



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ingeniería

“Aprovechamiento de residuos orgánicos en un esquema de biorrefinería mediante el cultivo de mosca soldado (*Hermetia illucens*)”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de:

Doctora en Ciencias Ingeniería en Biosistemas

Presenta

M. en C. Valeria Caltzontzin Rabell

Dirigida por:

Dra. Claudia Gutiérrez Antonio

Querétaro, Qro. Agosto, 2024.

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ingeniería

Doctorado en Ciencias Ingeniería en Biosistemas

“Aprovechamiento de residuos orgánicos en un esquema de biorrefinería
mediante el cultivo de mosca soldado (*Hermetia illucens*)”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Doctora en Ciencias Ingeniería en Biosistemas

Presenta

M. en C. Valeria Caltzontzin Rabell

Dirigida por:

Dra. Claudia Gutiérrez Antonio

Dra. Claudia Gutiérrez Antonio
Presidente

Dra. Ana Angélica Feregrino Pérez
Secretaria

Dr. Humberto Aguirre Becerra
Vocal

Dr. Fernando Israel Gómez Castro
Suplente

Dr. Julio Armando De Lira Flores
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Agosto, 2024.
México

RESUMEN

El presente estudio ha investigado la viabilidad del tratamiento del suero de queso proveniente de la fabricación de quesos de vaca utilizando un esquema de biorrefinería basado en el cultivo de larvas de mosca soldado, con el fin de convertir este residuo en un producto de valor agregado (extracto antimicrobiano) y un biocombustible (biodiésel). El objetivo principal ha sido desarrollar una metodología para aprovechar el suero de queso mediante un esquema de biorrefinería. Los resultados han demostrado que es posible bioconvertir 2,250 gramos de suero de queso en productos que incluyen 1,018 gramos de frass, 63.31 gramos de extracto antimicrobiano y antioxidante, 44.3 gramos de larvas desgrasadas, y 22.67 gramos de biodiésel. Se ha encontrado que las larvas alimentadas con este residuo pueden acumular más grasa, y que las condiciones del sustrato influyen significativamente en las biomoléculas acumuladas por las larvas. Respecto a los productos de interés, el extracto antimicrobiano obtenido ha mostrado actividad contra *Salmonella spp.*, y el rendimiento del biodiésel producido después de obtener el primer producto ha sido de 61.13%. Finalmente se ha diseñado el esquema planteado para la biorrefinería. Este es el primer trabajo que reporta la obtención de biodiésel y compuestos antimicrobianos a partir del tratamiento de suero de queso. Se ha destacado la importancia de seguir investigando esta biorrefinería en términos técnicos, económicos, así como de impacto social y ambiental. Este enfoque podría representar una alternativa sostenible y económicamente viable para la gestión de residuos lácteos y la producción de bioproductos.

Palabras clave: biorrefinería, suero de queso, larva de mosca soldado, aprovechamiento, biocombustibles, productos de valor agregado.

SUMMARY

The present study has investigated the feasibility of treating cow cheese whey using a biorefinery scheme based on the cultivation of black soldier fly larvae, with the aim of converting this waste into a value-added product (antimicrobial extract) and a biofuel (biodiesel). The main objective has been to develop a methodology to utilize cheese whey through a biorefinery approach. The results have demonstrated that it is possible to bioconvert 2,250 grams of cheese whey into products such as 1,018 grams of frass, 63.31 grams of antimicrobial and antioxidant extract, 44.3 grams of defatted larvae, and 22.67 grams of biodiesel. It has been found that larvae fed with this waste can accumulate more fat, and that the substrate conditions significantly influence the biomolecules accumulated by the larvae. Regarding the products of interest, the obtained antimicrobial extract has showed activity against *Salmonella spp.*, and the biodiesel yield after obtaining the first product was 61.13%. Finally, the proposed biorefinery scheme has been designed. This is the first work reporting the production of biodiesel and antimicrobial compounds from the treatment of cheese whey. The importance of further investigating this biorefinery in technical, economic, social, and environmental terms was highlighted. This approach could represent a sustainable and economically viable alternative for managing dairy waste and producing bioproducts.

Keywords: biorefinery, cheese whey, black soldier fly larvae, up-cycling, biofuels, value-added products.

DEDICATORIA

A todas las larvas y organismos que dan su vida, sin quererlo o saberlo, por nuestras tesis. Espero que su muerte jamás sea en vano.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a CONAHCYT por la beca que me dio para poder concluir con mis estudios de posgrado. A la Universidad Autónoma de Querétaro por permitirme estudiar desde la licenciatura hasta aquí, además que me apoyó con dos proyectos FOPER, los cuales financiaron gran parte de esta tesis. Agradezco también al Laboratorio de Nanomateriales y Nanocompositos de la Universidad Autónoma de Querétaro por las facilidades para la realización de los análisis presentados en el presente trabajo. Al Laboratorio Nacional CONAHCYT de Biocombustibles Sólidos (BIOENER) "Biocombustibles sólidos en México para impulsar las ecotecnologías energéticas en comunidades rurales y pequeñas industrias" ApoyoLNC-2023-40 por el apoyo otorgado para análisis y producción de los pellets. De igual manera quiero agradecer a la Planta Piloto de Lácteos y Planta de Mosca Soldado, ambas ubicadas en Campus Amazcala ya que, sin su apoyo, este trabajo no hubiera sido posible. Al grupo PSPB, quienes no sólo me han apoyado académicamente sino personalmente con su amistad. De todas y todos he aprendido mucho y vaya que son admirables. A mi amiga, compañera de doctorado y comadre Luz, por su guía, apoyo, acompañamiento y amistad que siempre me brinda. Este camino no hubiera sido lo mismo sin ti, eres alguien que siempre admiraré, respetaré y querré mucho. A Edgar, quien me ayudó a contar y alimentar larvas, no hay palabras para agradecerte. Siempre ha estado para mí, escuchándome en todas mis aventuras, riendo conmigo y siendo mi porrista personal. Te amo. A mi familia (especialmente a mi papá Juan Germán, mi mami Sandra, mis hermanitos Juan Germán y Emilio, mi abue Aurelia, Cuco y la Chiquita) quienes junto a Edgar y mis amigas y amigos son mi motivación. No basta decirles que agradezco profundamente su apoyo, comprensión y paciencia en este recorrido que decidí realizar. Gracias por siempre motivarme a salir adelante, a confiar en mí. Este trabajo y lo que derive de él es igual de mío como de ustedes. Estén seguros de que, sin su apoyo esto que están leyendo no existiría. Finalmente, a mí, por todas las noches de trabajo que dieron fruto, por cuidarme y por priorizarme más.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	3
SUMMARY.....	4
DEDICATORIA	5
AGRADECIMIENTOS.....	6
ÍNDICE DE TABLAS	11
ÍNDICE DE FIGURAS.....	13
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. JUSTIFICACIÓN.....	4
1.2. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA	5
2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	6
2.1. BIORREFINERÍAS	6
2.2. PROCESOS DE CONVERSIÓN DE RESIDUOS ORGÁNICOS	10
2.2.1. COMBUSTIÓN.....	10
2.2.2. PIRÓLISIS	11
2.2.3. GASIFICACIÓN.....	11
2.2.4. FERMENTACIÓN	12
2.2.5. DIGESTIÓN ANAERÓBICA	13
2.2.6. TRANSESTERIFICACIÓN.....	14
2.2.7. MICROALGAS.....	14
2.2.8. COMPOSTEO	15
2.2.9. TRATAMIENTO CON INSECTOS	15
2.2.9.1. MOSCA SOLDADO	15
3. HIPÓTESIS.....	19
4. OBJETIVOS.....	19
4.1. OBJETIVO GENERAL.....	19
4.2. OBJETIVOS PARTICULARES	20
5. METODOLOGÍA.....	20
5.1. DIAGRAMA DE FLUJO DE LA METODOLOGÍA.....	20

5.2. DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES ÓPTIMAS DEL MEDIO DE CRIANZA QUE CONTENGA SUERO DE QUESO PARA EL CRECIMIENTO DE LARVAS DE MOSCA SOLDADO.	22
5.2.1. OBTENCIÓN DE INSUMOS	22
5.2.1.1. SUERO DE QUESO	22
5.2.1.2. LARVAS DE MOSCA SOLDADO.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
5.2.2. PRUEBA PRELIMINAR DE ALIMENTACIÓN	23
5.2.2.1. ANÁLISIS DEL SUERO DE QUESO.....	24
5.2.2.2. ANÁLISIS PROXIMAL DE LAS DIETAS Y LARVAS OBTENIDAS	24
5.2.2.3. ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS EN CG-MS.....	24
5.2.2.4. ANÁLISIS DEL CRECIMIENTO DE LAS LARVAS.....	25
5.2.3. PRUEBA DE CANTIDAD MÁXIMA DE SUERO A DEGRADAR	27
5.2.4. PRUEBA DE CONDICIONES ÓPTIMAS DEL SUERO PARA CRECIMIENTO Y GENERACIÓN DE PRODUCTOS DE INTERÉS EN BSFL	28
5.3. OBTENCIÓN Y PRUEBA DEL EXTRACTO ANTIMICROBIANO DE LA LARVA DE MOSCA SOLDADO EN ESCALA LABORATORIO.	30
5.3.1. PREPARACIÓN DE EXTRACTOS.....	30
5.3.2. DETERMINACIÓN DE LOS COMPUESTOS CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA.....	30
5.3.2.1. DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS.....	30
5.3.2.2. DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES.....	31
5.3.2.3. DETERMINACIÓN DE TANINOS	31
5.3.2.4. DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	31
5.3.2.4.1. ANÁLISIS DPPH (DIFENIL-PICRIL-HIDRAZIL).....	31
5.3.2.4.2. ANÁLISIS ABTS (AZINO-BIS-ETHYLBENZTHIAZOLINE-SULPHONIC ACID).....	31
5.3.3. COMPARACIÓN DE LOS COMPUESTOS CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA	32
5.3.4. EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA	33
5.3.4.1. ACTIVACIÓN DE CEPAS MICROBIANAS.	33
5.3.4.2. EXTRACCIÓN CON SOLVENTES.....	33
5.3.4.3. MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCO.	33

5.4.	OBTENCIÓN DEL BIODIÉSEL A PARTIR DE LAS GRASAS DE LA LARVA DE MOSCA SOLDADO EN ESCALA LABORATORIO.	34
5.5.	SÍNTESIS DE LA BIORREFINERÍA PROPUESTA CON DATOS EXPERIMENTALES.	35
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
6.1.	DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES ÓPTIMAS DEL MEDIO DE CRIANZA QUE CONTIENE SUERO DE QUESO PARA EL CRECIMIENTO DE LARVAS DE MOSCA SOLDADO	37
6.1.1.	PRUEBA PRELIMINAR DE ALIMENTACIÓN	37
6.1.1.1.	ANÁLISIS DEL SUERO DE QUESO.....	37
6.1.1.2.	ANÁLISIS PROXIMAL DE LAS DIETAS Y LARVAS OBTENIDAS	38
6.1.1.3.	ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS EN CG-MS.....	40
6.1.1.4.	ANÁLISIS DEL CRECIMIENTO DE LAS LARVAS.....	41
6.1.1.5.	ANÁLISIS DE FRASS GENERADO DE LA CRÍA DE LAS LARVAS	43
6.1.2.	PRUEBA DE CANTIDAD MÁXIMA DE SUERO A DEGRADAR	44
6.1.2.1.	DIETAS EXPERIMENTALES	44
6.1.2.2.	BIOMASA DE LARVAS.....	45
6.1.2.3.	CÁLCULOS Y CRECIMIENTO DE LARVAS.....	46
6.1.3.	PRUEBA DE CONDICIONES ÓPTIMAS DEL SUERO PARA CRECIMIENTO Y GENERACIÓN DE PRODUCTOS DE INTERÉS EN BSFL	49
6.1.3.1.	ANÁLISIS DEL SUERO DE QUESO DURANTE LA EXPERIMENTACIÓN.....	49
6.1.3.2.	CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE LAS LARVAS EN LOS TRATAMIENTOS PROPUESTOS	53
6.1.3.3.	ANÁLISIS PROXIMAL DE LAS LARVAS CRIADAS EN DIETAS EXPERIMENTALES	61
6.2.	OBTENCIÓN Y PRUEBA DEL EXTRACTO ANTIMICROBIANO DE LA LARVA DE MOSCA SOLDADO EN ESCALA LABORATORIO.	67
6.2.1.	DETERMINACIÓN DE LOS COMPUESTOS CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA.....	67
6.2.2.	COMPARACIÓN DE LOS COMPUESTOS CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA	69
6.2.3.	EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA	70
6.2.3.1.	MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCO	70

6.3.	OBTENCIÓN DEL BIODIÉSEL A PARTIR DE LAS GRASAS DE LA LARVA DE MOSCA SOLDADO EN ESCALA LABORATORIO.	74
6.3.1.	TRANSESTERIFICACIÓN DE GRASA PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIÉSEL	74
6.4.	SÍNTESIS DE LA BIORREFINERÍA PROPUESTA CON DATOS EXPERIMENTALES .	76
7.	CONCLUSIONES	79
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80
	ANEXOS: PRÁCTICAS DE SEGURIDAD E HIGIENE.....	92

