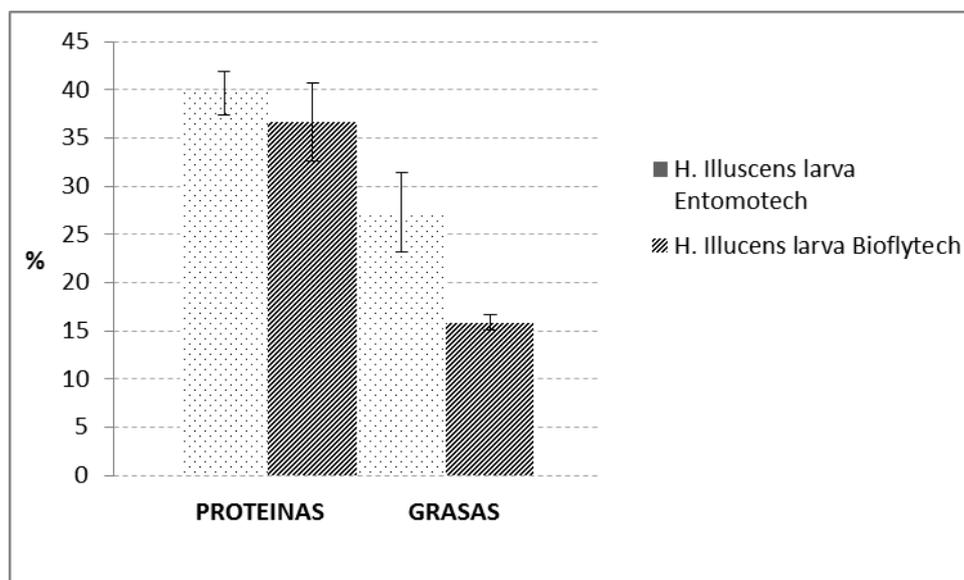
Algo similar se observa en el MELN, ya que existe una diferencia significativa en este parámetro obtenido en el sustrato *H. Illuscens* restos (40,79%) con respecto a la larva (20,54%) y la pupa (16,04%).

Fig.4.: Porcentaje de proteína, grasa, ceniza y MELN (en % MS) de las larvas y pupa de *Hermetia illucens* alimentadas con pienso control, y restos de *H. illucens*-pienso. Las columnas con diferente letra denotan diferencias significativas ($P < 0,0001$, $n=3$).



En la figura 5 se comparan las larvas procedentes de las diferentes empresas (Exp.1 Entomotech, Exp.2 Byoflytech). Como se observa no hay diferencias significativas entre el nivel de proteína sin embargo sí sobre el nivel de grasa siendo sensiblemente menor en las larvas procedentes de la empresa Bioflytech.

Fig.5.: En la siguiente figura se muestran los valores promedio y la desviación estandar de la composición de proteína y grasas de la larva *H. illuscens* de dos empresas distintas (Byoflytech y Entomotech). Las columnas con diferente letra denotan diferencias significativas ($P < 0,0001$, $n=3$).



4.1 ANALISIS BROMATOLÓGICO DE *HERMETIA ILLUCENS* ALIMENTADA CON PIENSO ENRIQUECIDO DE HARINA DE PESCADO DURANTE DIFERENTES TIEMPOS ANTES DE SACRIFICIO. EXPERIMENTO 1.

En el análisis químico de *Hermetia illuscens* nos hemos centrado en la composición proximal, como referente básico de sus propiedades nutritivas como son la proteína, grasas, cenizas, materia orgánica y ácidos grasos.

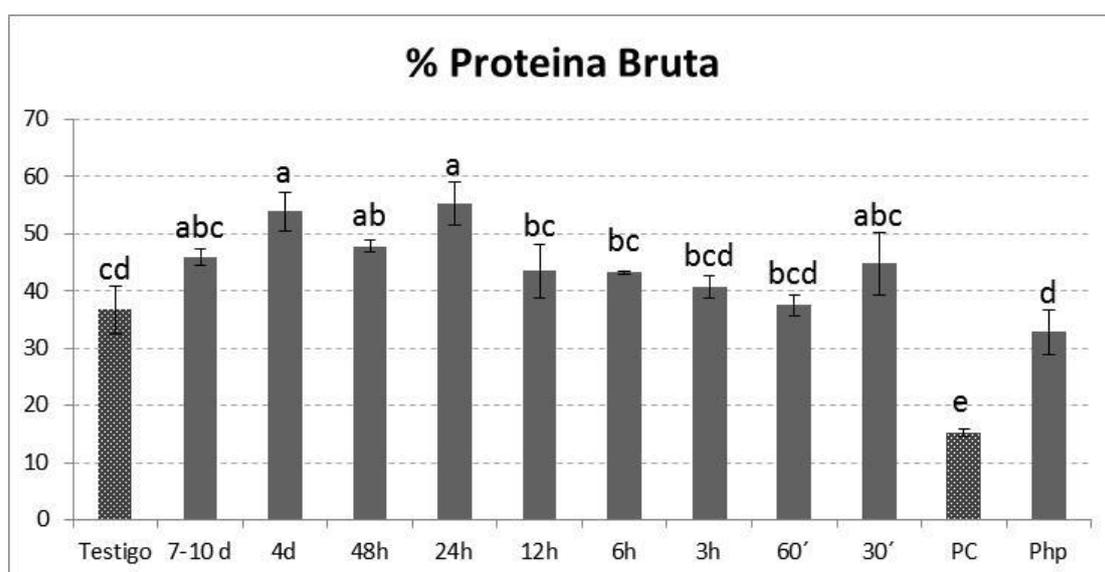
Las larvas control han sido alimentadas únicamente con un pienso control a base de pollo. El resto de larvas han sido criadas con un pienso experimental, formulado con este mismo pienso donde se ha sustituido el 40% por harina de pescado en distintos momentos del ciclo de vida hasta su sacrificio. (ver Fig. 3). Todas las larvas se sacrificaron en estadio de desarrollo (L5).

4.1.1 Proteína Bruta.

En la figura 6 se representan los porcentajes de proteína (en materia seca) obtenidos del análisis de las larvas del insecto *Hermetia illucens*.

El porcentaje de proteínas bruta en las larvas al inicio del experimento es superior ($36,70 \pm 4,16$) a la cantidad de proteínas de los piensos tanto del control como del enriquecido con harina de pescado, ($15,21 \pm 0,62$ y $32,82 \pm 3,95$ respectivamente). No se observan diferencias significativas en la cantidad de proteína corporal entre las larvas que comieron la dieta control (PC) o la enriquecida con harina de pescado (Php) excepto en las que se alimentaron con el pienso experimental a los 4 días y 24 horas antes de sacrificio en las que se observan unos valores mayores de proteínas respecto al resto de los puntos muestreados.

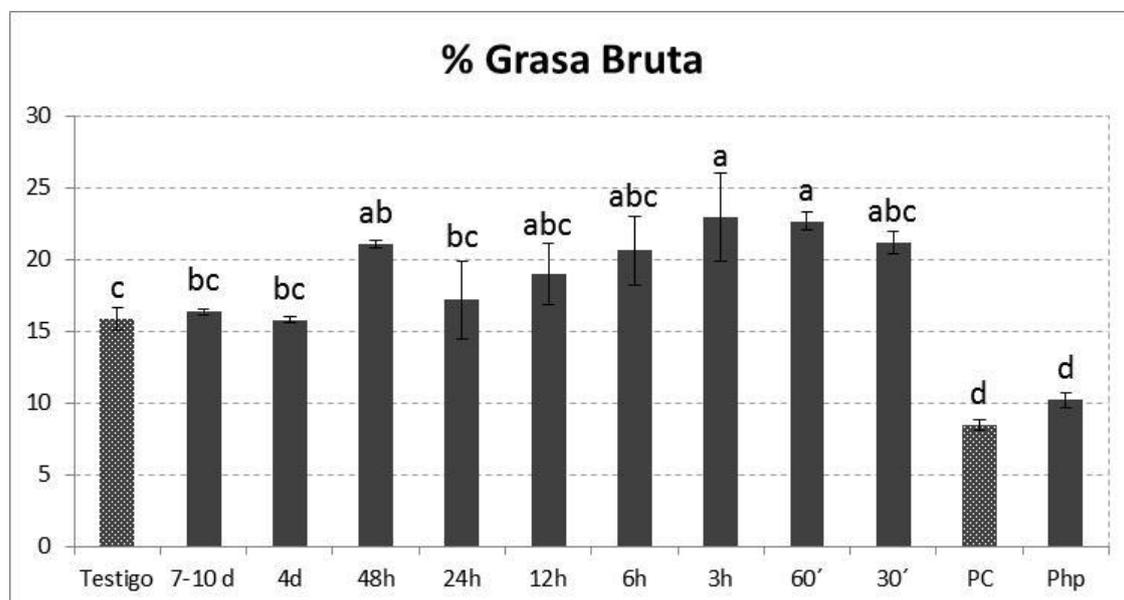
Fig.6.: En el eje Y se representa el porcentaje de proteína bruta (en % Materia Seca) de *Hermetia illucens*. En el eje X los tiempos del experimento. Testigo: *H. illucens* alimentada con pienso control; PC: pienso control; Php: pienso enriquecido con harina de pescado. Las columnas con diferente letra denotan diferencias significativas ($P < 0,0001, n=3$).



4.1.2 Grasas

Podemos observar que el porcentaje de grasa bruta (Fig.7) del insecto *Hermetia illucens*, independientemente de la dieta, es mayor que el porcentaje de grasa bruta del pienso control y del pienso enriquecido con harina de pescado (aproximadamente entre 15-23 % vs 8- 10 de los piensos usados). En el experimento se observa que el porcentaje de grasa bruta en el insecto aumenta de las 48 horas a los 30 min de ser alimentadas con el pienso experimental. Sin embargo las larvas que fueron alimentadas durante todo el periodo experimental con el pienso con harina de pescado muestran un nivel de grasa similar a los controles.

Fig.7: En el eje Y se representa el porcentaje de grasa bruta (en % MS) de *Hermetia illucens*. En el eje X los tiempos del experimento. Testigo: *H. illucens* alimentada con pienso control; PC: pienso control; Php: pienso enriquecido con harina de pescado. Las columnas con diferente letra denotan diferencias significativas ($P < 0,0001, n=3$).