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. COMPOSICIÓN DE LARVA DE MOSCA SOLDADO CRIADA EN DIFERENTES SUSTRATOS (CENIZAS, PROTEÍNA Y GRASA SE EXPRESAN EN G/100 GRAMOS DE MUESTRA SECA).....	18
TABLA 2. DIETAS EXPERIMENTALES PROPUESTAS PARA LA DETERMINACIÓN MÁXIMA DE SUERO A DEGRADAR.....	27
TABLA 3. COMPOSICIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES.	28
TABLA 4. REFERENCIAS SOBRE COMPUESTOS CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA EN OTROS INSECTOS.....	32
TABLA 5. COMPOSICIÓN DEL SUERO DE QUESO EXPERIMENTAL Y REPORTADO.	37
TABLA 6. COMPOSICIÓN PROXIMAL DE LA DIETA ESTÁNDAR (DS) Y LA DIETA EXPERIMENTAL (DE) (% DE MATERIA SECA A MENOS QUE SE INDIQUE LO CONTRARIO)	39
TABLA 7. COMPOSICIÓN PROXIMAL (% DE MATERIA SECA) DE LARVAS CRIADAS EN DIFERENTES TIPOS DE RESIDUOS.....	40
TABLA 8. DESEMPEÑO DEL CRECIMIENTO LARVARIO Y EFICACIA DE LA REDUCCIÓN DE RESIDUOS (EN BASE A LA MATERIA HÚMEDA).....	42
TABLA 9. COMPOSICIÓN PROXIMAL DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES (% DE MATERIA SECA, SALVO QUE SE INDIQUE LO CONTRARIO).....	44
TABLA 10. COMPOSICIÓN PROXIMAL DE LA BIOMASA DE LARVAS (BL) OBTENIDA (% DE MATERIA SECA)	46
TABLA 11. DESEMPEÑO DEL CRECIMIENTO DE LAS LARVAS Y EFICIENCIA EN LA REDUCCIÓN DE RESIDUOS (BASE HÚMEDA).....	48
TABLA 12. COMPOSICIÓN PROXIMAL DE LA DIETA CONTROL Y LA DIETA EXPERIMENTAL (% DE MATERIA SECA A MENOS QUE SE INDIQUE LO CONTRARIO)	53
TABLA 13. PESO FINAL, LONGITUD Y ANCHO DE LA BIOMASA DE LAS LARVAS OBTENIDAS Y REPORTADAS.	56
TABLA 14. RENDIMIENTO DEL CRECIMIENTO DE LAS LARVAS Y EFICIENCIA DE CONVERSIÓN EN DIETAS EXPERIMENTALES.	59
TABLA 15. COMPOSICIÓN PROXIMAL (% DE MATERIA SECA) DE LARVAS CRIADAS CON DIETAS EXPERIMENTALES.....	62
TABLA 16. CONTENIDO DE ÁCIDOS GRASOS IDENTIFICADOS EN LAS DIETAS EXPERIMENTALES Y EN LAS LARVAS DE BIOMASA DE CONTROL (BASE SECA).....	65
TABLA 17. COMPUESTOS CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA EN LAS DIETAS EXPERIMENTALES Y EN LAS LARVAS DE BIOMASA DE CONTROL (BASE SECA).	68

TABLA 18. DIÁMETRO DE LOS HALOS OBTENIDOS.....	71
TABLA 19. COMPARACIÓN DE LOS HALOS OBTENIDOS CON LO REPORTADO POR EL COMITÉ EUROPEO SOBRE PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA.....	72
TABLA 20. RENDIMIENTO DEL BIODIÉSEL OBTENIDO A PARTIR DE LA GRASA DE LARVAS DE MOSCA SOLDADO CRIADAS EN SUERO SE QUESO Y DIETA GAINESVILLE CONTROL.	74

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE PROCESOS DE CONVERSIÓN TÉRMICOS Y BIOQUÍMICOS.....	2
FIGURA 2. CICLO DE VIDA DE LA MOSCA SOLDADO (<i>HERMETIA ILLUCENS</i>).	17
FIGURA 3. DIAGRAMA DE FLUJO DE LA METODOLOGÍA.	21
FIGURA 4. SUERO DE QUESO UTILIZADO.	22
FIGURA 5. LARVAS UTILIZADAS EN EL PROYECTO.....	23
FIGURA 6. ACOMODO DE LOS TRATAMIENTOS EN EL RACK.	27
FIGURA 7. ACOMODO DE LOS TRATAMIENTOS EN EL RACK.	29
FIGURA 8. ACOMODO DE LOS DISCOS CON EXTRACTOS PARA LA PRUEBA DE INHIBICIÓN..	34
FIGURA 9. PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LAS LARVAS CRIADAS EN SUERO DE QUESO. ...	41
FIGURA 10. PESO INICIAL Y FINAL DE BSFL PARA T80, T75 Y T70, RESPECTIVAMENTE..	46
FIGURA 11. LONGITUD Y ANCHO FINAL DE LARVAS PARA T80, T75 Y T70, RESPECTIVAMENTE.	47
FIGURA 12. ANÁLISIS DEL SUERO DE QUESO	51
FIGURA 13. AUMENTO DE PESO DE LAS LARVAS (MG) DURANTE LOS DÍAS DE EXPERIMENTACIÓN	54
FIGURA 14. PESO INICIAL Y FINAL (A), LONGITUD (B) Y ANCHURA (C) DE LAS BSFL UTILIZADAS EN ESTE TRABAJO.....	55
FIGURA 15. COMPOSICIÓN GENERAL DE LA BIOMASA LARVARIA OBTENIDA.	61
FIGURA 16. CEPAS UTILIZADAS PARA LA PRUEBA DEL ANTIMICROBIANO.	71
FIGURA 17. DIAGRAMA DE LA BIORREFINERÍA PROPUESTA.....	77

1. Introducción.

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), anualmente se desecha un tercio de los alimentos producidos a nivel mundial para el consumo humano, lo cual representa alrededor de 1,300 millones de toneladas (FAO, 2011). Estos residuos alimenticios son considerados como un problema, ya que, aunque hay estrategias para su tratamiento, se siguen generando en grandes cantidades. Cuando la materia orgánica llega entonces a los vertederos, se descompone y produce gases de efecto invernadero como el dióxido de carbono y metano, los cuales contribuyen al calentamiento global. Además, desde un punto de vista económico, su transporte, manejo y eliminación requiere del uso considerable de recursos, por lo que estos residuos representan una ventana de oportunidad para ser aprovechados (CCA, 2017). Particularmente, los residuos lácteos resultan interesantes ya que, casi el 20% de ellos, aproximadamente 150 millones de toneladas, fueron desechados en el año 2019 (FAOStat, 2021). La producción de 1 kilogramo de queso genera alrededor de 9 litros de suero (Charalambous y Vyrides, 2021). Este suero es un subproducto rico en nutrientes, por lo que su manejo es indispensable para evitar contaminación al ambiente. Además de su potencial contaminante, la cantidad que se genera hacen que su aprovechamiento sea una oportunidad para ser convertidos en productos de interés (Caltzontzin-Rabell et al., 2024).

Los residuos orgánicos como el suero de queso parecen ser alternativas de gran potencial, ya que tienen una amplia disponibilidad; adicionalmente, se cuenta con tecnología e infraestructura para su recolección de la cual pueden generarse combustibles y productos como los plásticos, químicos, solventes, ceras, fertilizantes, entre otros (Guo *et al.*, 2015; Situmorang *et al.*, 2019). Este aprovechamiento contribuye a la economía circular, la cual, como su nombre indica, busca usar de manera cerrada los recursos, en vez de un modo lineal. En esta economía se busca mantener los recursos en su vida útil el mayor tiempo posible lo

cual mantiene la sostenibilidad de los procesos en los cuales los residuos se generan (Nagarajan et al., 2020).

La transformación o tratamiento de residuos orgánicos puede llevarse a cabo mediante procesos térmicos, bioquímicos y biológicos. Dentro de los procesos térmicos se incluyen la combustión directa, pirólisis, gasificación y licuefacción, los cuales tienen como ventaja ser procesos sencillos para producir energía térmica y/o eléctrica, así como biocombustibles. En los procesos bioquímicos, se encuentra la fermentación y la digestión anaeróbica, los cuales pueden producir biocombustibles; sin embargo, en este tipo de procesos no es posible generar de manera directa energía térmica y/o eléctrica. La principal desventaja de los procesos térmicos y bioquímicos es que no permiten el aprovechamiento de la biomasa para generar un amplio espectro de productos de valor agregado (Figura 1) (Guo *et al.*, 2015). Para los efluentes lácteos, la digestión anaerobia es el proceso mayormente utilizado. Sin embargo, además de no degradar por completo el residuo, hay algunos retos como la inhibición por lípidos, así como las altas concentraciones de sólidos suspendidos, que pueden afectar negativamente el rendimiento de algunos filtros que los reactores requieren (Vlyssides *et al.*, 2012).

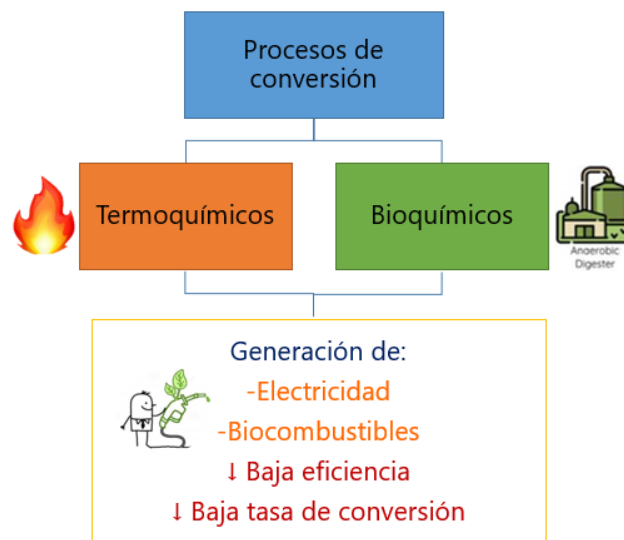


Figura 1. Ventajas y desventajas de procesos de conversión térmicos y bioquímicos.

Dentro de los procesos biológicos de conversión se incluyen las microalgas, hongos e insectos, los cuales pueden ser criados utilizando residuos como alimentos. Específicamente, los insectos se contemplan como una fuente de proteína y tienen la capacidad de degradar la biomasa; por otra parte, como resultado de su crecimiento generan biomasa que puede procesarse para obtener diversos productos. La mosca soldado (*Hermetia illucens*) es un insecto que ha cobrado interés ya que sus larvas han mostrado la capacidad para degradar diferentes residuos hasta en un 80%, entre los que se encuentran desechos de cocina, estiércol, entre otros (Abdel-Shafy y Mansour, 2018). Además, es rica en proteína y grasa en alimentos, así como para la producción de biocombustibles (Lalander *et al.*, 2019).

Aunque los procesos de conversión mencionados anteriormente (termoquímicos y bioquímicos) son técnicamente factibles, no todos son rentables desde el punto de vista financiero. Además, las tasas de conversión de residuos son relativamente bajas (Guo *et al.*, 2015); por ello, el tratamiento con insectos resulta prometedor, dado que posee una elevada tasa de conversión, y permite generar una biomasa que puede convertirse en productos de valor agregado, biocombustibles y bioenergía (Capellozza *et al.*, 2019). En este sentido, el aprovechamiento integral de los residuos, así como la diversificación de productos, son esenciales.

Un concepto que va de la mano con el procesamiento y aprovechamiento integral de residuos es el de la biorrefinería. Una biorrefinería puede definirse como un sistema complejo de tecnologías sostenibles para la explotación de biomasa (Kamm *et al.*, 1998); en dicho sistema se busca el completo aprovechamiento de la biomasa para obtener energía, combustibles y otros productos químicos (Ghatak, 2011). Este concepto es atractivo, ya que genera una mayor rentabilidad gracias a la diversificación de los productos generados.

De acuerdo con lo reportado en la literatura, se han propuesto procesos individuales para el aprovechamiento de suero de queso, con lo cual también se logra su disminución. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue el de, bajo un esquema de biorrefinería, obtener un producto de valor agregado y un biocombustible a partir de la cría de larva de mosca soldado en suero de queso.

1.1. Justificación

La población mundial está creciendo de manera constante, lo que conlleva importantes retos para garantizar el suministro de alimentos, energía y agua; adicionalmente, la producción de los combustibles fósiles está en declive, sus precios se vuelven volátiles e inciertos, y su excesivo uso ha originado el aumento en la concentración de gases de efecto invernadero, lo cual acentúa el cambio climático, así como la inseguridad alimentaria, energética y de agua. Además, debido a estas emisiones de dióxido de carbono, muchos países han creado políticas para apoyar nuevas alternativas energéticas (Moncada *et al.*, 2016).

El suero de queso tiene propiedades contaminantes significativas, y un manejo inadecuado puede causar salinización, contaminación y degradación del suelo, contaminación de aguas superficiales y agotamiento del oxígeno. Los tratamientos actuales para el suero incluyen almacenamiento en tanques o humedales, métodos anaeróbicos, fisicoquímicos y electroquímicos, los cuales, aunque no eliminan los contaminantes en su totalidad, se utilizan constantemente. Estos tratamientos presentan obstáculos como la presencia de materia orgánica, el uso de tierras en los humedales y la gran cantidad de lípidos que contienen hacen que se requieran más estudios para proporcionar alternativas a estos métodos para una mejor gestión y uso (Caltzontzin-Rabell *et al.*, 2024).

En este contexto, se ha observado un aumento en la brecha entre sustentabilidad ambiental y crecimiento económico; ante esta situación, se requieren tecnologías sustentables, así como la implementación de la economía circular, que ayuden a

disminuir esta situación. Entre estas tecnologías se encuentran las biorrefinerías, las cuales permiten generar biocombustibles, energía y productos con valor agregado a partir de fuentes alternativas a las fósiles, tales como residuos de cereal o maíz, bagazo de la caña, pastos, residuos agroindustriales o municipales entre otros (Nizami *et al.*, 2017).

La utilización de un proceso biológico como *Hermetia illucens* para el tratamiento de suero de queso es una innovación en la gestión de residuos lácteos. Aunque esta especie ha demostrado ser eficaz en la degradación de otros residuos orgánicos (Padmanabha *et al.*, 2023), su aplicación específica para el suero de queso no ha sido ampliamente explorada. Este enfoque no sólo ofrece una solución eficiente para la reducción de la carga contaminante del suero de queso, sino que también permite la producción de biomasa compuesta por moléculas de interés en un esquema de biorrefinería. Además, alinear este método con los principios de la economía circular promueve la sostenibilidad al maximizar el uso de recursos a través de la reducción, reutilización y reciclaje. Por lo tanto, esta investigación pionera tiene el potencial de transformar la gestión de residuos lácteos, aportando beneficios ambientales, económicos y sociales.

1.2. Descripción del problema

El manejo del suero de queso presenta varios desafíos ambientales y de salud pública que requieren soluciones efectivas y sostenibles para minimizar su impacto negativo en el medio ambiente (Asunis *et al.*, 2020). De las 145 millones de toneladas de suero que se producen globalmente cada año, sólo el 60% se usa, el resto se desecha (Lavelli y Beccalli, 2022). Una práctica común es el almacenamiento en tanques o su disposición en humedales, donde el suero puede liberar contaminantes al medio ambiente si no se maneja adecuadamente.

Este subproducto contiene altas concentraciones de materia orgánica, como lactosa (4-5 %), sales (0.5 %), grasas (0.5 %) y proteínas (0.6-1 %) (Lavelli y Beccalli, 2022);

además de una alta demanda química y biológica de oxígeno (Lappa *et al.*, 2019), lo que lo hace altamente contaminante si se descarga directamente en cuerpos de agua o suelos sin tratamiento previo, causando salinización de suelos y/o eutrofización.

El desecho de residuos orgánicos genera, a nivel global, pérdidas anuales por aproximadamente \$750 mil millones de dólares (Dahiya *et al.*, 2018). Tan sólo en México se producen al año aproximadamente 76 millones de toneladas de residuos orgánicos, de las cuales el 79% corresponde a residuos del cultivo y cosecha, y el otro 21% a restos de la agroindustria (Carrillo-Nieves *et al.*, 2019). Si bien, no hay un dato específico para las pérdidas por suero de queso, desde un punto de vista económico, las pérdidas y residuos alimenticios le cuestan alrededor de 680 mil millones de dólares a los países industrializados, y 310 mil millones a países en desarrollo; en comparación, en América del Norte y Europa se generan per cápita entre 95-115 kg de residuos alimenticios al año, mientras que en África y Asia esta cifra oscila entre 6-11 kg (CCA, 2017). Tan sólo para 2025 se prevé que los costos de la gestión de los residuos aumenten de 205, 400 millones de dólares al año a 375, 500 millones de dólares.

Por ello, se requieren establecer esquemas de procesamiento como las biorrefinerías que reduzcan la contaminación ambiental, al mismo tiempo que generen nuevos productos y bioenergía que cubran la demanda social y se obtengan beneficios económicos (Sperandio y Ferreira, 2019).

2. Fundamentación teórica

2.1. Biorrefinerías

El uso de la biomasa como una materia prima para producir múltiples productos se lleva a cabo mediante una biorrefinería, la cual, en concepto, es análoga a la petrorefinería, en la que se obtienen diversos productos, como gasolina y gas natural del petróleo, a partir de una misma materia prima.

Una biorrefinería puede definirse como una instalación en la que se convierte biomasa en bioenergía (eléctrica y/o calorífica), biocombustibles, y productos con valor agregado. La Agencia Internacional de Energía la define como el procesamiento sustentable de la biomasa en un espectro de productos (alimentos, químicos y materiales) y energía (combustibles o calor) comercializables (Sperandio y Ferreira, 2019). Una biorrefinería puede categorizarse con base en el producto generado, el proceso empleado, o bien la materia prima. Algunas se han propuesto para la conversión de biomasa cultivables; sin embargo, actualmente están cambiando a residuos generados (Venkata *et al.*, 2019). Se han definido también las biorrefinerías con base en la generación de materias primas, teniendo biorrefinerías de primera generación (cultivos energéticos o alimenticios), de segunda generación (biomasa lignocelulósica), y de tercera o cuarta generación (algas) (Ng *et al.*, 2017).

Un aspecto clave en el concepto de biorrefinería es el acceso a biomasa adecuada y de buen costo, que además sean sustentables. En las últimas décadas ha habido un mayor interés en el área de biorrefinería, enfocándose principalmente en el desarrollo efectivo de costos y procesos. Entre las ventajas que tiene una biorrefinería de este tipo es que incluye procesos sustentables, no existe competencia con la alimentación humana, y se pueden obtener un amplio rango de bioproductos y bioenergéticos. Como desventajas se incluyen el suministro de biomasa, así como la eficiencia en el pretratamiento, el escalamiento y la conversión de procesos. Es por esto, que la investigación actual se enfoca en desarrollar modelos avanzados que pueden utilizar un amplio rango de biomasa, que se integren los procesos y/o que produzcan una gran variedad de productos de valor agregado (Hassan *et al.*, 2019).

Ahora bien, la gran cantidad de energía y productos químicos que demanda la población mundial está forzando a cambiar la economía lineal a una bioeconomía circular. Esta bioeconomía demanda fuentes renovables que tengan un potencial para generar un espectro de productos como biocombustibles, químicos,

bioelectricidad, biomateriales, biofertilizantes, y alimento para animales. Al integrar estos procesos, se tiene la ventaja de utilizar efluentes orgánicos y recuperar productos, lo que lleva al desarrollo de una bioeconomía sustentable, y se les da un uso a los residuos. Una biorrefinería de residuos deberá ser capaz de lograr una ruta verde sostenible con un bajo impacto ambiental. Este tópico aborda, además, una bioeconomía futurista que todavía necesita optimización de procesos, integración eficiente, recuperación/separación de los productos y escalamiento (Dahiya *et al.*, 2018). Es por ello que el concepto de biorrefinerías se encuentra alineado al de bioeconomía circular.

De manera particular, las biorrefinerías de residuos orgánicos permiten resolver un problema de contaminación obteniendo un amplio espectro de productos de valor agregado, biocombustibles y energía. Estas biorrefinerías procesan algunos residuos como los alimenticios, agrícolas, de la industria pesquera, entre otros. En ellas se han obtenido diversos productos entre los que se encuentran el aceite propiónico, ácido láctico y fumárico, celulosa, ácido cítrico, ácido succínico, ácido oxálico, bioplásticos, bioetanol, hidrógeno, biogás, syngas, metano, biodiésel, bioaceite, quitina, quitosano, polifenoles, proteína, antocianinas, y hasta nanopartículas de hierro, zinc, oro y plata (Carmona-Cabello *et al.*, 2018).

Entre algunos residuos orgánicos se encuentra la Cassava, el cual es un cultivo rico en nutrientes que sirve para alimentación humana, animal y como insumo para la producción de papel, textiles, entre otros. Como consecuencia se genera una gran cantidad de residuos, los cuales utilizando la estrategia de una biorrefinería pueden producir bioetanol, proteínas, biomoléculas, ácidos orgánicos, hongos, pigmentos entre otros de una manera eficiente (Zhang *et al.*, 2016). Otro ejemplo son los residuos de la producción de aceite de oliva, de los cuales pueden obtenerse productos variados como energía, resinas, polímeros, compuestos aromáticos, fibras de carbono, xilitol, oligosacáridos, proteínas, manitol, azúcares solubles, fenoles, péptidos, fertilizantes, biogás, bioetanol, entre otros (Negro *et al.*, 2017). Por otra parte, a partir de los residuos del procesamiento del mango se pueden

obtener también diferentes productos como polifenoles, pectina, almidón, fibra, proteína y electricidad (Arora *et al.*, 2018).

En 2018, Demichelis *et al.* investigaron la factibilidad para producir ácido láctico y biogás a partir de residuos alimenticios a través de una biorrefinería. Los resultados muestran que la conversión de los residuos en un esquema de biorrefinería integrada contribuye a disminuir el uso energía, comparándolo con procesos individuales.

En México, en 2019, Díaz-Jiménez *et al.* reportaron que del procesamiento del Agave lechuguilla Torrey, que se utiliza para elaborar cuerdas, tapetes o bolsas, el residuo llamado Guishe puede dar lugar a diferentes productos; entre dichos productos se encuentran saponinas, fitoquímicos, aditivos de suelo, syngas, biocarbón, bioetanol, biogás, entre otros.

La inclusión del suero de queso en una biorrefinería ha sido descrita por dos autores. En un trabajo realizado por Kopsahelis *et al.* (2018), se describió una biorrefinería para los efluentes de vino y el suero de queso, ambos residuos agroindustriales. Los productos propuestos fueron etanol, antioxidantes, sales de tartrato, alimento para animales, aceite y concentrado de proteínas de suero. En este trabajo, se concluye que se requiere más investigación para extraer, con alta calidad, la mayor cantidad de productos posible, encontrar nuevos productos y optimizar el diseño de la biorrefinería.

En otro trabajo realizado por Hemalatha *et al.* (2019), se propuso el tratamiento de aguas residuales de la industria láctea dentro de un esquema de biorrefinería utilizando microalgas como tratamiento. Las microalgas tienen la capacidad de crecer rápidamente, al tiempo que se utilizan para eliminar nutrientes y acumular aceites. El efluente el crecimiento, la formación de metabolitos y la fijación de CO₂ en las microalgas, de las cuales se extrajeron los lípidos. En un segundo paso, la biomasa desgrasada se hidrolizó con ácido sulfúrico en un 30 % de azúcares

fermentables, como glucosa, fructosa, galactosa y manosa. Estos finalmente se fermentaron para generar bioetanol. Se propuso que el agua restante se use para regar plantas. Los autores destacan que, para tener un proceso más rentable, es necesario optimizar la extracción de aceite, las condiciones de hidrólisis y la fermentación.

Si bien ya existen biorrefinerías de suero de queso reportadas, no existe alguna que proponga el uso de insectos en ellas. A continuación, se describen los principales procesos de conversión que se utilizan en las biorrefinerías.

2.2. Procesos de conversión de residuos orgánicos

La conversión de residuos orgánicos es importante ya que se pueden obtener productos diversos y reducir el volumen de los residuos al mismo tiempo. Dependiendo de su composición, estos residuos pasarán por diferentes procesos para la obtención de energía, biocombustibles, o productos de valor agregado. Entre estos procesos se encuentran los procesos térmicos (combustión, pirólisis y gasificación), bioquímicos (fermentación, digestión anaeróbica y transesterificación), y biológicos (microalgas, composteo y tratamiento con insectos).

2.2.1. Combustión

La combustión consiste en un proceso exotérmico donde se oxida la biomasa (completa, en pedazos o pelletizada) en presencia de oxígeno (Hassan *et al.*, 2019). A 220-300 °C, la mayoría de los materiales secos orgánicos hacen ignición en el aire y causan una flama, liberando energía, calor y luz. La combustión comienza con una pirólisis cerca de los 260 °C, y genera carbón y humo; después el carbón se convierte en ceniza y el humo en flama (Guo *et al.*, 2015). Los procesos físicos más comunes de conversión de la biomasa son el rompimiento de la biomasa y su pelletización para su combustión (Liew *et al.*, 2014).

2.2.2. Pirólisis

La pirólisis es una reacción química fundamental que consiste en la descomposición de la biomasa en ausencia de aire y a altas temperaturas (entre 500-800 °C). Los productos que se pueden obtener en este proceso son biocarbón (residuo), bioaceite (aceite vapor condensado), y syngas (vapor no condensado). El bioaceite es una mezcla de compuestos alifáticos y aromáticos como alcoholes, aldehídos, ácidos, azúcares, ésteres, cetonas, fenólicos, hidrocarburos, entre otros (Kudakasseril *et al.*, 2013). Existen dos tipos de pirólisis, la lenta y la rápida, y ambas se refieren a la tasa de calentamiento de la biomasa. En la pirólisis lenta se calientan los residuos entre 300-600 °C por horas o días, obteniendo porcentajes de biocarbón, bioaceite y syngas de 35, 30 y 35 % de biomasa seca, respectivamente. La pirólisis rápida consiste en aumentar la temperatura a 500 °C por 2 segundos, y se obtiene un aproximado de 10-30, 50–70 y 15–20 % de biocarbón, bioaceite y syngas, respectivamente. En los procesos de pirólisis se prefieren materiales con menor contenido de nitrógeno, y mediante la manipulación de la temperatura, duración y oxígeno disponible se pueden optimizar uno o más de los tres productos (Guo *et al.*, 2015).

2.2.3. Gasificación

La gasificación consiste en la oxidación parcial de la biomasa con oxígeno controlado (Hassan *et al.*, 2019), y permite generar biocombustibles líquidos, electricidad y calor; además, logra una mejor conversión de la energía que los procesos de combustión. La biomasa se calienta rápidamente por encima de 700 °C en una cámara gasificadora (en presencia de oxígeno), y se quema parcialmente en un ambiente controlado (Guo *et al.*, 2015). Mientras mayor sea la temperatura, mayor será la cantidad de gas obtenido; sin embargo, su composición dependerá de la cantidad de oxígeno/aire, y el tipo de biomasa que se utilice (Ghatak, 2011). Este syngas que se genera contiene hidrógeno, monóxido de carbono y metano, y puede convertirse en hidrocarburos de cadena larga, combustibles listos para

usarse, ceras y naftas por medio de síntesis de Fischer-Tropsch y un catalizador como cobalto o hierro. La principal ventaja es que puede convertir toda la biomasa en combustibles o químicos sin requerir grandes cantidades de energía (Kudakasseril *et al.*, 2013).

2.2.4. Fermentación

La fermentación es un proceso que consiste la conversión de los azúcares simples de los residuos orgánicos (obtenidos previamente por medio de hidrólisis) en etanol, butanol, acetona, isobutanol, lípidos, entre otros por medio de microorganismos en ausencia de oxígeno (Hassan *et al.*, 2019). La hidrólisis debe realizarse, ya que las macromoléculas de azúcar deben romperse en moléculas de glucosa más pequeñas; para lograrlo, la materia prima debe contener entre 15-20% de almidón, lo cual se logra moliendo, mezclando con agua y procesando a punto de ebullición (110–120 °C por 2 horas). Este proceso requiere también de enzimas, amilasa (80–90 °C) para romper las moléculas de almidón en dextrina y oligosacáridos; éstos se hidrolizan por medio de la sacarificación que utiliza enzimas como pululanasa y glucoamilasa y las convierte en glucosa, maltosa e isomaltosa. Finalmente se enfría a 30 °C y se comienza con la fermentación (32 °C por 50 horas) (Guo *et al.*, 2015; Alalwan *et al.*, 2019). Como se mencionó, este proceso consta de una hidrólisis y la fermentación en sí; por lo que existen diferentes maneras de que se lleve a cabo, las cuales incluyen la Hidrólisis Separada y Fermentación (HSF), la Sacarificación y Fermentación Simultáneas (SSF), Sacarificación Simultánea y Co-Fermentación (SSCF), así como el Bioprocesamiento Consolidado (BPC). Cada proceso tiene sus ventajas; por ejemplo, la HSF puede optimizar tanto el proceso de hidrólisis como el de fermentación gracias a que se hacen por separado; a su vez la SSF tiene como beneficio la capacidad de generar etanol en menos tiempo, ya que ambas etapas suceden simultáneamente. La SSCF es análoga de la SSF ya que puede fermentar azúcares C6 y C5, y con esto obtener un mayor rendimiento. Por último, el BPC incluye la producción de celulasas para degradar, la hidrólisis de la biomasa pretratada y la fermentación de azúcares C6 y C5 en un sólo reactor, lo que reduce

la complejidad del proceso (Chandel *et al.*, 2018). Algunas desventajas en la HSF es que la fermentación puede verse obstaculizada cuando existen mezclas de azúcares o sustancias inhibidoras, lo cual sucede cuando el proceso se escala y requiere grandes cantidades de sustrato (Ghatak, 2011); es por esto que es importante conocer las diferentes maneras que existen para realizar una fermentación y obtener los mejores rendimientos posibles. En cuanto a los microorganismos se requiere que puedan metabolizar azúcares lignocelulósicos. Por ejemplo, uno de los microorganismos más usados *S. cerevisiae* no logra degradar xilosa (C5) pero sí su isómero D-xilulosa; por lo que empleando ingeniería genética es posible agregarle genes que le permitan degradar ambas y aumentar la producción de etanol (Chandel *et al.*, 2018).