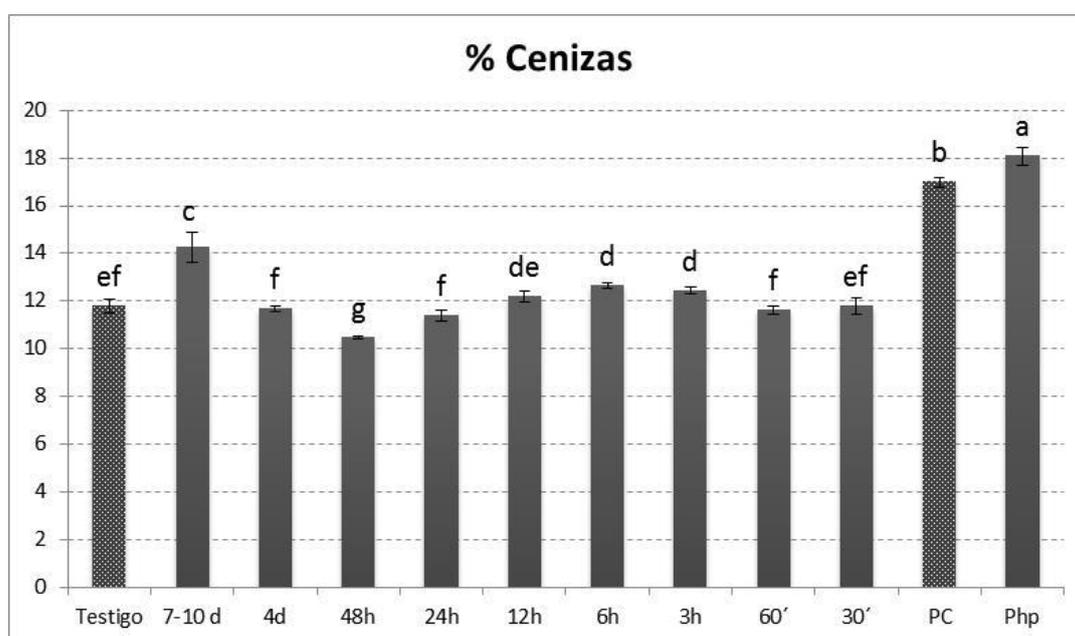
4.1.3 Cenizas

El porcentaje de cenizas (Fig.8) es mayor en el pienso control (16,99±0,20) y pienso enriquecido (18,07±0,37) que en el insecto control (11,82±0,28). En cuanto a las larvas alimentadas del insecto, se observa que el mayor porcentaje de cenizas se produce a los 7-10 días (14,27±0,65) y el menor valor a las 48 horas (10,48±0,069). Asimismo se observa que el porcentaje de cenizas en la larva alimentada con el pienso experimental es mayor que en las larvas alimentadas con el pienso control.

El resto de las muestras mantienen unos valores similares comprendidos entre el 11% y el 12%.

El porcentaje de cenizas, al contrario que el de proteína y grasas brutas, es mayor en ambos piensos que el porcentaje de cenizas de *H. illucens* independientemente de cómo han sido alimentadas.

Fig.8.: En el eje Y se representa el porcentaje de ceniza (en % MS) de *Hermetia illucens*. En el eje X los tiempos del experimento. Testigo: *H. illucens* alimentada con pienso control; PC: pienso control; Php: pienso enriquecido con harina de pescado. Las columnas con diferente letra denotan diferencias significativas ($P < 0,0001, n=3$).



4.1.4 Ácidos grasos

El resultados del perfil de ácidos grasos (tabla 2) muestra que el pienso con un 40% de harina de pescado tiene mayor proporción de ácidos grasos de la serie n-3 mientras que el pienso control es más rico en ácidos grasos de la serie n-6. Esto hace que la relación n3/n6 varíe considerablemente entre los dos piensos.

Tabla 2.- Composición en % de ácidos grasos en las dietas consumidas por el insecto *Hermetia illuscens* durante todo el experimento. PC: pienso control a base de pollo; Php: pienso control enriquecido al 40% con harina de pescado.

Ácidos grasos	DIETA	
	PC	Php (40%)
12:0		0,6
14:0		2,3
16:0	12,5	16,0
16:1 n7		2,7
18:0		4,1
18:1 n9	38,1	38,8
18:2 n6	39,3	18,1
18:3 n3	2,2	1,3
18:4 n3		1,0
20:1 n9	0,5	0,6
20:4 n6	0,6	1,1
20:4 n3		0,3
20:5 n3	0,4	3,3
22:1 n11	0,6	0,5
22:4 n6		0,4
22:5 n6	2,3	0,4
22:5 n3	1,8	1,0
22:6 n3	1,2	6,9
Otros	0,5	0,6
Aceites (mg)	8,3	10,5
AG (Total)	100	100
Aceites (%)	8,3	10,5
sat *	12,5	23,0
mono **	39,2	42,6
poli ***	47,8	33,8
n-3	5,6	13,8
n-6	42,2	20,0
n-3/n-6	0,13	0,69

* Suma de ácidos grasos saturados

** Suma de ácidos grasos monosaturados

*** Suma de ácidos grasos poliinsaturados

En la tabla 3 se recogen los valores de ácidos grasos de la larva (control) alimentada con pienso control y el resto de larvas (30',60',3h...) alimentadas con pienso experimental a diferentes tiempos antes del sacrificio. Se observa que hay algunos ácidos grasos como 16:1:n7, 20:1n9, 20:4n3, 20:5n3, y 22:5n3 que no aparecen en los alimentados con la dieta control y si en los alimentados con el pienso experimental. Otros como 18:1n9, 18:3n3, 18:4n3, 20:5n3 y 22:6 n3 tienen la capacidad de acumularse con el tiempo de administración de la dieta experimental, mientras que otros aunque aumenta su nivel con respecto a los animales alimentados con la dieta control no incrementan sus valores con el tiempo de administración de la dieta.

La administración de la dieta experimental (40% harina de pescado) modifica el perfil lipídico aumentando la cantidad de ácidos grasos monosaturados y disminuyendo la de saturados y aumentando la relación n-3/n-6 por un aumento en la cantidad de n-3.

Tabla 3. Composición en % de ácidos grasos del insecto *Hermetia illucens* que han consumido la dieta experimental a diferentes tiempos. Los ácidos grasos están expresados en % respecto al total de Ácidos Grasos (AG).

Ácidos grasos	Control	30'	60'	3h	6h	12h	24h	48h	4d	7-10 d
12:0	43,3	30,9	32,8	38,2	28,3	30,2	33,6	33,8	22,6	24,6
14:0	8,8	8,6	7,9	8,1	7,1	7,1	8,4	6,8	5,5	5,9
16:0	10,8	13,5	13,4	10,9	11,7	7,9	14,5	14,4	9,7	14,5
16:1n7		5,2	5,0		2,8	7,0	5,0	5,5		4,9
18:0	2,4	1,5	1,8	2,8	5,9	3,8	1,9		3,2	
18:1n9	15,5	18,9	18,2	17,3	19,6	20,4	18,0	20,6	29,0	25,7
18:2n6	15,5	15,4	14,1	13,9	14,9	16,3	13,2	11,9	20,8	14,8
18:3n3	0,8	0,8	0,9	1,2	1,1	1,2	0,8	0,8	1,4	1,5
18:4n3	0,9	0,8	0,8	0,9	1,0	1,1	1,4	2,0	1,4	1,3
20:1n9		0,2	0,8	0,8	0,9	0,4	0,3	0,8		0,8
20:4n6	0,1	0,4	0,7	0,4	0,7	0,5	0,2	0,3	0,6	0,4
20:4n3		0,1			0,2				0,6	
20:5n3		0,4	0,4	0,7	1,0	0,8	1,0	1,7	2,1	2,8
22:1n11	0,1	0,2	0,3		0,5	0,3				0,1
22:4n6	0,5	0,4	0,5		0,6	0,7	0,4	0,2		0,5
22:5n6	0,1		0,7	1,2	1,4	0,8	0,2	0,4	0,5	
22:5n3		0,8	0,1	0,9	0,2	0,1				0,1
22:6n3	0,5	1,3	1,4	2,2	1,8	1,3	0,7	0,8	1,8	1,2
Otros	0,7	0,6	0,2	0,5	0,3	0,1	0,4	0,0	0,8	0,9
Aceites (mg)	27,7	30,3	36,6	34,5	29,7	27,4	33,6	31,6	26,3	24,6
AG (Total)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Aceites (%)	46,0	52,2	65,5	51,1	48,5	46,9	54,3	47,2	43,3	37,5
sat *	65,3	54,5	55,9	60,0	53,0	49,0	58,4	55,0	41,0	45,0
mono **	15,6	24,5	24,3	18,1	23,8	28,1	23,3	26,9	29,0	31,5
poli ***	18,4	20,4	19,6	21,4	22,9	22,8	17,9	18,1	29,2	22,6
n-3	2,2	4,2	3,6	5,9	5,3	4,5	3,9	5,3	7,3	6,9
n-6	16,2	16,2	16,0	15,5	17,6	18,3	14,0	12,8	21,9	15,7
n-3/n-6	0,14	0,26	0,23	0,38	0,30	0,25	0,28	0,41	0,33	0,44

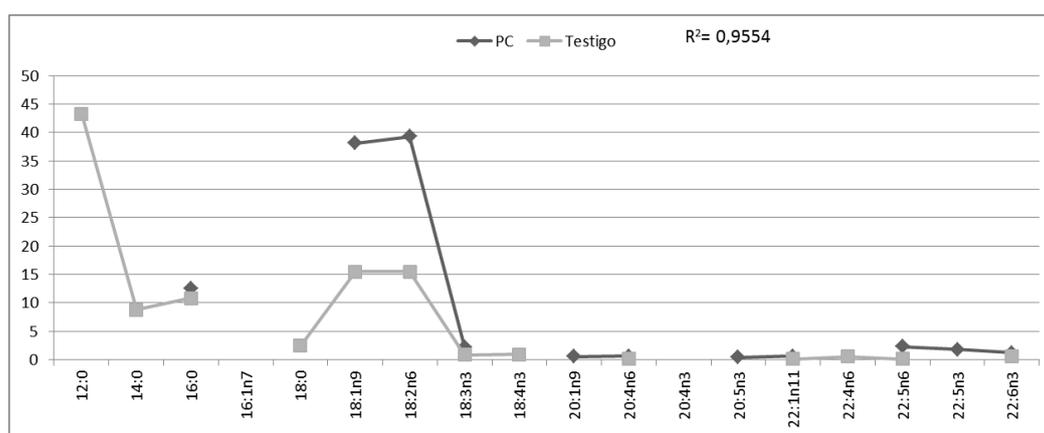
* Suma de ácidos grasos saturados

** Suma de ácidos grasos monosaturados

*** Suma de ácidos grasos poliinsaturados

En la Figura 8 se observa que los ácidos grasos del pienso control están fuertemente correlacionados positivamente ($R^2=0.9554$) con los valores de ácidos grasos de las larvas de *Hermetia illuscens* que han sido alimentadas con el pienso control, de forma que aquellos ácidos grasos que muestran valores elevados en el pienso control, también lo muestran en las larvas que han comido ese pienso, y de igual forma, los ácidos grasos que están en un bajo % o incluso que no están presentes en el pienso control, tampoco lo están en las larvas control. Asimismo también se observa que los valores de los ácidos grasos son más elevados en el pienso que en la larva que lo ha ingerido.

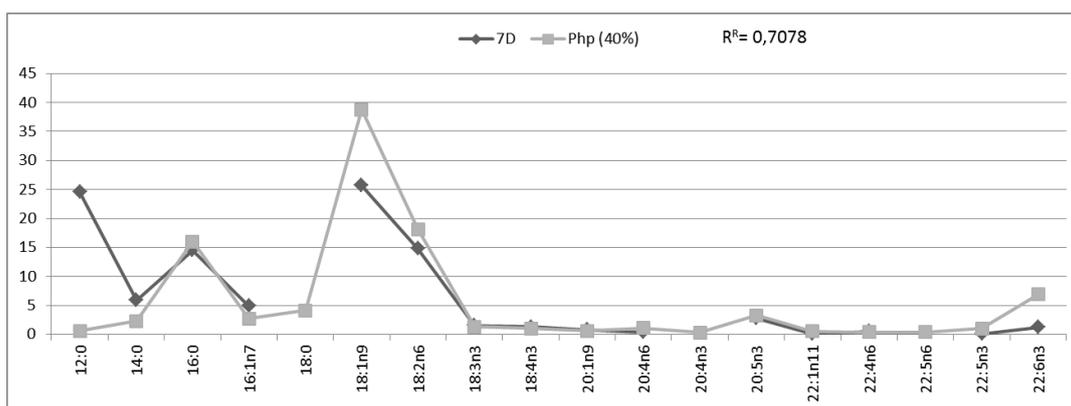
Fig.8: Representación del porcentaje de ácidos grasos en el pienso control (PC) y en el insecto *H. illuscens* control alimentados con pienso control.