2.2.5. Digestión anaeróbica

La digestión anaeróbica consiste en la degradación de la biomasa en ausencia de oxígeno para formar biogás y otros productos (Hassan *et al.*, 2019). Este proceso genera productos como metano, hidrógeno, ácidos grasos volátiles, y ácidos como el acético, propiónico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico. En la digestión se siguen una serie de etapas: la acidogénesis, acetogénesis, deshidrogenación y metanogénesis; éstas se logran gracias a diferentes bacterias hidrolíticas (Bacteriocides, Clostridia, Bifidobacteria, Streptococci y Enterobacteriaceae que degradan moléculas grandes en simples), acidogénicas (que convierten las moléculas simples en dióxido de carbono, hidrógeno, amonio y ácidos orgánicos), acetogénicas (que convierten los ácidos orgánicos en acético, hidrógeno, amonio y dióxido de carbono), y metanogénicas (que descomponen el ácido acético en metano y dióxido de carbono). El biogás crudo consiste entre 60-65% de metano, 30-35% de dióxido de carbono y el resto suele ser vapor de agua e hidrógeno; una vez que se retiran estas impurezas se puede utilizar como un sustituto de gas natural (Guo *et al.*, 2015). Este proceso suele ser uno de los procesos finales después de la destilación (Ghatak, 2011).

2.2.6. Transesterificación

La transesterificación de aceites vegetales con alcohol es un método que está muy desarrollado y parece prometedor, ya que, además de biodiésel, genera glicerina como subproducto. Este método consiste en reemplazar el grupo orgánico de un éster con el grupo orgánico de un alcohol, y requiere un catalizador que acelere la reacción. Algunas variables como la temperatura, tiempo y presión, además de la molaridad del alcohol y aceite, catalizador, concentración e intensidad de mezclado pueden afectar este proceso (Alalwan *et al.*, 2019). El aceite a utilizar no debe contener agua ni partículas; después de 2 horas de transesterificación a 50-60 °C en agitación, se deja reposar a temperatura ambiente entre 2-12 horas. El sobrenadante con el biodiésel crudo se separa de la capa de glicerina, el cual se deberá limpiar por medio de lavados con agua y posterior secado, ya que contiene pequeñas cantidades de metanol, jabón y mono/di/triglicéridos (Guo *et al.*, 2015).

2.2.7. Microalgas

El uso de microalgas como tratamiento y biorremediación de aguas residuales ha cobrado relevancia gracias a su habilidad para producir proteínas, carbohidratos y biomasa de tercera generación; esto último debido a los lípidos que acumulan para la producción de biodiésel, a partir de nutrientes que se encuentran en los desechos. Sin embargo, la principal desventaja que tienen las microalgas es que su producción y cosecha aún son costosos; por lo que el uso de medios de cultivo con bajo costo requiere ser investigado para optimizar este proceso (Ghobrini *et al.*, 2018; Daneshvar *et al.*, 2019).

Gramegna *et al.*, 2020 reportaron el uso de cuatro cepas de microalgas de la especie *Chlorella* para tratar aguas residuales de lácteos, y la obtención de metabolitos usados en cosméticos o fármacos, colorantes y suplementos. Su uso logró disminuir los costos del tratamiento de estas aguas además de aumentar la

acumulación de lípidos en las microalgas, lo que promete ser de utilidad al momento de proponer su uso en esquemas de biorrefinería.

2.2.8. Composteo

El composteo de residuos se refiere a la degradación de la materia orgánica utilizando microorganismos tanto aerobios como anaerobios (CCA, 2017). Como productos de este proceso se encuentran humus con ácidos húmicos y fúlvicos que son sustancias asimilables por las plantas, y se utilizan en vez de fertilizantes químicos.

2.2.9. Tratamiento con insectos

El tratamiento con insectos utiliza organismos como larvas para convertir biomásas como residuos orgánicos en biomasa larval, la cual es rica en moléculas como proteína y lípidos, ayudando a recuperar nutrientes de los residuos orgánicos (Rehman *et al.*, 2017). Además, de acuerdo con la literatura se observa que aún hace falta investigar más sobre el diseño de un esquema de biorrefinería con insectos (Giroto y Cossu, 2019).

2.2.9.1. Mosca soldado

Hermetia illucens, o mosca soldado negra, es un insecto de la familia Stratiomyidae. Este insecto habita comúnmente en las regiones tropicales y subtropicales del mundo, ya que su temperatura óptima de desarrollo está entre los 24-30 °C con una humedad entre el 60-90%. La cría de esta mosca requiere un lugar con sombra, y el alimento donde se críen deberá tener un tamaño de partícula pequeño o líquido para facilitar su ingestión (Dortmans *et al.*, 2017).

Las larvas de esta mosca son de interés por su habilidad para digerir residuos y convertirlos en biomasa (Abdel-Shafy y Mansour, 2018). Dichas larvas se componen principalmente de un 40% de proteína y un 30% grasa, lo que la hace de interés

como fuente de proteína y grasa en alimentos, así como para la producción de biocombustibles (Lalander *et al.*, 2019); es importante mencionar que estos porcentajes varían en función del sustrato donde se críen las larvas (Newton, 2004). Cabe destacar que este insecto no propaga bacterias o enfermedades, por lo que puede crecer en residuos sin representar un riesgo (Newton, 2005; Feng *et al.*, 2019), además que inhiben el crecimiento de otras moscas. Los ciclos de vida de esta mosca son cortos, y esta es una de las razones de interés para su producción, ya que maximizan la eficiencia de degradación y minimizan costos (Park, 2015).

En la literatura se ha reportado el efecto antibacteriano del extracto metanólico de la larva de mosca soldado (Choi *et al.*, 2012), péptidos con actividad antimicrobiana contra bacterias Gram positivas a partir de larvas inmunizadas (Park *et al.*, 2015); adicionalmente, la larva de mosca contiene dos tipos de quinina (Waśko *et al.*, 2016). También poseen altas actividades enzimáticas (amilasas, lipasas y proteasas) en sus glándulas salivales e intestino, lo cual les permite degradar u alimentarse de diferentes sustratos a diferencia de otras moscas o insectos (Kim *et al.*, 2011).

Las larvas requieren de grandes cantidades de sustrato después de eclosionar, por lo que las hembras ovopositan en materia orgánica en descomposición como frutas o gallinaza, lo cual asegurará la fuente de alimento (Dortsman *et al.*, 2017). Conforme la mosca cumple su ciclo va cambiando sus hábitos alimenticios. Por ejemplo, una larva consume entre 25 y 500 mg de materia fresca y húmeda por día, y cuando inicia la etapa de prepupa, la larva vacía su tracto digestivo. Cuando se convierte en adulto, la larva pierde el orificio bucal y los órganos digestivos por lo que ya no puede alimentarse, y obtiene la energía de la grasa almacenada de su etapa larval (Park, 2015). El ciclo de vida de la mosca soldado se presenta en la Figura 2. El ciclo comienza cuando la hembra ovoposita alrededor de 500 huevos (de aproximadamente 1 mm de longitud) en un lugar seco y cerca de materia en descomposición (Díclaro *et al.*, 2009).



Figura 2. Ciclo de vida de la mosca soldado (*Hermetia illucens*).

Aproximadamente 4 días después las larvas eclosionarán y buscarán el alimento en descomposición. Dos semanas después, llegarán a la madurez si las condiciones ambientales fueron las adecuadas (pueden extenderse hasta 6 meses si las condiciones son hostiles). Las larvas terminarán con un largo de aproximadamente 27 mm y 6 mm de ancho (Newton, 2005). En este periodo se dedicarán a almacenar proteína y grasa para poder pasar a la etapa de pupa. Durante la transformación a prepupa, la larva reemplazará sus partes bucales con una estructura en forma de gancho, la cual usará para moverse lejos del alimento a un lugar seco. La etapa de pupa comienza cuando las prepupas migran a un lugar seco y protegido, y el exoesqueleto se oscurece (Dortsman *et al.*, 2017). Dos semanas después emergerá un adulto listo para encontrar pareja y repetir el ciclo (Park, 2015).

Como puede verse en la Tabla 1, la composición de larvas y prepupas de la mosca soldado dependerá del sustrato en el cual fueron criadas; sin embargo, de manera general se sabe que tienen un alto contenido de proteína y grasa (St-Hilaire *et al.*, 2007; Zheng *et al.*, 2012a). Cuando las larvas son alimentadas con dietas ricas en

carbohidratos y grasas, su contenido graso aumenta significativamente. Esta variabilidad en la composición nutricional de las larvas según su alimentación permite optimizar su uso para diferentes aplicaciones industriales, destacando la importancia de la elección de la dieta para alcanzar los objetivos específicos del proceso de biorrefinería.

Tabla 1. Composición de larva de mosca soldado criada en diferentes sustratos (cenizas, proteína y grasa se expresan en g/100 gramos de muestra seca).

Sustrato	% Materia Seca	Cenizas	Proteína	Grasa	Autor
Pollinaza	-	-	47.0	17.7	Xiao <i>et al.</i> , 2018
Residuos de vegetales	-	11.40	45.20	15.86	Bruni <i>et al.</i> , 2018
Medio basado en plantas	31.1	-	10.8	-	Liland <i>et al.</i> , 2017
Alga café	30.0	-	7.4	-	
50-50 (Medio y alga café)	28.2	-	4.5	-	
Alimento de pollos Digerido de biogás (mezcla de zanahoria, chícharo, apio y salsifí)	38.7 ± 0.8	10.0	41.2	33.6	Spranghers <i>et al.</i> , 2017
Desecho de frutas y vegetales	38.6 ± 2.9	19.7	42.2	21.8	
Desecho de restaurante (papas, arroz, pasta y vegetales)	41.0 ± 1.0	9.6	39.9	37.1	
Residuo de vegetales	38.1 ± 0.9	2.7	43.1	38.6	Renna <i>et al.</i> , 2017
Hojas de plátano y heno	-	7.12	55.34	17.97	
Cereales, desecho peces y levadura	-	13.9	43.5	16.7	Katya <i>et al.</i> , 2017
No especificado	-	11.65	41.6	23.24	Devic <i>et al.</i> , 2017
No especificado	-	7.11	55.31	17.94	Borgogno <i>et al.</i> , 2017
No especificado	30.0 ± 1.2	-	31.7 ± 0.5	21.1 ± 0.7	Bußler <i>et al.</i> , 2016
Residuos orgánicos	-	10.3	52.2	25.5	Lock <i>et al.</i> , 2016

Residuos orgánicos	-	10.2	58.3	17.0	
Mezcla de cereales	-	-	36.9	34.3	M. De Marco <i>et al.</i> , 2015
Mezcla de cereales	30.2 ± 0.86	13.5 ± 0.83	37.2 ± 0.68	30.8 ± 1.19	
Jarabes de cebada, maíz, trigo y azúcar	30.0 ± 1.03	4.8 ± 0.17	44.6 ± 0.63	38.6 ± 3.02	Tschirner M. y Simon A. 2015
Pulpa seca de remolacha azucarera	17.9 ± 1.19	22.9 ± 1.34	52.3 ± 1.67	3.4 ± 1.04	

Con base en lo presentado anteriormente, el suero de queso es un subproducto que, si bien es tratado, aún faltan más investigaciones para su aprovechamiento. Las larvas de mosca soldado contienen a su vez, moléculas de interés como compuestos antimicrobianos, lípidos y proteína que pueden recuperarse como productos de valor agregado y biocombustibles. Por ello, en este trabajo se propone la síntesis de una biorrefinería para el aprovechamiento de residuos orgánicos, específicamente con suero de queso y en la cual se obtenga al menos un producto de valor agregado y un biocombustible, considerando como pretratamiento la cría de la mosca soldado.

3. Hipótesis

El suero de queso, proveniente de la fabricación de quesos de vaca, puede ser tratado en un esquema de biorrefinería utilizando larvas de mosca soldado, lo que permite la obtención de un extracto antimicrobiano y biodiésel.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

Desarrollar una metodología para aprovechar suero de queso proveniente de la fabricación de quesos de vaca, mediante un esquema de biorrefinería, en un

extracto antimicrobiano y biodiésel, utilizando como tratamiento la cría de mosca soldado.

4.2. Objetivos particulares

- Determinar las condiciones ambientales óptimas del medio de crianza que contenga suero de queso para el crecimiento de larvas de mosca soldado.
- Obtener y probar el extracto antimicrobiano de la larva de mosca soldado en escala laboratorio.
- Obtener biodiésel a partir de la grasa de la larva de mosca soldado en escala laboratorio.
- Síntesis conceptual de la biorrefinería propuesta con datos experimentales.

5. Metodología

5.1. Diagrama de flujo de la metodología

La Figura 3 muestra, de forma esquemática, la metodología que se siguió para cumplir los objetivos particulares. En las siguientes secciones, se describe de forma detallada cada uno de los puntos, así como los reactivos, materiales y métodos utilizados.

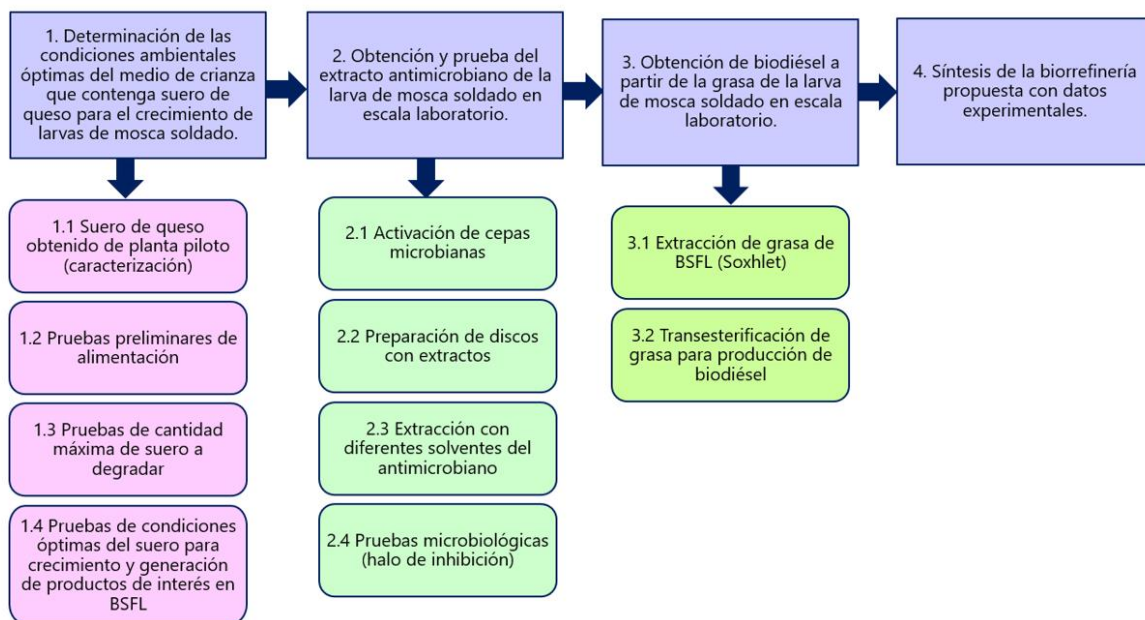


Figura 3. Diagrama de flujo de la metodología.