En la figura 9 se observa una tendencia similar a la anterior figura pero con una relación menos fuerte, así, los ácidos grasos del pienso enriquecido con harina de pescado (Php) están correlacionados positivamente ($R^2=0.7078$) con los valores de ácidos grasos de las larvas de *Hermetia illuscens* que han sido alimentadas con el pienso experimental durante mas tiempo (7-10 días), de forma que aquellos ácidos grasos que muestran valores elevados en el pienso enriquecido con harina de pescado, también lo muestran en las larvas que han comido ese pienso, y de igual forma, los ácidos grasos que están en un bajo % o incluso que no están presentes en el pienso, tampoco lo están en las larvas del experimento que lo han comido en los distintos tiempos. Asimismo

también se observa que los valores de los ácidos grasos son más elevados en el pienso que en la larva que lo ha ingerido.

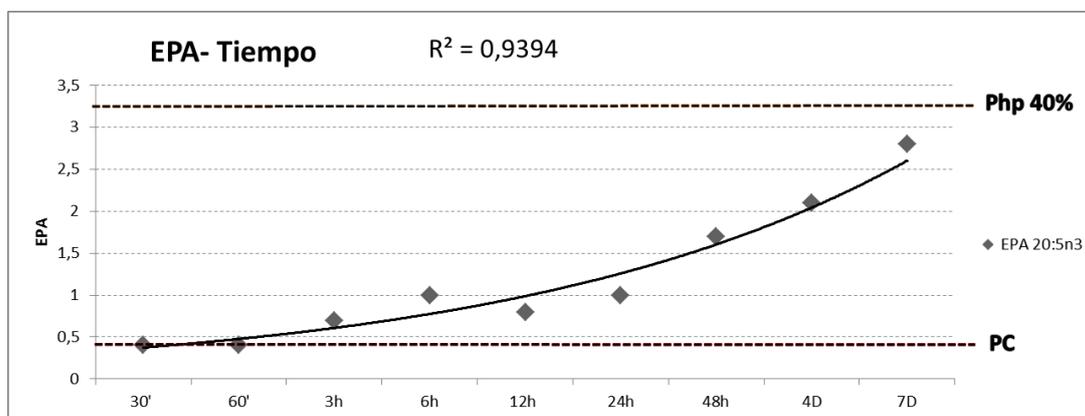
Fig.9.: Representación del porcentaje de ácidos grasos en el pienso enriquecido (Php) y en el insecto *H. illuscens* alimentados durante 7-10d (7D).



4.1.5 Ácido Eicosapentanoico (EPA, 22:5n3).

En la siguiente figura (Fig.10) podemos observar que el ácido graso EPA se acumula progresivamente con el tiempo en el que se ha alimentado *Hermetia illuscens* con pienso enriquecido con harina de pescado (Php) ($R^2 = 0,8625$). Los valores más altos los encontramos a los 7-10d (2,8%) frente al valor más bajo que ocurre a los 30' (0,4%).

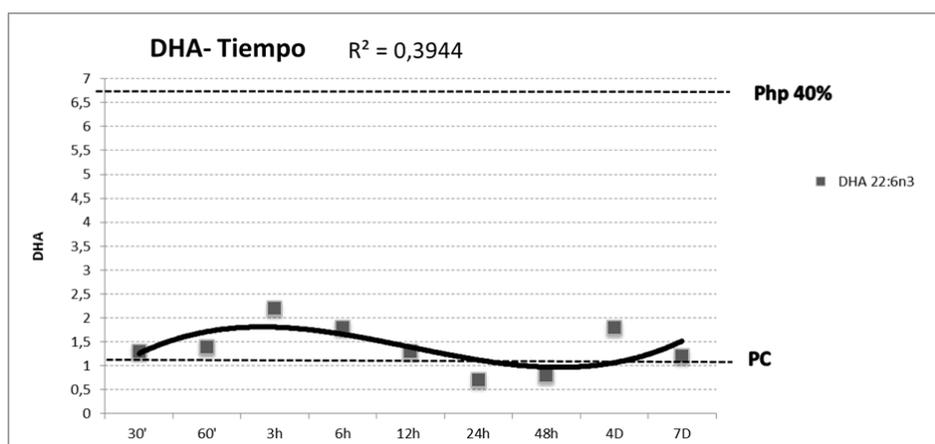
Fig.10: Representación del ácido graso EPA a lo largo de los distintos tiempos del experimento; PC: pienso control; Php: pienso enriquecido con harina de pescado.



4.1.6 Ácido docosahexaenoico (DHA; 22:6n3).

En la siguiente figura (Fig. 11) no se observa ninguna correlación en el DHA del tiempo de alimentación de la larva respecto con pienso experimental ($R^2=0,5591$). El pienso enriquecido con harina de pescado muestra un valor alto de DHA (6,9%) en cambio los valores del insecto *Hermetia illucens* alimentados con pienso control y pienso enriquecido (Php) contienen valores similares al pienso control apenas, presentan un ligero incremento entre las 3-6 h.

Fig.11. Representación del ácido graso DHA a lo largo de los distintos tiempos del experimento; PC: pienso control; Php: pienso enriquecido con harina de pescado.



4.2 ANALISIS BROMATOLOGICO DE *HERMETIA ILLUCENS* ALIMENTADA CON DIFERENTES SUSTRATOS. EXPERIMENTO 2.

A continuación se resumen los cambios producidos en la composición química de las larvas de *Hermetia* tras ser alimentados con diferentes sustratos alimenticios.

4.2.1 Sustratos de origen animal

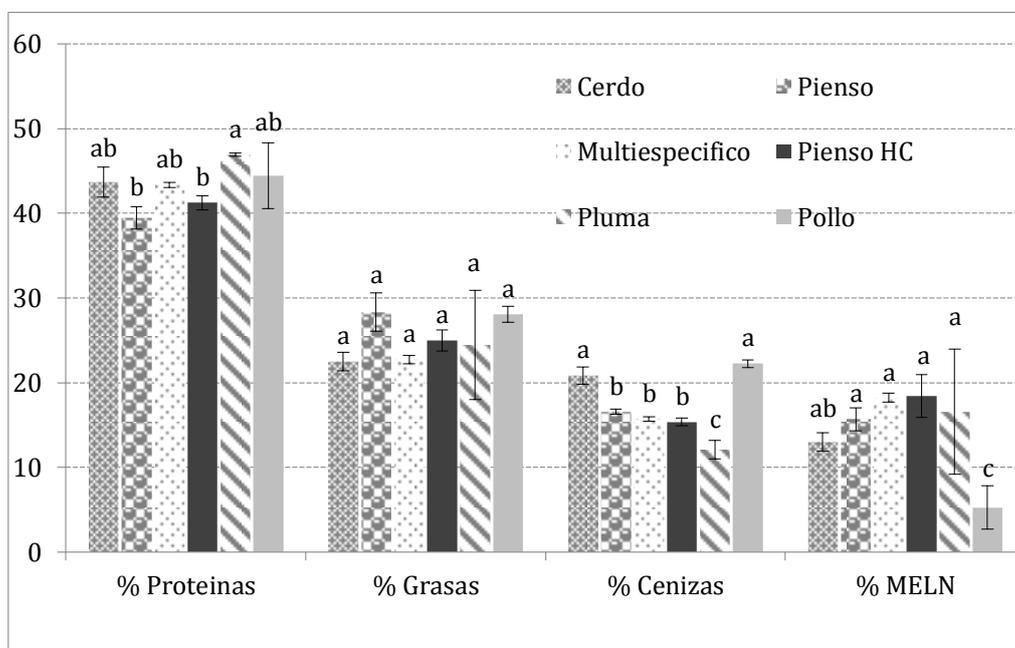
En la figura 12, podemos observar que, a diferencia de las moscas en sustratos vegetales, de los cuatro componentes analizados son las proteínas las de mayor porcentaje obtenido en todos los insectos, independientemente del sustrato analizado en este bloque.

En concreto, en proteínas, el mayor porcentaje corresponde a los animales alimentados con la harina de pluma (46,91%), los que estaban en el pienso de cerdo, multiespecífico y pollo se encuentran en un rango entre el 43,7% y el 44,5%, siendo las larvas del pienso (39,45%) y pienso HC (41,24%) las que tienen significativamente unos menores porcentajes de proteína.

Por el contrario, no se han observado diferencias significativas en el contenido en grasas de las moscas que ha ingerido los diferentes sustratos de origen animal, estando situados todas entre el 22,49% y el 28%.

Con relación al contenido en MELN en los insectos, se observa una diferencia significativa del porcentaje obtenido en los criados en el sustrato pollo ($5,23 \pm 2,552$), con respecto al resto de los analizados los cuales poseen un porcentaje en el que en ningún caso es menor del 12%, y el máximo está en 18 %.

Fig.12.: Porcentaje de proteína, grasa, ceniza y MELN (en % MS) de las larvas de *Hermetia i.* alimentadas con distintos sustratos de origen animal. Las columnas con diferente letra denotan diferencias significativas ($P < 0,0001$, $n=3$).



4.2.2 Sustratos vegetales no grasos

Tal y como se puede observar en la Figura 12, el mayor porcentaje de proteínas corresponde a las larvas alimentadas con naranja (39,12%), seguidas por el sustrato limón-pienso-alperujo (37,18%). Son los animales alimentados con limón II (19,74%) y Tomate (18,13%) los que contienen una menor proporción de proteína.

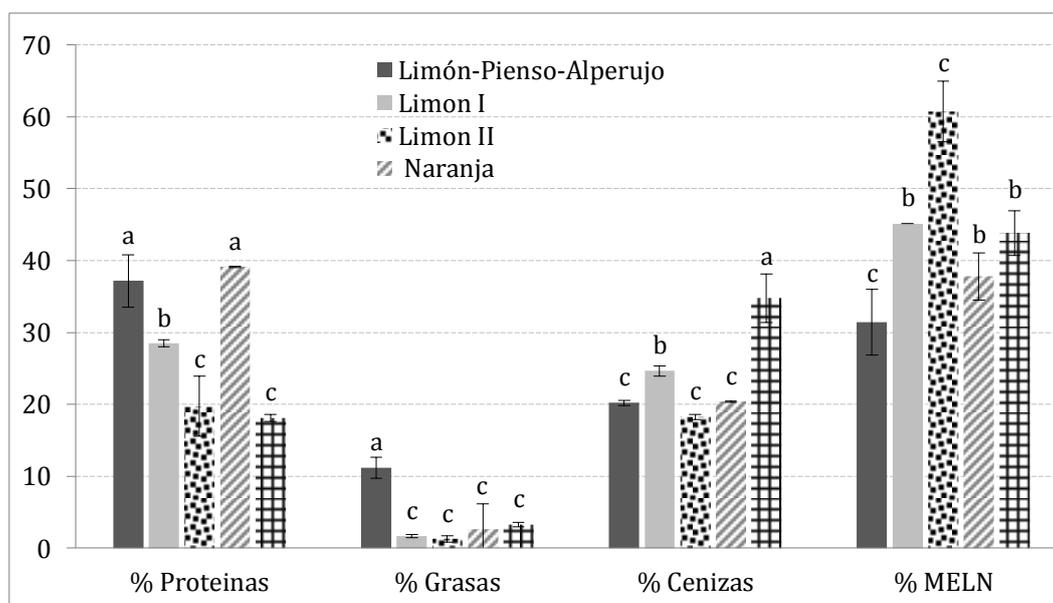
Destaca el bajo contenido en grasa de las larvas que consumen estos sustratos vegetales. Se observa que las larvas que ingieren limón-pienso-alperujo, aunque con sólo un 11,21%, son significativamente las que tienen un porcentaje superior al resto de sustratos analizados. El contenido de restos de larvas de este grupo se encuentra en un rango entre el 1,7% y el 2,7 %.