5.2. Determinación de las condiciones ambientales óptimas del medio de crianza que contenga suero de queso para el crecimiento de larvas de mosca soldado.

5.2.1. Obtención de insumos

5.2.1.1. Suero de queso

El suero de queso (Figura 4) se obtuvo de la planta piloto de lácteos de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro (El Marqués, Querétaro, México) con una capacidad de producción de suero de aproximadamente 450 litros semanales.



Figura 4. Suero de queso utilizado.

5.2.1.2. Larvas de mosca soldado

En este trabajo se utilizaron larvas de mosca soldado de cinco días de edad (Figura 5) provenientes de una planta piloto de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro (El Marqués, Querétaro, México) con una capacidad de producción de 50 kilos de larvas secas semanalmente.



Figura 5. Larvas utilizadas en el proyecto.

5.2.2. Prueba preliminar de alimentación

Para conocer si las larvas eran capaces de alimentarse del residuo seleccionado (suero de queso) se realizó una prueba preliminar de alimentación. La prueba consistió en modificar la dieta estándar de las larvas (dieta Gainesville: 70% de agua y un 30% de una mezcla de salvado, maíz y alimento para conejos), sustituyendo el agua utilizada por el suero de queso. La dieta experimental consistió en 70% de suero de queso y 30% de la mezcla de granos durante 11 días. El montaje consistió en tres recipientes de plástico (34.6 cm x 21 cm x 12.4 cm) colocados de forma aleatoria en un cuarto con una temperatura continua de 24-30 °C (Dortsman *et al.*, 2017), cada uno de ellos con 1,500 larvas (0.016 g y 5 días de edad).

La dieta se administró cada dos días con una tasa de alimentación de 0.18 g de base húmeda larva⁻¹día⁻¹ (Capellozza *et al.*, 2019). El onceavo día, las larvas se separaron del residuo con la ayuda de tamices, se pesaron ambos y se colocaron en bolsas previamente etiquetadas. Las larvas fueron colocadas en un congelador (-20 °C) para su muerte donde permanecieron hasta su posterior análisis. Los resultados se expresaron como medias \pm desviación estándar. Los análisis se llevaron a cabo atendiendo las prácticas de seguridad e higiene descritas en el Anexo A.

5.2.2.1. Análisis del suero de queso

Se determinaron los sólidos no grasos, la densidad, la conductividad, el punto de congelación, las sales, la grasa, la proteína y la lactosa en el suero del queso utilizando un equipo Lactoscan Milk Analyzer (Gharibi *et al.*, 2020). La temperatura y el pH se midieron con un Pen Meter Ohaus Serie ST. La acidez se determinó por valoración con NaOH (0.1 N) utilizando fenolftaleína (1% v/v) como indicador (Pereira *et al.*, 2016).

5.2.2.2. Análisis proximal de las dietas y larvas obtenidas

Las muestras de alimento se secaron a 100 °C durante 48 h y la biomasa de larvas se secó a 65 °C durante 72 h. Posteriormente, las muestras se molieron antes del análisis proximal, el cual se realizó por triplicado. Los análisis se llevaron a cabo atendiendo las prácticas de seguridad e higiene descritas en el Anexo A.

Los análisis de humedad y cenizas se realizaron por métodos gravimétricos y la estimación de carbohidratos se llevó a cabo por el método de antrona (AOAC, 2000). Los lípidos se extrajeron con un microondas Anton Paar Multiwave Pro SOLV MF100 utilizando el método 3546 de la Agencia de Protección Medioambiental de EE. UU. (EPA) y acetona (99.8%): hexano (98.5%) (1:29 v/v) como disolventes y su cantidad se calculó con el método descrito por la AOAC (2000). El contenido de proteína total se determinó utilizando el kit de proteína total, ensayo de proteína Micro Lowry Sigma-Aldrich (Miron *et al.*, 2019), y las calorías se determinaron utilizando un calorímetro Anton Parr 6200 Isoperibólico (Jin *et al.*, 2021).

5.2.2.3. Análisis de ácidos grasos en CG-MS

Para el análisis de ácidos grasos se prepararon ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) a partir del aceite de las larvas y de su residuo (FRASS). Se realizó una transmetilación ácido-básica pesando 50 mg de las muestras molidas a las que se añadieron 400 µl de NaOH (1.25M en metanol). La mezcla se agitó durante 1 min y

después se sonicó durante 5 min a 40 kHz. A continuación, se añadieron 400 µl de H₂SO₄ (1.75 M en metanol), se agitó de nuevo durante 1 minuto y se sonicó durante 5 minutos. Por último, se añadieron 800 µl de hexanos, se agitó durante 30 segundos y la mezcla se centrifugó a 10,000 g durante 5 min. Se recogieron los sobrenadantes y se inyectó 1 µl de cada muestra en un cromatógrafo de gases (GC) Agilent serie 7890A con una columna capilar HP-88 (30 m × 0.25 mm de diámetro interior × 0.25 µm) acoplada a un detector de espectrómetro de masas (MS) de cuadrupolo simple (Agilent 5975C). El flujo de helio (gas portador) fue de 1 ml min⁻¹ y la temperatura del inyector se fijó en 250 °C en split 1:10. El contenido y el componente de los FAMEs se realizó por comparación con una mezcla estándar Supelco® 37 Component FAME Mix, y el procesamiento de los datos se llevó a cabo utilizando el software Chemstation (Agilent Technologies).

5.2.2.4. Análisis del crecimiento de las larvas

Se registró el peso de 300 larvas cada vez antes de alimentarlas. Tanto el total de larvas como el total de material residual (FRASS) se pesaron al final de los experimentos. Para evaluar la tasa de consumo de suero de queso, se calcularon el índice de reducción de residuos (WRI) (Ecuación 1) y la degradación global (D) (Ecuación 2). La eficiencia de conversión del lactosuero en biomasa larvaria se calculó mediante la eficiencia de conversión del alimento digerido (ECD) (Ecuación 3). La tasa de crecimiento de las larvas (GR) (Ecuación 4) también se determinó utilizando las ecuaciones de Diener et al. (2009).

$$WRI = \frac{W - \frac{R}{W}}{\text{días de experimento}} \times 100 \quad (\text{Ec.1})$$

donde:

W= cantidad total de alimento suministrado, g

R= cantidad residual, g

$$D = \frac{W-R}{W} \quad (\text{Ec.2})$$

donde:

W= cantidad total de alimento suministrado, g

R= cantidad residual, g

$$ECD = \frac{B}{W-R} \quad (\text{Ec. 3})$$

donde:

B = biomasa larvas, g

W = cantidad total de alimento suministrado, g

R= cantidad residual, g

$$GR = \frac{FW-IW}{\text{días de experimento}} \quad (\text{Ec. 4})$$

donde:

FW = peso final, g

IW = peso inicial, g

5.2.3. Prueba de cantidad máxima de suero a degradar

Para conocer la mayor cantidad de suero que las larvas pueden degradar se estudió el efecto de diferentes cantidades este residuo sobre su crecimiento y composición. La prueba consistió en la preparación de tres dietas experimentales (T70, T75 y T80) como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Dietas experimentales propuestas para la determinación máxima de suero a degradar.

Dieta experimental	Suero de queso (g/kg)	Dieta Gainesville (g/kg)
T80	800	200
T75	750	250
T70	700	300

El montaje y desmontaje se llevaron a cabo de acuerdo con lo descrito en la sección 5.2.2. Cada réplica consistió en un recipiente de plástico, 1,500 larvas y 1.0 kg de su respectivo tratamiento de dieta experimental, las cuales fueron acomodadas mediante un diagrama de bloques al azar (Figura 6). Se eligió este diseño para disminuir el efecto que la ubicación del calentador o humidificador pudieran tener en acomodo de las cajas en el rack.

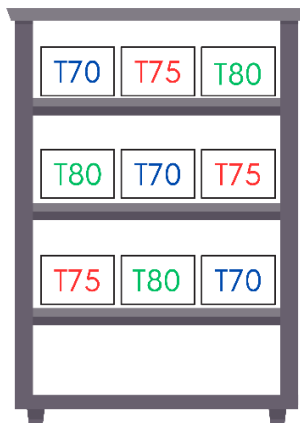


Figura 6. Acomodo de los tratamientos en el rack.

Las dietas experimentales se prepararon en fresco y se administraron cada dos días durante once días. El análisis del suero se realizó de acuerdo con lo descrito en la sección 5.2.2.1. Para el análisis de las dietas experimentales, así como de las larvas y residuos se siguió la metodología descrita en la sección 5.2.2.2. Para el análisis del crecimiento de las larvas se siguió de igual manera, la metodología descrita en la sección 5.2.2.4. Los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar. Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía y se efectuó la prueba de Tukey. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

5.2.4. Prueba de condiciones óptimas del suero para crecimiento y generación de productos de interés en BSFL

Para conocer las condiciones óptimas del suero para el crecimiento y generación de productos de interés en las larvas se realizó una prueba con suero con diferentes características. La prueba consistió en la preparación de cuatro dietas experimentales (T1, T2, T3 y T4) y un control, como se muestra en la Tabla 3. La proporción utilizada fue la seleccionada con base en los resultados obtenidos de la prueba descrita en la sección 5.2.3.

Tabla 3. Composición y características de las dietas experimentales.

Dieta	Gainesville (%)	Suero de queso (%)	Agua (%)	Características del suero de queso
T1	25	75	0	Obtenido el día de su generación y utilizado sin refrigeración.
T2	25	75	0	Obtenido el día de su generación y refrigerado. Se templó antes de dárselo a BSFL.
T3	25	75	0	Obtenido cada día de su generación y calentado hasta 38 °C antes de dárselo a BSFL.
T4	25	75	0	Obtenido cada día de su generación
Control	30	0	70	-

T1: dieta experimental 1, T2: dieta experimental 2, T3: dieta experimental 3, T4: dieta experimental 4, Control: dieta control.

El montaje y desmontaje se llevaron a cabo de acuerdo con lo descrito en la sección 5.2.2. Cada réplica consistió en un recipiente de plástico, 1,500 larvas y 1.0 kg de su respectivo tratamiento de dieta experimental las cuales fueron acomodadas mediante un diagrama de bloques al azar (Figura 7). Se eligió este diseño para disminuir el efecto que la ubicación del calentador o humidificador pudieran tener en acomodo de las cajas en el rack.



Figura 7. Acomodo de los tratamientos en el rack.

Las dietas experimentales se prepararon en fresco, se calentaron con ayuda de una parrilla eléctrica y se administraron cada dos días durante once días. El análisis del suero se realizó de acuerdo con lo descrito en la sección 5.2.2.1. Para el análisis de las larvas y residuos se siguió la metodología descrita en la sección 5.2.2.2. Para el análisis del crecimiento de las larvas se siguió de igual manera, la metodología descrita en la sección 5.2.2.4. Los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar. Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía y se efectuó la prueba de Tukey. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

5.3. Obtención y prueba del extracto antimicrobiano de la larva de mosca soldado en escala laboratorio.

Una vez que se caracterizaron las larvas de mosca soldado obtenidas de la última prueba, se obtuvo y probó, a escala laboratorio, el extracto antimicrobiano de la larva con el tratamiento que resultó adecuado para la producción de moléculas de interés. Los análisis se llevaron a cabo atendiendo las prácticas de seguridad e higiene descritas en el Anexo A.

5.3.1. Preparación de extractos

Se pesaron 200 mg de muestra seca, los cuales fueron mezclados con 10 ml de metanol. La mezcla se sonicó por 30 min a temperatura ambiente y en condiciones de oscuridad. Posteriormente, los extractos se centrifugaron a 5,000 rpm durante 10 minutos a una temperatura de 4 °C. Se recuperó el sobrenadante en un tubo protegido por la luz, se selló y guardó en refrigeración para su uso inmediato (Cardador-Martínez *et al.* 2002).

5.3.2. Determinación de los compuestos con actividad biológica

Para evaluar si los extractos presentaban compuestos con actividad biológica de interés, se evaluaron compuestos fenólicos, flavonoides, taninos y actividad antioxidante; su determinación se presenta a continuación.

5.3.2.1. Determinación de compuestos fenólicos

Los fenoles totales se determinaron por el método Folin Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999). Se tomaron 40 ml de los extractos y se adicionaron 460 µl de H₂O destilada, 250 µl de folin y 1250 µl de Na₂CO₃. Se dejaron reposar en oscuridad durante 2 horas, y después se midieron a 760 nm en el multiscan. El contenido de compuestos fenólicos se expresó como miligramos de ácido gálico equivalente por gramo de muestra.

5.3.2.2. Determinación de flavonoides

La cuantificación se realizó mediante la metodología de Oomah *et al.* (2005). Se tomaron 50 µl de extracto metanólico y acuoso, y se le adicionaron 180 µl de metanol más 20 µl de solución 2-aminoeetildifenilborato al 1% en una microplaca de 96 pozos. Las muestras se midieron a 404 nm; el contenido de flavonoides se expresó como miligramos equivalentes de rutina por gramo de muestra.

5.3.2.3. Determinación de taninos

La cuantificación de taninos se realizó mediante el método descrito por Feregrino-Pérez *et al.* (2008). En una microplaca de 96 pozos se colocaron 50 µl de los extractos y se adicionaron 200 µl de la solución 1:1 de HCl 8%: C₈H₈O₃ (vainillina) 1%. Para el blanco se colocaron 50 µl de muestra más 200 µl de HCl 4%. Para cuantificar los taninos condensados se midió la absorbancia a 492 nm en un espectrofotómetro. El contenido de taninos se expresó como miligramos equivalentes de catequina por gramo de muestra.

5.3.2.4. Determinación de actividad antioxidante

5.3.2.4.1. Análisis DPPH (difenil-picril-hidrazilo)

Se siguió el método original de Brand-Williams (1995) modificado por Fukumoto y Mazza (2000), adaptándolo para su uso en microplaca. Se preparó el reactivo DPPH (difenil-picril-hidrazilo) con 20 µl de extracto metanólico más 200 µl de DPPH. Se leyó a una absorbancia de 520 nm cada 10 minutos por 90 minutos; la placa se mantuvo cubierta y en oscuridad entre cada lectura.

5.3.2.4.2. Análisis ABTS (azino-bis-ethylbenzthiazoline-sulphonic acid)

Se utilizó el método descrito por Nenadis *et al.* (2004) modificado para su uso en microplaca. Se realizó una curva de calibración previa. Las muestras se prepararon

con 230 μ l de etanol más 20 μ l de la muestra; los resultados se leyeron a una absorbancia 520 nm.

5.3.3. Comparación de los compuestos con actividad biológica

Los compuestos fenólicos, flavonoides, taninos y actividad antioxidante se compararon entre ellos. Los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar. Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía y se efectuó la prueba de Tukey. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$). Además, se compararon con lo reportado en la literatura para otros insectos, información que se concentra en la Tabla 4.

Tabla 4. Referencias sobre compuestos con actividad biológica en otros insectos.

Compuestos con actividad biológica	Insecto	Resultado	Referencia
Compuestos fenólicos	<i>Tenebrio molitor</i> y <i>Acheta domesticus</i>	0.3-5 g GAE/100 g extracto	Navarro del Hierro <i>et al.</i> , (2019)
	<i>Henicus whellani</i>	7.77 \pm 0.46 GAE	
	<i>Macrotermes facilger</i>	9.37 \pm 0.79 GAE	
Flavonoides	<i>Henicus whellani</i>	15.50 \pm 0.94 mEq/g	Kunatasa <i>et al.</i> , (2020)
	<i>Macrotermes facilger</i>	15.14 \pm 0.64 mEq/g	
Taninos	<i>Henicus whellani</i>	0.17 \pm 0.007 mEq/g	
	<i>Macrotermes facilger</i>	0.02 \pm 0.004 mEq/g	
Actividad antioxidante (DPPH)	<i>Tenebrio molitor</i>	57%	Navarro del Hierro <i>et al.</i> , (2019)
	<i>Acheta domesticus</i>	72%	
Actividad antioxidante (ABTS)	<i>Zophobas morio</i>	0.005 mg/ml	Jantzen <i>et al.</i> , (2019)
	<i>Locusta migratoria</i>	0.026 mg/ml	

5.3.4. Evaluación de actividad antimicrobiana

Para evaluar el efecto del extracto antimicrobiano obtenido, se utilizaron los microorganismos: *Salmonella entérica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Phytophthora capsici*, *Clavibacter* y *Listeria monocytogenes*. Los microorganismos se obtuvieron de la Facultad de Química, así como el Laboratorio de Nanocompositos y Metabolitos de la Universidad Autónoma de Querétaro.

5.3.4.1. Activación de cepas microbianas.

Las cepas de los microorganismos se activaron re-suspendiendo 1 ml del cultivo inactivo en 5 ml de medio LB fresco. Se incubaron a 27 °C por 24 horas, o hasta que se obtuvo una absorbancia entre 0.08 y 0.13 a 625 nm.

5.3.4.2. Extracción con solventes

Con base en lo reportado por Mohamed *et al.* (2021), donde se describió actividad antimicrobiana de extractos de larva de mosca soldado, se preparó un extracto con una concentración de 40 mg/ml. Para ello, se pesaron 400 mg de larva seca, los cuales fueron mezclados con 10 ml de agua, etanol y metanol. La mezcla se sonicó por 30 min a temperatura ambiente y en condiciones de oscuridad. Posteriormente, los extractos se centrifugaron a 5,000 rpm durante 10 minutos a una temperatura de 4 °C. Se recuperó el sobrenadante en un tubo protegido por la luz, se selló y guardó en refrigeración para su uso inmediato.

5.3.4.3. Método de difusión en disco.

El método de difusión se realizó mediante la técnica Kirby Bauer con modificaciones. Se inocularon 200 µl de las colonias en cajas Petri con agar Müller-Hinton. Después del vaciado en placa, se colocaron los discos de papel filtro impregnados con los extractos experimentales. Los discos fueron previamente esterilizados y después,

se les adicionaron 45 μ l de los extractos descritos en la Sección 5.3.4.2 acuoso, etanólico y metanólico. Como control positivo se utilizó clindamicina (200 μ l/ml) y como control negativo se utilizaron discos con agua estéril. Posteriormente las placas utilizadas se incubaron a 37 °C y se calculó el halo de inhibición midiendo el diámetro (usando el software ImageJ) de ésta después de 48 horas (Hudzicki, 2009; Choi y Jiang, 2014). Los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar. Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía y se efectuó la prueba de Tukey. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$). La Figura 8 muestra el acomodo de los discos en la caja Petri.

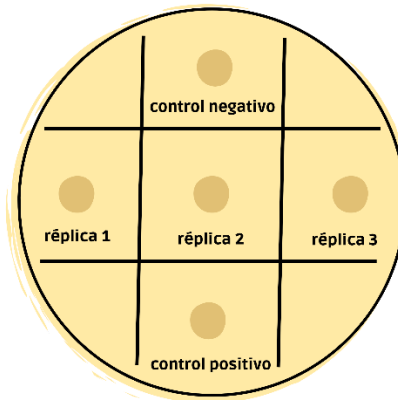


Figura 8. Acomodo de los discos con extractos para la prueba de inhibición.

5.4. Obtención del biodiésel a partir de las grasas de la larva de mosca soldado en escala laboratorio.

Una vez que se obtuvieron las larvas de mosca criadas en los residuos lácteos, y se extrajo el producto de valor agregado (extracto antimicrobiano), se procedió a la generación, en escala laboratorio, del biocombustible seleccionado que fue el biodiésel. Para la obtención de lípidos se utilizó un aparato Soxhlet donde se pesaron 25 gramos de larvas y 250 ml de hexanos. Los lípidos se extrajeron por 6

horas, una vez concluido este tiempo, se colectó el extracto y el solvente se evaporó con un rotavapor.

Para la generación de biodiésel por medio de transesterificación, se utilizaron 5 g de lípidos, los cuales se mezclaron con 40 g de metanol (radio 1:8). Como catalizador se utilizó ácido sulfúrico concentrado (0.25 g). La temperatura y tiempo de reacción fue de 70 °C y 6 horas, respectivamente. Una vez pasado este tiempo, la mezcla se enfrió a 25 °C y el metanol se separó mediante un proceso de evaporación. El glicerol de la capa inferior se eliminó mediante separación de capas y decantación. Finalmente, el biodiésel crudo se lavó con agua destilada y, a continuación, se midió su peso gravimétricamente. Se utilizó la Ecuación 5 para calcular el rendimiento (Park *et al.*, 2021). Los análisis se llevaron a cabo atendiendo las prácticas de seguridad e higiene descritas en el Anexo A.

$$\text{Biodiésel crudo (\%)} = \frac{WA}{WB} \times 100 \quad (\text{Ec. 5})$$

donde:

WA = peso de lípidos antes de la reacción, mg

WB = peso de biodiésel crudo después de la reacción, mg

Se comparó el rendimiento del control y los tratamientos con mayor cantidad de grasa en las larvas. Los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar. Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía y se efectuó la prueba de Tukey. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

5.5. Síntesis de la biorrefinería propuesta con datos experimentales.

Con base en los datos obtenidos a lo largo de la investigación, se identificaron y definieron los componentes clave de la biorrefinería, incluyendo:

- Entrada de materia prima (suero de queso)
- Cría de *Hermetia illucens*
- Procesamiento de la biomasa larval (incluyendo equipos)
- Producción de productos finales (extracto antimicrobiano y biodiésel)
- Subproductos de la biorrefinería
- Entrada de reactivos

Finalmente, se realizó un diagrama de bloques para representar visualmente el flujo de materiales y a través de la biorrefinería. El diagrama incluye todas las etapas del proceso, desde la entrada del suero de queso hasta la obtención de los productos finales.

6. Resultados y Discusión

6.1. Determinación de las condiciones ambientales óptimas del medio de crianza que contiene suero de queso para el crecimiento de larvas de mosca soldado

6.1.1. Prueba preliminar de alimentación

Los resultados presentados en esta sección se encuentran publicados en el artículo “2024. Reevaluation process of cheese whey through the cultivation of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*)” <https://doi.org/10.1002/eng2.12853>.

6.1.1.1. Análisis del suero de queso

Se comparó el suero de queso proveniente de la Planta Piloto del Campus Amazcala con otros sueros reportados en la literatura (Tabla 5). Estos sueros tienen diferentes características y los autores propusieron tratamientos como digestión anaeróbica, separación con membranas o microalgas (Patel *et al.* 2020).

Los valores de sólidos, lactosa y pH son consistentes con los reportados por otros autores, mientras que las proteínas y la acidez se encuentran dentro de los rangos reportados. Según los valores de acidez (1.25 ± 0.23) y pH (6.14 ± 0.08) reportados, el suero utilizado en este estudio es un suero dulce. El mayor porcentaje de grasa se debe a que la leche no se descrema o desnata para la producción de queso en el Campus, a diferencia de otros productores.

Tabla 5. Composición del suero de queso experimental y reportado.

Tipo de suero	Grasa (%)	Sólidos no grasos (%)	Proteína (%)	Lactosa (%)	pH	Acidez (ácido láctico g/L)	Referencias
Suero de experimental	0.95 ± 0.18	9.38 ± 0.70	3.49 ± 0.26	4.98 ± 0.37	6.14 ± 0.08	1.25 ± 0.23	-
Suero dulce	NR	9.6 ± 0.2	NR	5.2 ± 0.2	7.2 ± 0.2	0.9 ± 0.02	El Achkar <i>et al.</i> (2020)

Suero dulce	0.47 ± 0.01	NR	0.56 ± 0.01	3.80 ± 0.07	6.0-6.5	NR	Fischer y Kleinschmidt, (2015)
Suero de queso	0.4-0.5	6-7	0.6-0.8	4-5	5.8-6.6	NR	Ponist <i>et al.</i> , (2021)
Suero de queso	0.09 ± 0.01	5.58 ± 0.01	0.88 ± 0.01	4.26 ± 0.015	6.45 ± 0.02	NR	Charalambous y Vyrides, (2021)
Suero ácido	NR	2.86 ± 0.07	1.73 ± 0.01	0.7 ± 0.02	4.2 ± 0.02	2.0 ± 0.2	Nishanthi <i>et al.</i> (2017)
Suero ácido	NR	9.5 ± 0.3	NR	4.6 ± 0.1	4.1 ± 0.1	5.2 ± 0.1	El Achkar <i>et al.</i> (2020)
Suero nativo	NR	2.5 ± 0.01	2.2 ± 0.01	0.1 ± 0.02	6.5 ± 0.03	0.01 ± 0.001	Nishanthi <i>et al.</i> (2017)
Suero salado	NR	8.9 ± 0.01	1.0 ± 0.1	2.4 ± 0.3	5.5 ± 0.01	0.7 ± 0.01	

*NR= no reportado

Hay una correlación inversa de -0.72 entre el pH y la acidez, lo que indica que a medida que el pH aumenta, la acidez disminuye. La medición del pH es crucial ya que el peso de las prepupas es mayor cuando el pH inicial del sustrato es 6.0 (Ma *et al.*, 2018), lo cual se alinea con los pesos de las larvas alimentadas con la dieta experimental.

Conocer la composición del suero es esencial porque las macromoléculas producidas por las larvas dependen directamente del sustrato en el que se crían. Un alto contenido de proteínas y grasas resultará en una mejor eficiencia de conversión y crecimiento de las larvas (Chia *et al.*, 2020). En esta prueba se concluyó que el residuo puede ser tratado con las larvas.

6.1.1.2. Análisis proximal de las dietas y larvas obtenidas

En la Tabla 6 se muestran los resultados del análisis proximal de las dietas estándar y experimental. Sólo existieron diferencias entre la cantidad de lípidos y calorías, que se encuentran en mayor cantidad en la dieta experimental que contiene suero de queso. El aumento de lípidos se debe a un mayor contenido de lípidos en el suero utilizado que en el agua, la cual se emplea en la dieta estándar. En cuanto a

las calorías, el aumento se atribuye también una mayor cantidad de grasa en la dieta; cuanto mayor sea la cantidad de grasa y carbohidratos en un alimento, más calorías tendrá (Merrill & Watt, 1973).

Tabla 6. Composición proximal de la Dieta Estándar (DS) y la Dieta Experimental (DE) (% de materia seca a menos que se indique lo contrario)

Componente	DS	DE
Carbohidratos	38.15 ± 2.53 ^a	36.14 ± 0.35 ^a
Lípidos	3.76 ± 0.03 ^b	7.71 ± 0.04 ^a
Proteína	13.47 ± 0.80 ^a	12.99 ± 0.85 ^a
Cenizas	5.16 ± 0.03 ^a	5.19 ± 0.31 ^a
Calorías (cal/g)	3,382.33 ± 148.66 ^b	4,063.69 ± 66.38 ^a

*Todos los valores indicados son la media ± desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

Los resultados del análisis proximal de la biomasa de larvas se compararon con datos de larvas criadas en diferentes residuos (Tabla 7). Las larvas alimentadas con suero de queso tuvieron una mayor cantidad de lípidos y proteínas, lo cual concuerda con lo reportado por Ewald *et al.* (2020), donde se menciona que dependiendo de la composición del sustrato donde se críen, variará su composición final.

La cantidad de lípidos obtenida es similar a la obtenida utilizando como sustrato residuos de frutas, lo cual puede deberse a que tienen una mayor cantidad de carbohidratos que los otros sustratos. Se ha reportado que, un sustrato rico en carbohidratos y bajo en proteína puede generar larvas con mayor contenido de grasa que una dieta “equilibrada” (Franco *et al.*, 2021). Las larvas convierten los carbohidratos en lípidos, por lo que un aumento en su cantidad afectará directamente a la cantidad de lípidos que acumulan.

En cuanto a las proteínas, los resultados son similares con lo reportado en otros trabajos, por lo que puede asumirse que la larva no vio afectada la producción de éstas.

Para evaluar el contenido energético de la biomasa de larvas, se midieron también las calorías, siendo este valor de $6,233.67 \pm 24.25$ cal/g. Este dato, si bien da información sobre el potencial alimenticio de un sustrato, también indica la energía que puede liberar cuando se quema. Si se compara con la cáscara de arroz ($2,998.23$ cal/g), que se utiliza para la producción de pellets para quema y se estima que puede producir hasta 500 kW de electricidad (Duan *et al.*, 2020), se observa que, utilizando un tratamiento biológico, se pueden obtener no sólo productos como lípidos y proteínas sino también podría estudiarse la producción de biocombustibles sólidos como pellets a partir del tratamiento de suero de queso.