En las cenizas, al contrario que sucedía en las proteínas, se observa que el mayor porcentaje corresponde a las larvas que comieron tomate (34,76%), cuya diferencia es

significativa al resto de larvas. A continuación estarían las moscas alimentadas con limón I (24,64%). Encontrándose en resto en el rango entre el 18% y el 20,39%.

Se observa que el mayor porcentaje en MELN (material extractivo libre de nitrógeno) corresponde a los dípteros con limón II (60,70%), este valor es significativamente mayor al resto de larvas alimentadas con otros sustratos, ya que estos se encuentran entre el 31% y 43%, siendo los animales con el limón-pienso-alperujo (31,41%) los que muestran un menor valor entre ellos.

Fig.12.: Porcentaje de proteína, grasa, ceniza y MELN (en % MS) de las larvas de *Hermetia i.* alimentadas con distintos sustratos vegetales no grasos. Las columnas con diferente letra denotan diferencias significativas ($P < 0,0001, n=3$).



4.2.3 Sustratos vegetales grasos.

Los resultados obtenidos en el porcentaje tanto de proteínas, grasas, cenizas y MELN de las larvas de *Hermetia illucens* alimentadas con los sustratos vegetales grasos (alperujo, gradiente de alperujo y pienso-alperujo) se muestran en la figura 13.

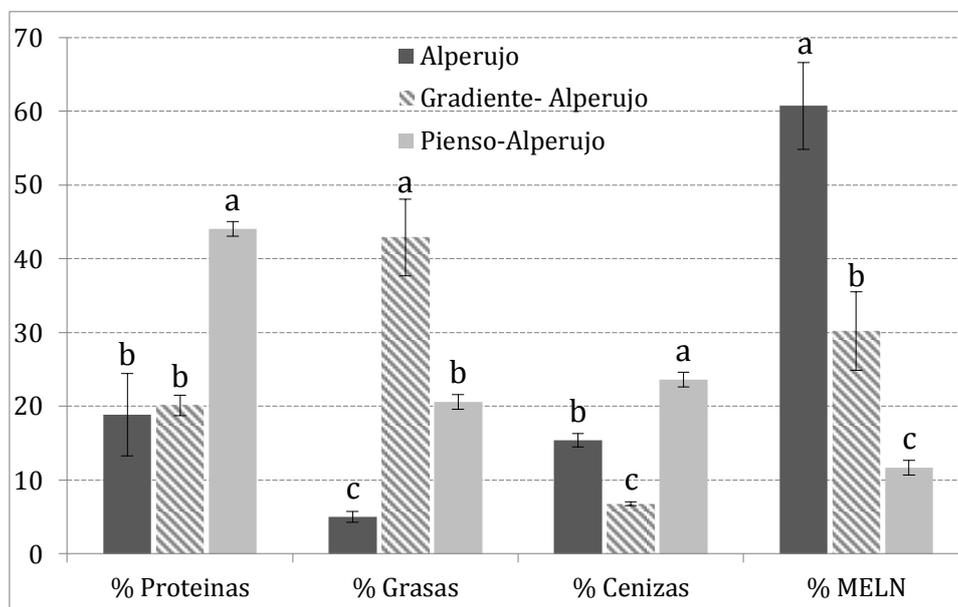
Con relación a la proteína se observa que, de los tres sustratos analizados, las moscas que consumieron pienso-alperujo (44,05%) poseen más del doble del porcentaje de proteínas que las obtenidas en los dos restantes sustratos, 20,13% para el sustrato Gradiente-Alperujo y 18,84% para el sustrato Alperujo.

Por el contrario, los insectos que contenían una proporción significativamente superior de grasa eran los que ingirieron el Gradiente-Alperujo (42,90%). Valor que dobla el porcentaje de grasa obtenido con el pienso-alperujo ($20,51 \pm 1,416$). Por último, en comparación con los porcentajes que se han obtenido con los dos sustratos anteriores, los insectos con el sustrato Alperujo (5,01%) poseen un valor significativamente mucho más bajo de grasas.

En el contenido en cenizas de los animales en los tres sustratos analizados muestran también diferencias significativas entre ellos, obteniendo el mayor porcentaje de cenizas los que estaban en pienso-alperujo (23,66%), seguido por los que estaban en el sustrato alperujo (15,42%) y por último los del sustrato gradiente-Alperujo (6,79%).

Igualmente en el contenido MELN se puede observar que también hay diferencias significativas entre las larvas alimentadas con los tres sustratos analizados. En este caso las del sustrato alperujo alcanza el mayor porcentaje (60,73%) y las del sustrato pienso-alperujo (11,68%) obtienen el menor porcentaje en MELN.

Fig.13.: Porcentaje de proteína, grasa, ceniza y MELN (en % MS) de las larvas de *Hermetia i.* alimentadas con los distintos sustratos vegetales grasos. Las columnas con diferente letra denotan diferencias significativas ($P < 0,0001, n=3$).



4.2.4 Comparación del análisis bromatológico entre las diferentes agrupaciones de sustratos alimenticios.

Proteínas

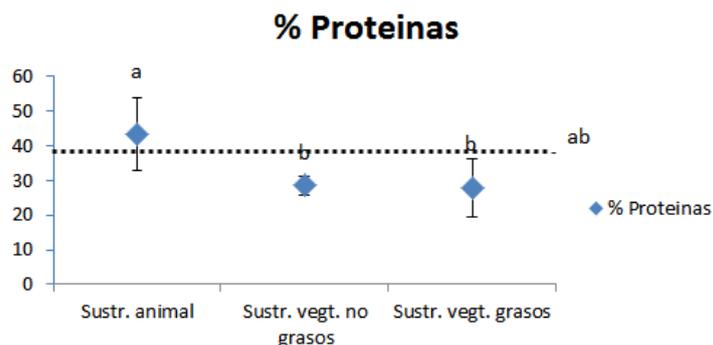
En la figura 14 se representan los valores medios del contenido proteico de las larvas alimentadas con cada grupo de alimentos (sustratos vegetales no grasos, sustratos vegetales grasos y piensos de origen animal). En la figura se ha representado con una línea horizontal punteada el porcentaje obtenido en proteínas para las larvas testigo de *H. illucens*.

Comparando los distintos bloques de sustratos analizados podemos observar que las moscas que han consumido sustratos vegetales no presentan diferencias significativas entre sí (no grasos, 28,54% y grasos 27,67%), aunque sí la tienen con las del bloque de Sustratos animal cuyo porcentaje en proteínas es muy superior (43,19%).

Sí comparamos estos porcentajes con los obtenidos en la larva control de *H.illucens*, se observa que ésta muestra un valor medio entre ambos grupos. Por ello,

esta larva no presenta diferencias significativas ni con los animales que han consumido sustrato de origen animal, ni tampoco con los de procedencia vegetal.

Fig.14.: Porcentaje medio de proteína (en % MS) de las larvas de *Hermetia illucens* alimentadas con los distintos bloques de sustratos analizados. La línea horizontal punteada representa el valor medio de las larvas *H. Illuscens* testigo. Las barras con diferente letra denotan diferencias significativas ($P < 0,0001$).



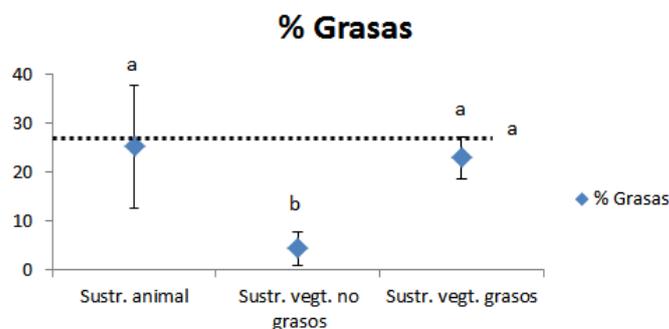
Grasas

El contenido que presentan las larvas, según tratamientos, se muestran en la figura 15.

En esta ocasión son las moscas alimentadas con los Sustratos vegetales no grasos los que poseen un porcentaje de grasas mucho más bajo que el resto. Concretamente sólo tienen un 4,30% de grasa cuando en las otras oscila entre el 22,84% y el 25,17%.

Conviene destacar también como el nivel de grasa de los insectos en sustratos vegetales grasos y de origen animal son similares a los de la *Hermetia* testigo.

Fig.15.: Porcentaje medio de grasa (en % MS) de las larvas de *Hermetia illucens* alimentadas con los distintos bloques de sustratos analizados. La línea horizontal punteada representa el valor medio de las larvas *H. Illuscens* testigo. Las barras con diferente letra denotan diferencias significativas ($P < 0,0001$).

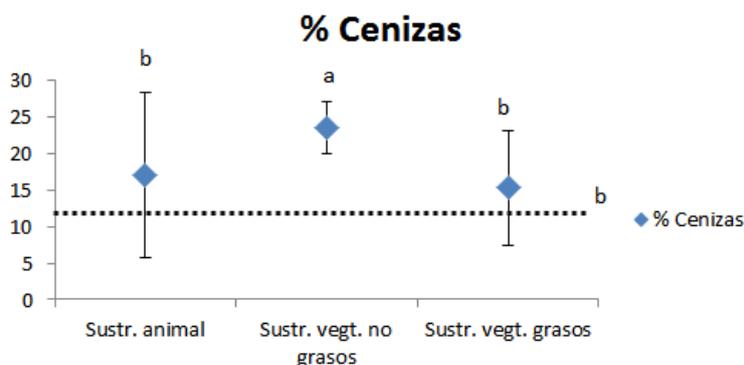


Cenizas

De forma similar a lo que ocurriría con la grasa, el contenido en cenizas de las larvas, que consumieron los sustratos vegetales grasos y de origen animal, no muestra diferencias significativas con la *Hermetia* control.

Son las moscas alimentadas con Sustratos vegetales no grasos la que poseen un mayor porcentaje de cenizas del bloque. Estas muestran diferencias significativas tanto con el resto de sustratos analizados como con la *H. Illuscens* control.

Fig.16.: Porcentaje medio de cenizas (en % MS) de las larvas de *Hermetia illucens* alimentadas con los distintos bloque de sustratos analizados. La línea horizontal punteada representa el valor de las larvas *H. Illuscens* testigo. Las barras con diferente letra denotan diferencias significativas ($P < 0,0001$).