Tabla 7. Composición proximal (% de materia seca) de larvas criadas en diferentes tipos de residuos.

Sustrato	Carbohidratos	Lípidos	Proteína	Cenizas	Referencias
Dieta experimental	2.09 ± 0.07	42.48 ± 1.26	34.98 ± 0.72	6.8 ± 0.02	-
Mezcla de residuos de frutas y verduras	NR	26.28 ± 1.8	41.88 ± 1.32	$12.98 \pm 0.6 5$	
Mezcla de residuos de frutas	NR	40.70 ± 1.88	30.75 ± 1.03	7.22 ± 0.22	Meneguz <i>et al.</i> (2018b)
Residuos vinícolas	NR	32.22 ± 1.96	34.43 ± 0.76	14.57 ± 0.67	
Residuos cerveceros	NR	29.87 ± 0.65	52.96 ± 0.53	7.3 ± 0.19	
Okara	7.47	17.2	39.2	4.13	
Residuos de maíz	17.3	11.1	29.5	5.40	Bava <i>et al.</i> , (2019)
Granos de cerveza	11.2	2.89	15.8	4.13	
Mezcla de residuos vegetales	13.86 ± 0.14	35.62 ± 0.27	39.42 ± 0.16	7.08 ± 0.00	Capellozza <i>et al.</i> (2019)

*NR= no reportado

6.1.1.3. Análisis de ácidos grasos en CG-MS

Para conocer si este primer acercamiento de tratar el suero con la larva había tenido un efecto en la proporción de ácidos grasos acumulados en las lavas, se analizó el perfil, el resultado se muestra en la Figura 9. Como puede observarse, los lípidos

larvarios están compuestos mayoritariamente por ácidos grasos saturados (SFA) y monoinsaturados (MUFA), lo que coincide con lo reportado por Ewald *et al.*, (2020). Su identificación es importante ya que estos ácidos grasos son ideales para la generación de biodiésel (Kamarulzaman *et al.*, 2019). Además, acumula algunos ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), que serían de interés si se utilizaran como alimento animal (Hu *et al.*, 2020). Con este análisis, se confirmó que las larvas no se ven afectadas en la proporción de ácidos grasos generados por lo que su posterior comparación con un control y otras dietas experimentales fue el siguiente paso.

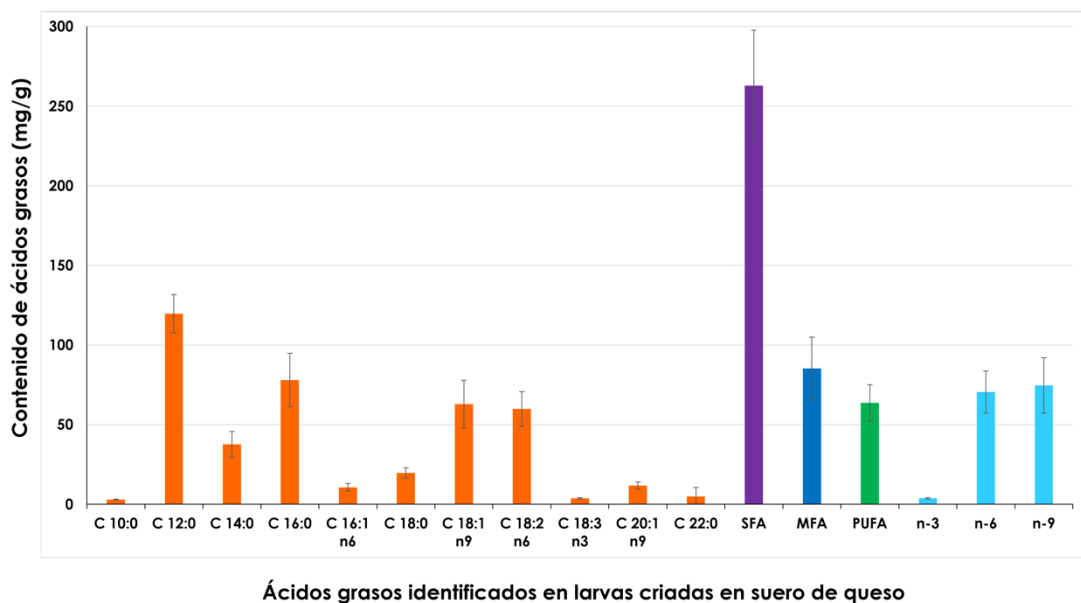


Figura 9. Perfil de ácidos grasos de las larvas criadas en suero de queso.

*SFA = ácidos grasos saturados; MUFA = ácidos grasos monoinsaturados; PUFA= ácidos grasos poliinsaturados; los omegas n-3, -6, -9 aportan beneficios para la salud humana.

6.1.1.4. Análisis del crecimiento de las larvas

Con la dieta experimental, las larvas alcanzaron un peso individual promedio de 0.252 ± 0.003 g. Comparándolo con lo reportado por Capellozza *et al.* (2019) donde utilizaron: 1) una dieta Gainesville estándar y obtuvieron un peso de 0.225 ± 0.007

g y 2) una mezcla de residuos vegetales donde reportaron un peso de 0.183 ± 0.006 g, puede observarse que hubo una mayor ganancia de peso en este estudio, lo cual se atribuye a la composición del sustrato. La mayor cantidad de carbohidratos que tenía debido al suero de queso permitió la acumulación de grasa y el crecimiento. En cuanto al WRI y ECD (índice de reducción de residuos y eficiencia de conversión del alimento digerido, respectivamente), ambos se encuentran dentro del rango reportado por otros autores (Tabla 8). Respecto a la degradación global (D) y la tasa de crecimiento (GR), ambas resultaron más altas que lo reportado en otros trabajos, confirmando que las larvas de mosca soldado negra pueden, no sólo crecer en este residuo, sino crecer más que en otros.

Tabla 8. Desempeño del crecimiento larvario y eficacia de la reducción de residuos (en base a la materia húmeda).

Sustrato	WRI (g d ⁻¹)	D	ECD	GR (g d ⁻¹)	Referencia
Dieta experimental	2.73 ± 0.00	0.72 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.0222 ± 0.0009	-
Mezcla de residuos de frutas y vegetales	3.2 ± 0.26	NR	0.07 ± 0.01	0.006 ± 0.0018	
Mezcla de residuos de frutas	3.2 ± 0.41	NR	0.05 ± 0.01	0.007 ± 0.0007	Meneguz <i>et al.</i> , (2018b)
Residuos vinícolas	2.4 ± 0.32	NR	0.06 ± 0.00	0.006 ± 0.0009	
Residuos cervceros	5.3 ± 1.05	NR	0.14 ± 0.03	0.014 ± 0.0009	
Residuos de maíz	3.22 ± 0.21	NR	0.27 ± 0.02	0.0056 ± 0.0001	Bava <i>et al.</i> , (2019)
Okara	4.90 ± 0.07	NR	0.36 ± 0.02	0.0021 ± 0.0000	
Granos de cerveza	3.01 ± 0.06	NR	0.25 ± 0.01	0.0014 ± 0.0000	
Mezcla de residuos de vegetales	1.78 ± 0.07	0.52 ± 0.01	NR	NR	Capellozza <i>et al.</i> (2019)
Residuos de endospermo de coco	0.31	0.41 ± 0.03	0.22	NR	Wong <i>et al.</i> (2019)

*WRI= índice de reducción de residuos; D= degradación global; ECD= eficiencia de conversión del alimento digerido; GR= tasa de crecimiento de las larvas; NR= no reportado.

6.1.1.5. Análisis de frass generado de la cría de las larvas

Buscando la circularidad del proceso, se analizó la composición de residuo proveniente de la cría de las larvas: el frass. Este subproducto presenta en base seca, una cantidad de 17.96 ± 2.00 % de carbohidratos, 5.13 ± 1.09 % de lípidos, 10.87 ± 2.14 % de minerales o cenizas y 3867.14 ± 15.05 cal/g de calorías. Comparándolo con datos de Naser El Deen *et al.* (2023), donde utilizaron como sustrato alimento para pollos, resalta que el suero de queso facilitó la degradación de los carbohidratos (38.85 %) y la proteína (23.57 %). Respecto a los lípidos (2.86) y minerales (7.80), se observó un aumento lo cual tiene sentido ya que la composición del frass depende directamente del sustrato utilizado; en este caso, el suero de queso contiene más grasa y minerales que el alimento para pollos.

Además, aunque se ha propuesto el uso de este frass como fertilizante para plantas, existen diversos artículos que se contraponen entre sí, mencionando que algunas veces y con algunas plantas ha funcionado y en otras no (Klammsteiner *et al.*, 2020); por lo que se concluye que depende del origen del frass así como el tipo de plantas que se utilizan. Considerando ambas posturas contrarias entre sí, surge la idea de que este residuo puede ser utilizado como pellet combustible ya que, como se mencionó, tiene un contenido energético aún mayor que la cascarilla de arroz que se usa con este propósito. Conocer la composición permitirá buscar alternativas para su uso y su aprovechamiento.

6.1.2. Prueba de cantidad máxima de suero a degradar

Los resultados presentados en esta sección se encuentran publicados en el artículo “2022. Effect of whey addition on the growth and proximal composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae”, XVII Congreso Internacional de Ingeniería, UAQ.

6.1.2.1. Dietas experimentales

Para evaluar las diferencias respecto a su composición nutrimental, las tres dietas con diferentes cantidades de suero fueron analizadas. Los resultados de estos análisis se muestran en la Tabla 9. Las dietas T80 y T75 no mostraron diferencias significativas en su composición, excepto en cenizas. De acuerdo con lo descrito en la Sección 1.2, los constituyentes más abundantes en el suero son la lactosa, las proteínas, los lípidos y las sales minerales, que incluyen NaCl, KCl y sales de calcio, entre otras. Por lo tanto, a medida que aumentó la cantidad de suero añadida, también lo hacían las cenizas, que son minerales, lípidos y proteínas. En comparación con lo observado en un estudio de Bava *et al.*, 2019, en el que se utilizó dieta de gallina como control y diversos residuos, como desechos de Okara, las dietas experimentales contenían menos lípidos y menos proteínas. Las diferencias entre los tres sustratos se deben entonces a la cantidad de suero añadida.

Tabla 9. Composición proximal de las dietas experimentales (% de materia seca, salvo que se indique lo contrario)

Dieta experimental	Cenizas	Lípidos	Proteína	Calorías (cal/g)	Referencia
T80	9.99 ± 0.04 ^a	8.62 ± 0.02 ^a	10.71 ± 1.64 ^a	4166.67 ± 35.0 ^a	-
T75	5.51 ± 0.02 ^b	8.11 ± 0.70 ^{ab}	10.41 ± 1.89 ^a	4114.93 ± 28.56 ^{ab}	-
T70	5.19 ± 0.31 ^c	7.71 ± 0.04 ^b	9.75 ± 0.85 ^a	4063.68 ± 66.38 ^b	-
Dieta de gallina	13.5	4.0	17.0	-	Zotta <i>et al.</i> , (2020)

Residuo de Okara	4.13	17.2	39.2	-	Zotta <i>et al.</i> , (2020)
-------------------------	------	------	------	---	------------------------------

. *Todos los valores indicados son la media \pm desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

6.1.2.2. Biomasa de larvas

La composición proximal de las larvas criadas con las dietas experimentales se muestra en la Tabla 10. Nuevamente se confirma que el contenido acumulado de macromoléculas varía en función de la fuente de alimentación; si el alimento es rico en estas macromoléculas, la biomasa también lo será (Liu *et al.*, 2017; Barragan-Fonseca *et al.*, 2019).

De acuerdo con Romano *et al.*, (2023), las larvas de mosca contienen un mayor contenido de minerales que los sustratos en los que se crían, lo cual se corrobora con lo encontrado en este experimento. El aumento de minerales en las larvas T70 puede deberse a que asimilaron de mejor manera los minerales en la mezcla de granos, lo cual elevó la cantidad de éstos en ellas. Las dietas T75 y T80 asimilaron menos minerales del sustrato, probablemente debido al aumento en las sales minerales que el suero de queso contiene ya que elementos específicos se absorben de diferentes maneras, sin tener claro aún el mecanismo de bioacumulación (Romano *et al.*, 2023).

Comparando las dietas experimentales con las reportadas por Bava *et al.*, (2019), la cantidad de cenizas y lípidos es similar a una dieta de gallina y diferente a una dieta de residuos de Okara. En cuanto a la proteína, se observó una cantidad inferior, lo que se debió al contenido de proteína en las dietas experimentales (Liu *et al.*, 2017; Barragan-Fonseca *et al.*, 2019). El análisis de las larvas ofrece una visión de cómo la cantidad de suero afectó a su composición, siendo T80 y T75 las dietas que contenían una mayor cantidad de proteínas y lípidos, productos de interés para extraer de las larvas.

Tabla 10. Composición proximal de la biomasa de larvas (BL) obtenida (% de materia seca)

Dietas experimentales	Cenizas	Lípidos	Proteína	Referencia
BL: T80	10.61 ± 0.07 ^b	39.57 ± 0.66 ^a	17.93 ± 0.81 ^b	-
BL: T75	10.29 ± 0.11 ^c	39.57 ± 1.06 ^a	18.46 ± 0.75 ^{ab}	-
BL: T70	12.82 ± 0.21 ^a	27.45 ± 0.41 ^b	19.36 ± 0.0007 ^a	-
BL: dieta gallina	11.7	25.1	52.8	Zotta <i>et al.</i> , (2020)
BL: residuos Okara	5.91	31.2	51.2	Zotta <i>et al.</i> , (2020)

* Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

6.1.2.3. Cálculos y crecimiento de larvas

Los pesos iniciales y finales de las larvas se muestran en la Figura 10. La longitud y el ancho finales de las larvas se presentan en la Figura 11. Como se puede observar, los pesos y longitudes de las larvas en cada tratamiento son estadísticamente diferentes.