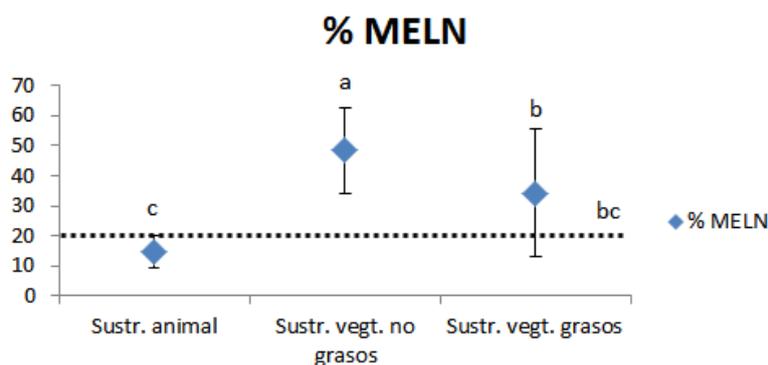
MELN

En la figura 17 se observan diferencias significativas ($P < 0,0001$) en los tres bloques de sustratos analizados para MELN.

Al igual que sucedía con la ceniza son los insectos criados en los Sustratos vegetales no grasos los que presentan un mayor porcentaje (48,39%) del material extractivo libre de nitrógeno (Fig.17). Posteriormente estarían las larvas de los sustratos vegetales grasos (34,20%), y por último, con el menor porcentaje de MELN las del bloque con Sustratos animales.

Como puede observarse también, el contenido de este parámetro en la larva testigo se sitúa entre los Sustratos vegetales grasos y los Sustratos animales.

Fig.17.: Porcentaje medio de MELN (en % MS) de las larvas de *Hermetia illucens* alimentadas con los distintos bloques de sustratos analizados. La línea horizontal punteada representa el valor de las larvas *H.illuscens* testigo. Las barras con diferente letra denotan diferencias significativas ($P < 0,0001$).



DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

Con una población en continuo crecimiento, se estima que cerca de 3700 millones de personas están desnutridas, fundamentalmente con carencia de proteína y energía (Ramos-Elorduy, 2008). Es un hecho constatado que los recursos pesqueros no sólo no podrán aumentar en un futuro, sino que están en franca regresión. Parece claro que la acuicultura es el único camino para poder cubrir una demanda creciente de alimentos de origen acuático (Allan, 2004).

La industria acuícola consume una cantidad considerable (sobre el 46%) de la producción global de harina de pescado (Ayoola, 2010). Desde hace bastantes años se está buscando una fuente proteica alternativa a la harina de pescado. No obstante creemos que la sustituta ideal no existe, pero al menos podemos buscar distintos alimentos (o mezclas de ellos) que puedan ser comparables a la harina de pescado. En ese contexto los insectos pueden jugar un papel fundamental en la alimentación humana, tanto por su consumo directo, como alimento para peces y ganado.

La composición de la harina de pescado fluctúa según el origen y calidades de la misma, similarmente, el valor nutritivo de una misma especie de insecto puede variar según diferentes autores. No obstante, es importante tener en cuenta su composición nutricional a la hora de evaluar y formular dietas para peces.

Se han realizado diversos intentos para encontrar el insecto adecuado que pueda sustituir, aunque sea parcialmente, a la harina de pescado (Achionye-Nzeh and Ngwudo, 2003, Aniebo *et al.*, 2011, Fasakin *et al.*, 2003, Ogunji *et al.*, 2006, Ogunji *et al.*, 2007, St-Hilaire *et al.*, 2007). Por ello, son necesarios estudios para entender mejor las características nutricionales de los diferentes insectos. Esto nos permitirá seleccionar el más adecuado, o corregir sus deficiencias.

En este contexto, nosotros hemos estudiado el díptero *Hermetia illucens* para establecer el potencial que puede tener como alimento para peces. Desde el punto de vista nutritivo los trabajos publicados indican que es un insecto interesante y además presenta ciertas ventajas medio ambientales frente a la harina de pescado o de soja (Barroso *et al.*, 2014; Sánchez-Muros *et al.*, 2013) además su composición nutritiva en

cierta medida depende de la alimentación larvaria (Barroso et al., 2014; St -Hilaire et al. (2007b).

5.1 CARACTERÍSTICAS NUTRITIVAS DE LA LARVA, PUPA Y LOS RESTOS DEL MEDIO DE CULTIVO DE *HERMETIA ILLUCENS*

Proteína Bruta

La proteína es uno de los componentes más caros en las dietas en la acuicultura. Los piensos se han basado tradicionalmente en la harina de pescado porque presenta un alto contenido proteico y un perfil balanceado en aminoácidos esenciales (Nguyen *et al.*, 2009).

Los insectos se pueden considerar un alimento que aporta una alta proporción de proteína, por eso ha sido ampliamente utilizado en los países con déficit proteico. Los niveles de proteína varían entre los insectos en función de la especie y de la fase del ciclo vital en el que se encuentran, pero en general son menos proteicos que la harina de pescado. El contenido de proteína corporal de los insectos es generalmente menor que el contenido de proteína de harina de pescado (Bernard *et al.*, 1997, Finke, 2002, Finke, 2007), aunque el valor nutritivo de la harina depende en primer lugar del tipo de pescado. Sólo los ortópteros parecen poseer uno niveles de PB similares a la harina de pescado, entre el 60 y el 70 % (Barroso *et al.*, 2014, Bernard *et al.*, 1997, Finke, 2002, Finke, 2007, Ramos-Elorduy *et al.*, 1998).

En nuestros experimentos se han analizado las larvas del díptero *Hermetia illucens* procedente de dos empresas diferentes (Exp.1 Entomotech y Exp.2 Bioflytech), y por tanto con dos dietas control diferentes. No obstante, ambos muestran una proporción similar de PB, alrededor de 41%. Este dato es claramente inferior al de los ortópteros, pero es ligeramente inferior a las otras especies de dípteros. En general, la PB en este orden oscila de 40 a 55 %. No obstante, Barroso *et al.* (2014) obtuvieron valores más elevados en las larvas de *Chrysomya megacephala* (61,8%), pupas de *Lucilia sericata* (59%) y pupas de *Protophormia terraenova* (56%). Aunque ninguna de las dos empresas nos ha dado mayor información sobre la alimentación y condiciones de cría que nos permita discutir este apartado, parece que el nivel de

proteínas es menos variable que el de lípidos y que éste es más dependiente de las condiciones de alimentación y otros factores (Barroso *et al.* 2014).

Aunque existan ciertas diferencias, los valores observados en el porcentaje de la PB en este estudio (41%) en la larva de *Hermetia* son similares a los obtenidos por otros investigadores: Newton *et al.* (1977) determinaron que la larva de *Hermetia illucens* poseía un 40,6% de PB, Sheppard (2002) un 37,8%, Arango *et al.* (2004) un 37% y Barroso *et al.* (2014) un 36,2%.

Con relación a la pupa, hemos obtenido que la *Hermetia* en esta fase contiene más PB (43%), aunque no llega a ser una diferencia significativa con respecto a la larva. Algo similar obtuvieron Barroso *et al.* (2014), con un 40.7% de la pupa frente a los 36.2% de la larva.

En otras especies de dípteros, como la mosca doméstica (*Musca domestica L.*) los valores de proteína bruta en distintas fases también varían según diversos autores: 47,1 % (Ogunji *et al.*, 2008), 37,5 % (Aniebo and Owen, 2010) y 56,8 % (Bernard *et al.*, 1997). En pupas de *Musca domestica*, Bernard *et al.* (1997) obtuvieron un 58,3%, también superior a los valores de la larva que obtuvieron. A diferencia de los resultados más bajos en pupa con respecto a larva obtenidos por Sheppard (2002) (37,8 %), Arango *et al.* (2004) (37 %) y 40,6 % descrito por Newton *et al.* (1977).

Grasa Bruta (EE)

Los animales acumulan la energía sobrante del alimento en forma de grasa, como reserva para épocas de escasez. Los peces viven en un medio donde no existen grandes excedentes de recursos, y difícilmente pueden acumular grandes reservas de grasa. Por eso la harina de pescado no contiene una gran cantidad de ella (8.2%), por el contrario, los insectos con metamorfosis deben acumular una gran cantidad de energía, para hacer frente al ayuno que sufrirá durante la misma.

Los datos del experimento 1 que se obtuvieron para las grasas (15 %), son muy similares a los encontrados por Arango *et al.* (2004) y por Barroso *et al.* (2014) en esta especie. Por el contrario, las larvas del experimento 2 poseen una mayor cantidad de

grasa (27%), que es más similar a lo observado por Newton *et al.* (1977) (34,8%) y Sheppard (2002) (31,5%).

A tenor de nuestros resultados, podríamos pensar que el contenido graso de la larva de *Hermetia* está muy influenciado por el alimento aportado. Así en el experimento 1, las larvas fueron alimentadas con un pienso control con muy bajo contenido graso (8%). Por el contrario, en el experimento 2, las larvas y pupas de *Hermetia*, con una mayor cantidad de grasa, fueron alimentadas con piensos de origen animal que suelen tener entre un 13 y un 15% de grasa (FEDNA, 2010).

Normalmente en los estados larvarios (especies con metamorfosis compleja) existe una mayor cantidad de grasa que los adultos (Barker *et al.*, 1998), y por tanto, podría esperarse que los ortópteros, que solo poseen ninfas (metamorfosis simple), tuvieran menos grasa que los dípteros. Sin embargo, existe una gran diversidad, y el contenido en grasa de ambos grupos oscila entre el 15 y el 30% (Barroso *et al.*, 2014).

En general las larvas de coleópteros poseen una gran cantidad de grasa, superando normalmente el 25%. Así, Barroso *et al.* (2014) obtuvieron una alta proporción de grasa en *Tenebrio* (30%) y en *Zophoba* (38%), y otros autores (Finke, 2002, Finke, 2007, Ramos-Elorduy *et al.*, 2006) han obtenido incluso niveles superiores (38 al 43 %).

Cenizas

En nuestros experimentos hemos obtenido unos niveles en cenizas (entre el 10 y el 15%) en la *Hermetia illucens* similares a los obtenidos por otros autores (Arango *et al.*, 2004, Barroso *et al.*, 2014, Newton *et al.*, 1977, Sheppard, 2002).

5.2 DISCUSION EXP.1 ALIMENTACION DE LA LARVA *HERMETIA ILLUCENS* CON PIENSO CONTROL Y PIENSO ENRIQUECIDO.

Hay evidencias de que el perfil de ácidos grasos de los insectos refleja la composición del alimento. En ejemplares salvajes de *Heteracris Littoralis* y *Anacridium aegyptium* que consumen plantas, tienen mayor cantidad de ácido α -linolénico (ALA, 18:3 n3), precursor de la serie n-3, mientras que otras tres especies de

ortópteros criados en cautividad y alimentadas solo con harina y salvado de cereales, presentan cantidades inferiores de ALA, 18:3 n3.(Finke 2002).

La harina de insectos se ha propuesto como un sustituto de la harina de pescado, sin embargo, unos de los problemas que presenta es un perfil inadecuado de ácidos grasos (Sánchez-Muros *et al.*, 2013). El objetivo del segundo experimento es modificar el perfil lipídico de la larva mediante la alimentación, además se estudia como modificar la composición proximal del insecto. En este experimento se estudia cómo afecta la alimentación con un pienso con 40% de harina de pescado a diferentes tiempos antes del sacrificio a fin de establecer si modifica el perfil de ácidos grasos de la larva y en tal caso, el tiempo adecuado que habría que suministrarlo al insecto para modificar, especialmente, el perfil HUFAS n-3 en los insectos.

Los resultados muestran que la alimentación con un pienso con un 40% de harina de pescado presenta cierta tendencia a aumentar el nivel de proteínas cuando llevan más de un día comiéndolo, pero prácticamente no tiene ningún efecto en larvas si lo ingiere 12 horas o menos antes del sacrificio. Esto puede ser debido a la velocidad de síntesis de proteína durante las diferentes fases del desarrollo larvario. El nivel de síntesis de proteína en el cuerpo graso es alto desde el principio hasta la mitad de la última parte del desarrollo, pero cae rápidamente y se mantienen a niveles bajos cuando la larva pupa (Price 1973). Durante el periodo de diapausa de la pupa, la síntesis proteica permanece en niveles bajos (Price1973).

Las cenizas reflejan las diferencias dietarias presentando valores mayores en los animales alimentados 7 días con la dieta experimental, con mayor cantidad de cenizas, que con la dieta control, de menor contenido en cenizas.

Respecto al nivel lipídico, éste parece opuesto al de la proteína, presentando los valores mayores en los animales más recientemente (6h) alimentados con la dieta experimental, mientras que los que llevan más tiempo comiendo esta dieta (7días) presentan valores de grasa similares a los controles. Por el contrario St -Hilaire *et al.* (2007b) encuentra que el nivel lipídico es mayor a mayor tiempo de ingesta de desperdicios de pescado, si bien hay que considerar que en este experimento las larvas fueron alimentadas con 60% pienso de pollo: 40% harina de pescado mientras que en el estudio de St -Hilaire *et al.* (2007b) alimentan las larvas con estiércol de vaca con diferentes proporciones de desperdicios de pescado. Las posibles diferencias en la dieta

pueden condicionar los resultados.

En general la composición de ácidos grasos de la harina de *Hermetia illucens* es muy diferente a la harina de pescado, (Barroso *et al* 2014; Sánchez-Muros *et al.* 2013). La *Hermetia i.* es deficiente sobre todo en HUFAS n-3, que es uno de los problemas más frecuentes que encuentran las fuentes de proteínas alternativas a la harina de pescado porque afectan al desarrollo del pez.

La carencia de HUFAS n-3 también afecta la calidad de producto, el filete de pescado. En los experimentos realizados en trucha alimentada con larva de *Hermetia illucens*, se observó que los filetes de las truchas alimentadas con la larva tenían menor proporción de ácidos grasos n-3 que los de las truchas alimentadas con la dieta control (con harina de pescado como fuente de proteína) (St -Hilaire *et al* 2007a). Esto afecta a las cualidades saludables del pescado para el consumo humano, por lo que estudiar la calidad de los lípidos que aporta la fuente proteica resulta necesario para asegurar la calidad del producto y el buen desarrollo del pez.

La composición de ácidos grasos, y por tanto la calidad de la grasa, en insectos está estrechamente relacionada con la dieta y el estadio de desarrollo (Stanley-Samuelson, *et al.*, 1988). Según los resultados de este trabajo, la administración de la dieta experimental (40% harina de pescado) modifica el perfil lipídico aumentando la cantidad de monosaturados y disminuyendo la de saturados, y aumentando la relación n-3/n-6 por un aumento en la cantidad de n-3 como se ha descrito en larvas de este mismo insecto alimentadas con desperdicios de peces que presentaron un 3% de HUFAS n-3 frente a cantidades despreciables observadas en las larvas alimentadas solo con estiércol de vaca (St -Hilaire *et al* 2007b). Además, en las larvas alimentadas con el pienso control se observa una carencia de ácidos grasos C20 ya descrita anteriormente (Stanley-Samuelson, *et al.*, 1988) mientras que los alimentados con el pienso experimental aparece cierta cantidad de ácidos grasos C20. Resultados similares se han descrito para *H. illucens* alimentada con desperdicios de pescado incluidos en la dieta a diferentes niveles (St -Hilaire *et al* 2007b).

Por otra parte, la capacidad de acumulación de los ácidos grasos varía para cada ácido. Hay ácidos grasos cuya capacidad de acumulación se satura rápido como 16: 1n-7 y 22: 6n-3 mientras que otros como 20: 5n-3 o 18: 1 n-9 parecen acumularse más lentamente. Estos resultados confirman cierta capacidad de manipulación del perfil

lipídico de la larva a través de la dieta y del tiempo de administración antes del sacrificio, sin embargo esta capacidad es limitada por el metabolismo lipídico de insecto, que varía entre especies sobre todo por la habilidad de sintetizar PUFAS particularmente linoléico (Stanley-Samuelson, et al., 1988).

Concretamente en los ácidos grasos 20: 5n-3 y 22: 6n-3 observamos dinámicas diferentes. Así, mientras que el 20: 5n-3 aumenta en función del tiempo que es alimentada la larva con el pienso experimental, el 22: 6n-3 presenta niveles superiores a la larva control pero independiente del tiempo de ingesta, ya a los 30 min de la ingesta presenta valores similares que el resto de los tiempos de ingesta muestreados. El mosquito, *Cx. pipiens* (Dadd et al 1987) y *G mellonella* (Stanley-Samuelson, and Dadd 1984) convierten ciertos 22C PUFAS en sus análogos de C20 o C18, aunque no hemos encontrado referencias para *Hermetia illucens*. Sin embargo, las larvas de *H. illucens* alimentadas con desperdicios de pescado durante 24 horas antes del sacrificio, mostraron niveles mayores de 22:6 n-3 solamente las alimentadas 24 horas antes. Además el nivel de este ácido graso es similar en todas las larvas alimentadas con desperdicios de pescado independientemente de la proporción de desperdicios de pescado incorporados a la dieta (10% desperdicios D: 90% estiércol E; 25% D:75% E; 50%D:25% E) pero sensiblemente mayor que en las larvas alimentadas exclusivamente con estiércol de vaca (St -Hilaire et al 2007b). Estos datos junto con los aportados en este trabajo (PFC) indican que la larva de *H. illucens* tiene una capacidad limitada de acumular 22:6n-3 que se alcanza rápidamente.

Según nuestros resultados el ácido graso 20:5n-3 aumenta sus niveles con el tiempo, alcanzándose los mayores valores en las larvas alimentadas más días con el pienso experimental, resultados que coinciden con lo descrito por St -Hilaire et al. (2007b) que detectan un ligero aumento en este ácido graso en los animales alimentados 21 días frente a las alimentadas 24 horas antes del sacrificio.

En resumen, podemos decir que la alimentación con harina de pescado modifica el perfil de ácidos grasos de la larva incrementando el nivel de HUFAS n-3.

5.3 DISCUSIÓN EXP.2 ALIMENTACIÓN DE LARVA DE *HERMETIA ILLUCENS* CON DIFERENTES SUSTRATOS.

Cuando en estudios previos se ha empleado la harina de insectos para realizar piensos destinados a peces acuicultivados, se ha encontrado que su alta proporción en grasa (incluso superior al 25%) dificultaba el diseño de dietas equilibradas. Por ello, era de gran interés poder comprobar si era posible modificar el contenido bromatológico de las larvas mediante su cría con diferentes sustratos alimenticios.

Tal y como se ha expuesto en el material y métodos, la naturaleza de los sustratos alimenticios fueron aportados por la empresa Bioflytech, basándose en la disponibilidad y en su propio interés para usar estas moscas en la reutilización de diversos subproductos alimenticios.

Aunque estas larvas sean animales monogástricos, sorprende el gran efecto que tiene el medio alimenticio donde se críen sobre su composición química. Previamente al estudio se podía esperar que piensos bajos en grasa (p.e. sustratos vegetales) disminuyeran el porcentaje de grasa en las larvas, pero nunca se llegó a pensar en obtener niveles tan bajos.

Estos insectos no son alimentados con dietas equilibradas como sucede con la producción de cerdos y pollos. Para estas especies, en general existen numerosos trabajos que indican que la inclusión de grasa en la dieta tiene poca influencia sobre la cantidad de grasa depositada en la canal si no se modifica el nivel energético del pienso. Pero, en el caso de la *Hermetia illucens*, estas moscas se emplean fundamentalmente para reciclar diversos residuos alimenticios, y como actividad secundaria podrían destinar a la alimentación animal.

Al observar los diferentes piensos de origen animal (Fig.4), se puede comprobar que, aunque existan diferencias significativas, todas las larvas poseen una alta proporción de proteína (alrededor de un 43%), independientemente de lo que hayan comido. Igualmente, el nivel del contenido graso es elevado (alrededor del 25%). Quizás podríamos destacar el resultado del empleo de la harina de pluma, más por el papel de la *H. Illucens* en su reutilización, que por el valor nutritivo de las larvas.

Las plumas son un subproducto de la industria avícola con alto potencial para ser utilizado como materia prima para elaboración de alimentos balanceados debido a que están constituidas en un 90% por proteína. Sin embargo, por ser queratina la proteína que las constituye, en su estado nativo presentan una digestibilidad muy baja y su utilización se ve limitada (Álvarez et al, 2009).

El alto contenido en grasa de estas larvas, tal y como hemos comentado, dificulta su uso en alimentación animal. Quizás la grasa de estas larvas podría destinarse a la producción de biodiesel, y sólo reservar la pasta proteica desengrasada a la fabricación de piensos.

Aunque en insectos no existen estudios que valoren el efecto de la dieta en su composición bromatológica, en broilers existen una serie de trabajos (Akiba, 1988; Holsheimer, 1991; Villalbí et al., 1993), que encuentran una influencia no solo de la grasa sino del tipo de grasa ingerida sobre la cantidad de grasa depositada por los broilers al final del cebo.

Entre todos los sustratos alimenticios probados creemos que los de “origen vegetal no grasos” son los más prometedores. En general presentan una alta proporción de proteína, alrededor de 28% y sólo un 4% de grasa. No obstante, sería necesario conocer de la alta proporción de MELN, cuanto corresponde a la fracción quitinosa.

De todos ellos, creemos que sería especialmente interesante profundizar en el uso de “limón-pienso-alperujo” y la “naranja”. Ambos poseen una proteína cercana al 40%, y la grasa no es muy elevada, 11% en “limón-pienso-alperujo” y 3% en “naranja”.

No obstante, se debería profundizar si niveles tan bajos de grasa (como las moscas criadas con naranja) pueden comprometer la salud de las larvas. Según Cohen (2003), la grasa corporal participa en innumerables actividades y funciones metabólicas. La absorción de nutrientes de la hemolinfa y su acumulación intracelular en forma de gotas de lípidos, depósitos de carbohidratos (glucógeno), y gránulos de proteína durante las etapas inmaduras, están dirigidos a la acumulación de reservas para las etapas posteriores, y sobre todo para servir a las actividades de adultos. Las células de la grasa corporal tienen funciones homeostáticas relacionadas con el metabolismo, responden a las señales nutricionales y hormonales que regulan y modulan el azúcar en la sangre, los lípidos, y las proteínas en las etapas de larva y adultos. Además, las proteínas liberadas

en la sangre durante el desarrollo larvario del insecto son secuestradas por los adipocitos, formando grandes gránulos intracelulares hasta su uso durante la metamorfosis.

En general, los “sustratos vegetales grasos” no parecen tan interesantes para emplearlos en alimentación animal como los “no grasos”. Estos muestran un contenido en proteína también cercano al 30%, pero la proporción de grasa es elevada, sobre el 20%.

Posiblemente, de todos ellos, el más interesante sea “pienso-alperujo”, ya que aunque contiene un 20% de grasa, posee más del 43% de PB. Cuando se analicen el perfil de ácidos grasos de las larvas alimentadas con este alimento posiblemente mostraran una menor proporción de ácidos grasos saturados, al haber consumido alperujo, que las larvas alimentadas únicamente con piensos de origen animal. Además, es importante el papel que pueden jugar estos dípteros en el reciclado de este subproducto que por su naturaleza tiene una compleja eliminación. Al utilizar a *H. illucens* para este fin, no solo reducimos el problema ambiental, sino que transformamos el alperujo en una proteína de alto valor nutritivo.

En resumen, desde un punto de vista nutritivo, y con objeto de emplearlo especialmente en la acuicultura, consideramos de gran interés las larvas alimentadas con materiales vegetales no grasos, especialmente “limón-pienso-alperujo”.

Otro aspecto importante será valorar la rentabilidad en producción en masa de los insectos y la supervivencia de las larvas alimentadas con cada sustrato, pero eso es un papel que deben realizar los gestores de la empresa Bioflytech. En todo caso, aunque la productividad sea menor con algunos subproductos, si presentan una mejor aplicación en la industria alimentaria animal (p.e. limón-pienso-alperujo o pienso-alperujo), podría garantizar una mayor rentabilidad económica final.

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

1.- Los análisis de proteína, grasa y cenizas no revelan diferencias entre la harina de larva o de pupa de *Hermetia illucens*.

2.- La alimentación con un pienso con 40% de harina de pescado modifica el perfil lipídico de la larva, aumentando la cantidad de ácidos grasos monosaturados y disminuyendo la de saturados y aumentando la relación n-3/n-6 por un aumento en la cantidad de n-3. Además, cierta cantidad de ácidos grasos C20 carente en la larva aparecen al ser alimentada con la dieta control.

3.- La alimentación con un pienso con 40% de harina de pescado incrementa el nivel del ácido graso 20:5 n-3 respecto a las larvas alimentadas con un pienso control. La cantidad de 20:5 n-3 de la larva se incrementa con el tiempo de alimentación hasta un 2,8% frente al 3,3% que contiene la dieta.

4.- La alimentación con un pienso con 40% de harina de pescado incrementa el nivel de 22:6 n-3 respecto a las larvas alimentadas con un pienso control independientemente del tiempo que la ingieren.

5.- Las larvas alimentadas con materiales vegetales no grasos, especialmente “limón-pienso-alperujo” son consideradas de gran interés desde un punto de vista nutritivo.

6.1 CONCLUSIÓN FINAL.

Los resultados de estos experimentos muestran que el valor nutritivo de la larva puede ser manipulado mediante la alimentación de ésta, lo que abre sus posibilidades de uso en la alimentación animal, y promueve un campo de estudio que nos permita conocer mejor la interacción dieta- composición bromatológica de la larva.

BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

- Achionye-Nzeh, C.G. & Ngwudo, O.S. (2003) Growth response of *Clarias anguillaris* fingerlings fed larvae of *Musca domestica* and soyabean diet in the laboratory. *Bioscience Research Communications*. 15, 221-223.
- Akiba, Y. (1988): Proc.18th World's Poultry Congress. Nagoya. 92-195.
- Akiyama T., Murray I., Hirasawa Y., Nose, T., (1984). Aquaculture. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84: 475-477.
- Allan, G. (2004) Fish for feed vs. fish for food In *Fish, aquaculture and food security: Sustaining fish as a food supply* (Brown, A.G. ed.), pp. 20-26. Record of a conference conducted by the ATSE Crawford Fund, Parliament House, Canberra, Australia.
- Alvarez, R.; Bertsch, A. y Coello, N.. Digestibilidad verdadera de harina de plumas fermentadas por *Kocuria Rosea* en gallos adultos. *Zootecnia Trop.* [online]. 2009, vol.27, n.1, 001-006. ISSN 0798-7269.
- Aniebo, A.O. & Owen, O.J. (2010) Effects of age and method of drying on the proximate composition of housefly larvae (*Musca domestica* Linnaeus) meal (HFLM). *Pakistan Journal of Nutrition*, 9, 485-487.
- Aniebo, A.O., Odukwe, C.A., Ebenebe, C.I., Ajuogu, P.K., Owen, O.J., Onu, P.N., 2011. Effect of housefly larvae (*Musca domestica*) Meal on the carcass and sensory qualities of the mud catfish, (*Clarias gariepinus*). *Advances in Food and Energy Security*. 1, 24-28.
- Aniebo, A.O., Owen, O.J., 2010. Effects of age and method of drying on the proximate composition of housefly larvae (*Musca domestica* Linnaeus) meal (HFLM). *Pakistan Journal of Nutrition*. 9, 485-487.
- Anwar, A., Ishak, M., El Zeiny, M. Hassanen, G.D.I. (1982). Aquaculture. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84, 475-477.

- AOAC (2000) *Official methods of analysis*. Gaithersburg, MD, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- Arango, G.P., Vergara, R.A., Mejía, H., 2004. Análisis composicional, microbiológico y digestibilidad de la proteína de la harina de larvas de *Hermetia illucens* (diptera: *Stratiomyiidae*) 551 en *angelópolis-antioquia*, Colombia. Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín (online). 57, Available at: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179914073009&idp=1&cid=1245717>
- Ayoola, A.A. (2010) Replacement of fishmeal with alternative protein Source in aquaculture diets. Thesis Degree of Master of Science. Faculty of North Carolina State University. North Carolina, USA. Thesis Degree of Master of Science in Faculty of North Carolina State University.
- Banjo, A.D., Lawal, O.A. and Songonuga, E.A. (2006). The nutritional value of fourteen species of edible insects in southwestern Nigeria. *Afr. J. Biotech.* 5(3), 298-301.
- Barker, D., Marianne, P., Fitzpatrick, D. & Dierenfeld, E.S. (1998) Nutrient composition of selected whole invertebrates. *Zoo Biology*, 17, 123–134.
- Barker, D., Marianne, P., Fitzpatrick, D., Dierenfeld, E.S., 1998. Nutrient composition of selected whole invertebrates. *Zoo Biology*. 17, 123–134.
- Barroso, F.G., de Haro, C., Sánchez-Muros, M.J., Venegas, E., Martínez-Sánchez, A. & Pérez-Bañón, C. (2014) The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquacultres*, 422-423, 193-201.
- Bernard, J.B., Allen, M.E. & Ullrey, D.E. (1997) Feeding captive insectivorous animals: nutritional aspects of insects as food. Nutrition advisory group handbook. Fact sheet 003. Scientific Advisory Group to the American Zoo and Aquarium Association.
- Bondari K. y Sheppard D.C. (1981). Soldier fly larvae as feed in commercial fish production. *Aquaculture*, 24: 103-109.
- Cardenete, G., Garzón, A., Moyano, F., De la Higuera, M., (1991). Abstracts of IV International Symposium on Fish Nutrition and Feeding. En *Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84: 475-477, 8.

- Carlos B. 1997. Zootecnia: bases de producción animal. Producción animal acuática, Volumen 13. Mundi-Prensa. 124-282, 361.
- Castell, J.D., Bell, J.G., Tocher, D.R., Sargent, J.R., 1994. Effects of purified diets containing different combinations of arachidonic and docosahexaenoic acid on survival, growth and fatty acid composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*. 128, 315-333.
- Cerda, H., R. Martínez, N. Briceño, L. Pizzoferrato, D. Hermoso & M. Paoletti 1999. Cria, análisis nutricional y sensorial del picudo del cocotero *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae), insecto de la dieta tradicional indígena Amazónica. *Ecotropicos*. 12(1): 25-32.
- Cohen, E. (2003) Fat body. In: (V.H. Resh & R.T. Cardé, eds.) *Encyclopedia of insects*, pag. 407-409. Academic Press, San Diego, USA
- Conconio J. R. E. de, and H- R. Bourges. 1977' Valor nutritivo de ciertos insectos comestibles de México y Lista de algunos insectos comestibles del mundo *Ann. Inst. Biol. Univ. Nat. Auton. Mex.* 48: 165-186.
- Dadd RH, Kleinjan JE, Stanley-Samuelson DW: Polyunsaturated fatty acids of mosquitoes reared with single dietary polyunsaturates. *Insect Biochem* 17,7 (1987).
- F.G. Barroso, C. de Haro, M.J. Sánchez-Muros, E. Venegas, A. Martínez-Sánchez, C. Pérez-Bañón (2014) The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquacultres*: 422-423: 193-201
- FAO (2011) *Pescado y productos pesqueros. Perspectivas alimentarias. Análisis de los mercados mundiales*. 164 pp. (ONLINE), Acceso: 18.08.2013. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/004/w2736s/w2736s10.htm>
- FAO (2012) *State of World Fisheries and Aquaculture*. Rome, Italy. (ONLINE), Acceso: 18.08.2013. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/016/i2727e/i2727e.pdf>. Roma, Italia.
- Fasakin, E.A., Balogun, A.M. & Ajayi, O.O. (2003) Evaluation of full-fat and defatted maggot meals in the feeding of clariid catfish *Clarias gariepinus* fingerlings. *Aquaculture Research*, 34, 733-738.

- Fasakin, E.A., Balogun, A.M., Ajayi, O.O., 2003. Evaluation of full-fat and defatted maggot meals in the feeding of clariid catfish *Clarias gariepinus* fingerlings. *Aquaculture Research*. 34, 733-738.
- FEDNA (2010) *Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de los alimentos para la fabricación de piensos compuestos*, Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Madrid.
- FEDNA 2012. Harina de plumas hidrolizada (actualizada Nov. 2012).
- Finke, M.D. (2002) Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biology*, 21, 269-285.
- Finke, M.D. (2007) Estimate of chitin in raw whole insects. *Zoo Biology*, 26, 105-115..
- Finke, M.D., DeFoliart, G.R., Benevenga, N.J., 1989. Use of a four-parameter logistic model to evaluate the quality of the protein from three insect species when fed to rats. *The Journal of Nutrition*. 119, 864-871.
- Fowler, L.G., (1990). *Aquaculture. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84: 475-477 8.
- Gullan, P.J.; Cranston, P.S. 2005. *An outline of entomology*. Ed. Bltda. (USA). 511p.
- Henderson R.J. y Tocher D.R., 1987. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Progress in Lipid Research*, 26: 281–347.
- Hilton, J.W., Slinger, S.J. (1981). *Aquatic Sciences, Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84: 475-477, 8.
- Holsheimer, J.P. (1991): Proc. 10th European Symposium on the Quality of Poultry Meat. Doorwerth. pp.273-287.
- Jeffery K.Tomberlin., D. Craig Sheppard.Lekking. 2001. Behavior of the black soldier fly (Diptera: Strariomyidae). Department of Entomology, University of Georgia.729-730.

- Joseph W. Diclaro II., Phillip E. Kaufman. 2009. *Hermetia illucens* (Linnaeus) (Insecta: Diptera: Stratiomyidae). University of Florida. [Online]: Acceso: 27.04.2014. Disponible en: http://entnemdept.ufl.edu/creatures/livestock/black_soldier_fly.htm
- Kanazawa, A. 1985. Essential fatty acid and lipid requirement of fish. In: Nutrition and Feeding of Fish. pp. 281-298. Edited by C.B. Cowey, A.M. Mackie and J.G. Bell. Academic Press, London.
- Kaushik, S.J. (1990). Mediterranean Aquaculture. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84 475 0477 8.
- Kihlberg, R. (1972). Ann. Rev. Microbiology. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84: 475-477 8.
- Kroeckel S., A.G.E Harjes, I. Roth, H. Katz, S. Wuertz, A. Susenbeth, C. Schulz (2012). When a turbot catches a fly: Evaluation of a pre-pupae meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute — Growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture 364–365 (2012) 345–352.
- Landry, S.V., DeFoliart, G.R., Sundae, M.L. (1986). Larval protein quality of six species of Lepidoptera (Saturniidae, Sphingidae, Noctuidae). J. Econ. Ent. 79: 600–604.
- Laureano S. M., José Luis G. de O., Carlos C. F. Animales de Laboratorio: (Producción, Manejo y Control Sanitario). Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. Instituto nacional de investigaciones Agrarias, 119-122.
- M.J. Sánchez-Muros, F.G. Barroso, F. Manzano-Agugliaro (2014) Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. Journal of Cleaner Production, 65: 16-27.
- Martínez-Sánchez, A., Magaña, C., Saloña, M. & Rojo, S. (2011). First record of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) on human corpses in Iberian Peninsula.
- Mohsen, A.A., Lovell, R.T., (1990). Aquaculture. Acuicultura marina: Fundamentos

biológicos y tecnología de la producción. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84: 475-477, 8.

- Mourente, G., Rodriguez, A., Tocher, D.R., Sargent, J.R. (1993) Effects of dietary docosahexaenoic acid (DHA; 22:6n-3) on lipid and fatty acid compositions and growth in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) Larvae during first feeding. *Aquaculture* Volume 112, Issue 1, 15 April 1993, Pages 79-98.
- Moyano, F.J., De la Higuera, M., Cardenete, G. (1992). *Anim. Prod. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84: 475-477, 8.
- Murray, A, y Marchant, R. (1986). *Aquaculture. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84: 475-477, 8.
- Nakagaki, B.J., DeFoliart, G.R. (1987) Protein quality of the house cricket *Acheta domesticus* when fed to rooster chicks. *Poultry Sci.* 66: 1367–1371
- Nakagaki, BJ, GR DeFoliart. 1991. Comparación de las dietas para la cría en masa *Acheta domesticus*. (Orthoptera: Gryllidae) como un alimento de la novedad, y la comparación de la eficiencia de conversión de alimentos con los valores reportados para el ganado *J. Econ. Entomol* 84 (3): 891-896.
- Nandayure May Studt S.2010. Uso de larvas de moca soldado negra (*Hermetia illucens*) Para el manejo de residuos municipales orgánicos en el campus de la universidad Earthg, Costa Rica.20-22.
- Newton, G. L., C. V. Booram, R. W. Barker, and O. M. Hale. 1977. Dried *Hermetia illucens* larvae meal as a supplement for swine. *J. Anim. Sci.* 44:395-399.
- Newton, G. L., D. C. Sheppard, D. W. Watson, G. J. Burtle, C. R. Dove, J. K. Tomberlin, and E. E. Thelen., 2005. The black soldier fly, *Hermetia illucens*, as a manure management/resource recovery tool. Symposium on the State of the Science of Animal Manure and Waste Management. January 5–7, 2005, San Antonio, Texas, USA. URL: http://www.cals.ncsu.edu/waste_mgt/natlcenter/sanantonio/proceedings.htm.
- Newton, G.L., Booram, C.V., Barker, R.W. & Hale, O.M. (1977) Dried *Hermetia illucens* larvae meal as a supplement for swine. *Journal of Animal Science*, 44, 395-400.

- Nguyen, T.N., Davis, D.A. & Saoud, I.P. (2009) Evaluation alternative protein sources to replace fish meal in practical diets for juvenile tilapia, *Oreochromis spp.* *Journal of the World Aquaculture Society*, 40, 113-121.
- Ogunji, J., Toor, R.-U.-A., Schulz, C. & Kloas, W. (2008) Growth performance, nutrient utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed housefly maggot meal (magma) diets. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8, 141-147.
- Ogunji, J.O., Kloas, W., Wirth, M., Neumann, N., Pietsch, C., 2008. Effect of housefly maggot meal (magma) diets on the performance, concentration of plasma glucose, cortisol and blood characteristics of *Oreochromis niloticus* fingerlings. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 92, 511-518.
- Ogunji, J.O., Kloas, W., Wirth, M., Schulz, C. & Rennert, B. (2006) Housefly Maggot Meal (Magma): An Emerging Substitute of Fishmeal in Tilapia Diets In *Conference on International Agricultural Research for Development; Deutscher Tropentag* Bonn, Germany.
- Ogunji, J.O., Nimptsch, J., Wiegand, C. & Schulz, C. (2007) Evaluation of the influence of housefly maggot meal (magma) diets on catalase, glutathione S-transferase and glycogen concentration in the liver of *Oreochromis niloticus* fingerling. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 147, 942-947.
- Phelps, R.J., Struthers, J.K., Moyo, J.L. (1975) Investigations into the nutritive value of *Macrotermes falciger* (Isoptera-Termitidae). *Zool. Afric.* 10: 123–132.
- Price G. M. 1973. Protein and nucleic acid metabolism in insect fat body. *Biological Reviews* 48: 333–372,
- Pudalkewicz, C., J. Seufert and R.T. Holman. 1968. Requirements of the female rat for linoleic and linolenic acids. *J. Nutr.* 94:138-146.
- Ramos, J., Pino, J. Insectos comestibles del Estado de México y determinación de su valor nutritivo. *Anales del Instituto de Biología serie Zoología*, 1998.69(001).
- Ramos-Elorduy, J. (2008) Energy supplied by edible insects from Mexico and their nutritional and ecological importance. *Ecology of Food and Nutrition*, 47, 280-297.

- Ramos-Elorduy, J., Conconi, M. (1994) Edible insects in the world (liste des espèces, lieux de consommation et ethnies qui les consomment), Abstracts 4th International Congress of Ethnobiology, Lucknow, India, pp. 311.
- Ramos-Elorduy, J., Medeiros-Costa, E., Ferreira-Santos, J., Pino-Moreno, J.M., Landero-Torres, I., Ángeles-Campos, S.C., García-Pérez, A., 2006. Estudio comparativo del valor nutritivo de varios coleoptera comestibles de México y *Pachymerus nucleorum* (Fabricius, 1792) (Bruchidae) de Brasil. *Interciencia*. 31, 512-516.
- Ramos-Elorduy, J., Pino, J.M. & Correa, S.C. (1998) Insectos comestibles del Estado de México y determinación de su valor nutritivo. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Serie zoología*, 69, 65-104.
- Ratliff, B. (2007) Producers may put fish on insect diet *Forestry, Wildlife & Fisheries News of Mississippi State University*. Consulta: 10.02.14. Disponible en: <http://msucare.com/news/print/fwnews/fw07/071129.html>.
- Rodríguez C., Lorenzo V. y Martín J.R. (2009) Nutrición lipídica. En: Sanz. F. (Ed). *La nutrición y alimentación en piscicultura*, 153-274. Fundación Observatorio Español de Acuicultura. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Madrid.
- Rueda, M. (2013) Aplicación de la mosca *Hermetia Illuscens* como fuente alternativa de alimentación en tilapia (*Oreochromis sp.*) Universidad de Almería. pag 64
- Salvador A. A. La acuicultura. Artículo revista *El ecologista*. Acceso: 11.02.14. Disponible en: <http://www.ecologistasenaccion.org/article14724.html>.
- Sánchez-Muñiz, F.J., De la Higuera, M., Muñoz-Martínez, E. y Valera G., (1983). *Comp. Biochem. Physiol. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona. 84 475 0477 8.
- Sargent J.R., Bell J.G., Bell M.V., Henderson R.J. y Tocher D.R. (1995) Requirement criteria for essential fatty acids. *Journal of Applied Ichthyology*, 11: 183–198.
- Sargent J.R., Henderson R.J. y Tocher D.R. (1989). En: Halver J.E. (ed.) *The lipids. Fish Nutrition*, 154–218. Academic Press. London, Reino Unido.

- Sargent, J., Bell, G., McEnvoy, L., Tocher, D., Estevez A., 1999a. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture*. 177,191-199.
- Sargent, J., McEnvoy, L., Estevez, A., Bell, G., Bell, M., Henderson, J., Tocher, D., 1999b. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture*. 179, 217-229.
- Sargent, J.R., McEnvoy, L.A., Bell, J.G., 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture*. 155, 117-127.
- Sheppard DC, Tomberlin JK, Joyce JA, Kiser BC, Sumner SM. 2002. Rearing methods for the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae). *Journal of Medical Entomology* 39: 695-698.
- Sheppard, C. (2002) Black soldier fly and others for value added manure management. Athens, GA.: University of Georgia. Department of Entomology and Animal Science.
- Sheppard, C., J. K. Tomberlin, and L. G. Newton. 1998. Use of soldier fly larvae to reduce manure, control house flies, and produce high quality feedstuff. In: J. P. Blake and P. H. Patterson (Ed.). *Proc. 1998 National Poultry Waste Management Symp.* Springdale, AK. p. 405.
- Sheppard, D., Burtle, G. (2007). Black Soldier Fly Prepupae A Compelling Alternative to Fish Meal and Fish Oil. University of Georgia.3-5.
- Simopoulos AP (1999) Essential fatty acids in health and chronic disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 70: 560-569.
- Stafford,E.A. y Tacon,A.G.J. 1985. *Aquaculture and Fisheries Management*,16:213-222.
- Stanley-Samuelson ,D.W., Dadd ,R.Ñ., Polyunsaturated fatty acids in the lipids from adult *Galieia mdlonella* reared on diets to which only one unsaturated fatty acid had been added. *Insect Biocheni* 14, 321 (1984).
- Stanley-Samuelson, D. W., Jurenka, R. A., Cripps, C., Blomquist, G. J. and de Renobales, M. (1988), Fatty acids in insects: Composition, metabolism, and biological significance. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 9: 1–33. doi: 10.1002/arch.940090102

- Stelmock R.A., Hisby F.M., Brundage A.L. (1985) Application of Van Soest acid detergent fiber method for analysis of shellfish chitin. *Journal of Dairy Science*, 68: 1502-1506.
- St-Hilaire S., Sheppard C., Tomberlin J.K., Irving S., Newton L., McGuire M.A., Mosley E.E., Hardy R.W. y Sealey W. (2007) Fly prepupae as a feedstuff for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 38: 59-67.
- Teguaia A, Beynen AC (2005) piensos alternativos para los pollos de engorde en Camerún. *Livestock Research para el Desarrollo Rural* 17, el artículo n ° 34.
- Velásquez, L. Ibáñez, I. Herrera, C., Oyarzun, M., (1991). Anim. Prod. Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción. Castelló Orvay, F. Universitat de Barcelona.
- Villalbi, E., Barroeta, A.C., Blanch, A. y Puchal, F. (1993): Proc.11th Symposium on the Quality of Poultry Meat. Tours. pp.44-51.
- Villasana, G. J. A. 1981. Producción de larvas de mosca común (*Mosca domestica* L.) y su evaluación biológica como fuente de proteína y energía en raciones para aves. Tesis Profesional. Depto. Zootecnia Univ. Autónoma Chapingo, México p. 188.
- Wang, D., Zhai, S.W., Zhang, C.X., Zhang, Q., Chen, H. (2007) Nutrition value of the Chinese grasshopper *Acrida cinerea* (Thunberg) for broilers. *Animal Feed Science and Technology*, (1-2): 66-74.135.
- Watanabe, T. 1982. Lipid nutrition in fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 73B: 3-15.