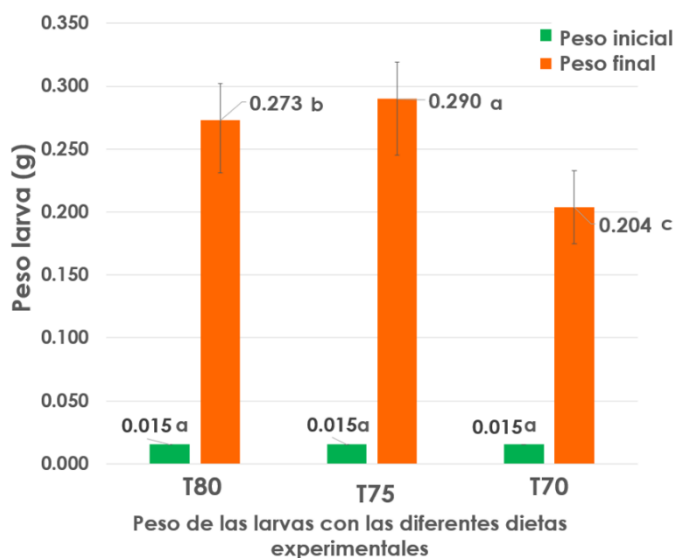


Figura 10. Peso inicial y final de BSFL para T80, T75 y T70, respectivamente.

*Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

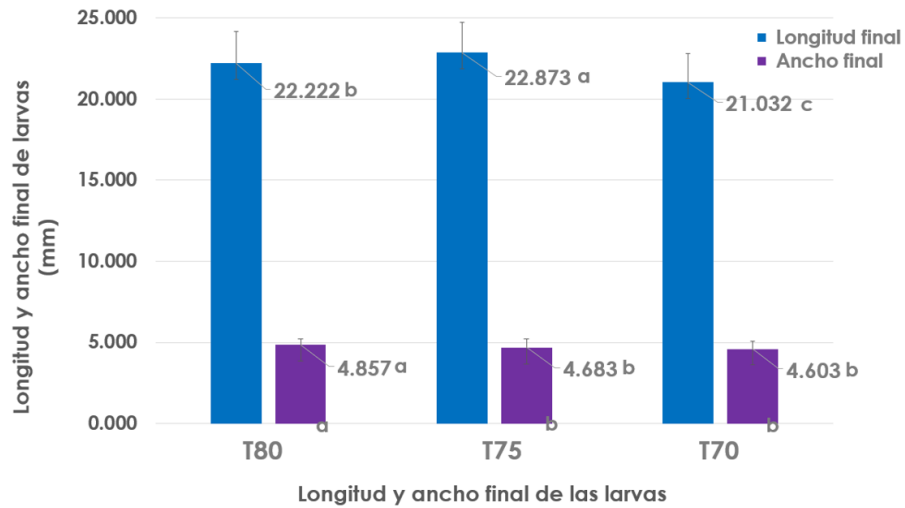


Figura 11. Longitud y ancho final de larvas para T80, T75 y T70, respectivamente.

*Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

Las larvas alimentadas con T75 tuvieron el mayor peso (0.29 g/larva), lo que puede atribuirse a la composición nutricional de su alimento, ya que tiene más grasa, más proteína y más calorías que la dieta T70 (Danieli *et al.*, 2019; Chia *et al.*, 2020; Ewald *et al.*, 2020; Scala *et al.*, 2020). Si bien se esperaría que las larvas de T80 crecieran más que las T75, es importante señalar que buscaron salir de la bandeja donde estaba el sustrato; por lo tanto, desde el principio se observó la aversión por la humedad del ambiente en el que fueron criadas. Esta observación se confirma con lo reportado en el trabajo de Cheng *et al.*, (2017) donde se afirma que el crecimiento y desarrollo de las larvas es afectado por la humedad del sustrato.

El exceso de humedad hizo que las larvas pasaran menos tiempo en el sustrato y, por tanto, que se alimentaran menos. Esto también se confirma por el peso y la longitud, donde las larvas criadas en T75 fueron las más largas y similares a lo reportado por Salomone *et al.* (2017) y Zurbrügg *et al.* (2018); en dichos estudios se menciona que las larvas crecen alrededor de 25-27 mm de longitud y 5-6 mm de ancho.

Respecto a los índices WRI (índice de reducción de residuos), ECD (eficiencia de conversión del alimento digerido) y GR (tasa de crecimiento de las larvas), los resultados se muestran en la Tabla 11. T70 fue la dieta con los valores más bajos, que de nuevo se atribuyen a la composición del sustrato, ya que están directamente relacionados con el crecimiento. En cuanto al WRI, que mide la tasa de consumo de sustrato, se puede observar que todas indican una tasa similar de reducción de sustrato. Sin embargo, cuando se compara con otro estudio (Zotta *et al.*, 2020), en el que se ensayó un sustrato control y residuo de Okara, se observa que las dietas experimentales obtuvieron menores resultados. Esto puede deberse a que las dietas en la literatura contenían menos humedad, lo que permitió a las larvas bioconvertir el sustrato sin tratar de escapar. Al comparar los índices de crecimiento y conversión de biomasa con lo reportado en la literatura, se observa que tuvieron un aumento, que se atribuye a los nutrientes aportados por el suero de queso.

Tabla 11. Desempeño del crecimiento de las larvas y eficiencia en la reducción de residuos (base húmeda).

Dietas experimentales	WRI (g d ⁻¹)	ECD	GR (g d ⁻¹)	Referencia
T80	2.72 ± 0.00 ^b	0.29 ± 0.02 ^a	0.0235 ± 0.0023 ^a	-
T75	2.72 ± 0.00 ^{ab}	0.29 ± 0.05 ^a	0.0250 ± 0.0009 ^a	-
T70	2.72 ± 0.00 ^a	0.21 ± 0.00 ^b	0.0174 ± 0.0010 ^b	-
Dieta gallina	4.46 ± 0.36	0.27 ± 0.02	0.0051 ± 0.0007	Zotta <i>et al.</i> , (2020)
Residuos Okara	4.90 ± 0.07	0.36 ± 0.02	0.0021 ± 0.0.000	Zotta <i>et al.</i> , (2020)

* WRI=índice de reducción de residuos; ECD=eficiencia de conversión del alimento digerido, GR=tasa de crecimiento. *Todos los valores indicados son la media ± desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

De acuerdo con los resultados obtenidos en este experimento y en relación con las tasas de crecimiento y la composición de las larvas, la dieta T75 es la que produce el mayor peso en las larvas, así como una mayor cantidad de lípidos, los cuales son uno de los productos de interés en las larvas. Por ello, esta proporción fue la que se seleccionó para el siguiente experimento.

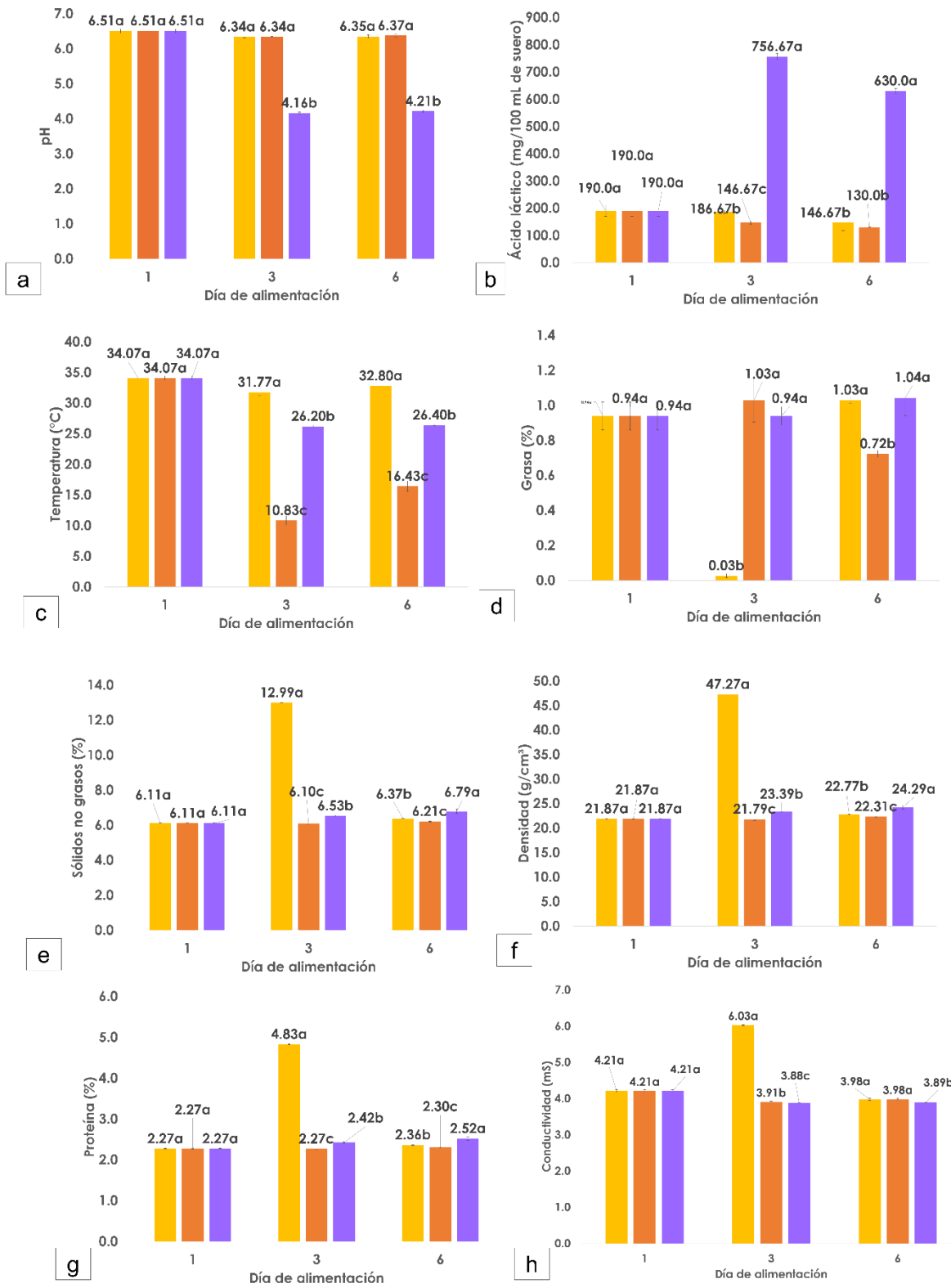
6.1.3. Prueba de condiciones óptimas del suero para crecimiento y generación de productos de interés en BSFL

Los resultados presentados en esta sección se encuentran publicados en el artículo “2024. Bio-upcycling of cheese whey: transforming waste into raw materials for biofuels and animal feed” <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32700> .

6.1.3.1. Análisis del suero de queso durante la experimentación

Con la finalidad de evaluar la modificación en las características físicas y nutrimentales de los sueros de queso utilizados, éstos se analizaron los días de la alimentación (1, 3 y 6) antes de mezclarlo con los granos. Para la Dieta Experimental 1 (T1) se utilizó suero de queso obtenido el día de su generación y utilizado sin refrigeración; para T2 se utilizó suero obtenido el día de su generación y refrigerado (se templó antes de dárselo a BSFL); para la T3 se alimentó a las larvas con suero obtenido cada día de su generación y calentado hasta 38 °C antes de dárselo a BSFL; T4 utilizó suero de queso fresco obtenido cada día de su generación.

Los resultados de estos análisis se muestran en la Figura 12 (a-j). Estos datos revelan diferencias significativas entre todos los parámetros analizados que se atribuyen a las condiciones en las que fueron almacenados.



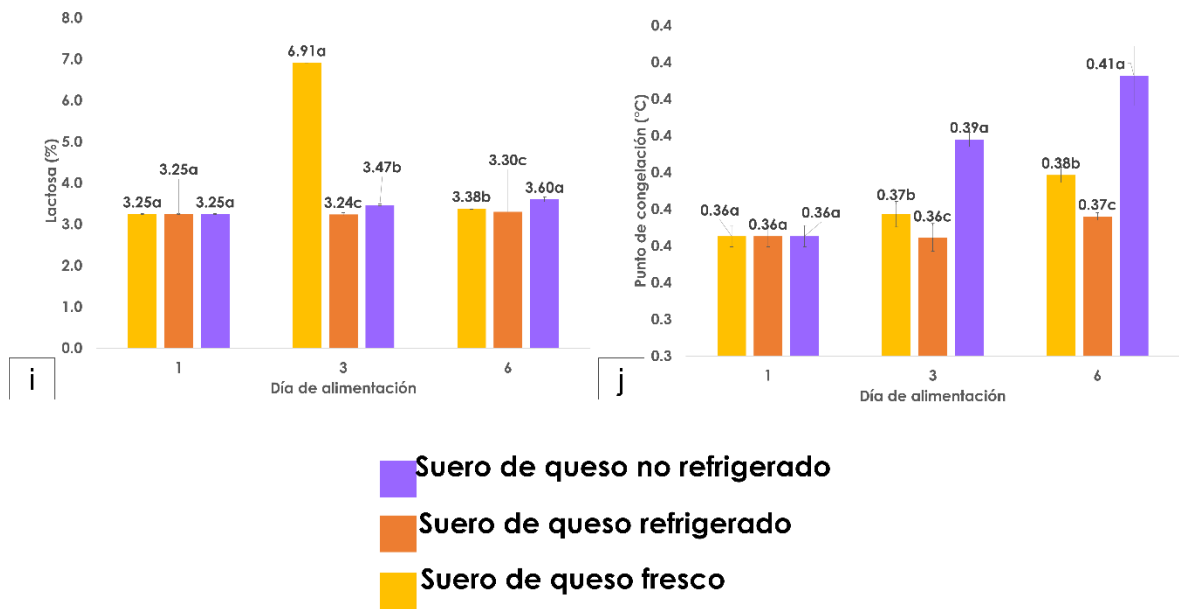


Figura 12. Análisis del suero de queso. (a) pH, (b) ácido láctico, (c) temperatura, (d) grasa, (e) sólidos no grasos, (f) densidad, (g) proteína, (h) conductividad, (i) lactosa y (j) punto de congelación. *Todos los valores indicados son la media \pm desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

El suero no refrigerado mostró una disminución en el pH (Fig. 1a) debido a la producción de ácido láctico por bacterias lácticas (Fig. 1b) (Sebastián-Nicolás *et al.*, 2020); en contraste, el suero refrigerado no mostró esta disminución ya que las bajas temperaturas inhiben el crecimiento bacteriano. Dado que el suero de queso se clasifica en dos tipos según el pH (6.0 - 6.5 para suero dulce y 4.5 para suero ácido) (Fischer y Kleinschmidt, 2015), los sueros experimentales utilizados en estos ensayos comenzaron como sueros dulces, y sólo el no refrigerado se acidificó a lo largo de los días. La temperatura y la grasa también fueron diferentes (Fig. 1c-d) debido a las condiciones de almacenamiento. El porcentaje de grasa fue menor en el suero de queso refrigerado; esto se debe a que la grasa de la leche experimenta una ligera contracción cuando solidifica al enfriarse la leche (Watson y Tittler, 1961). En contraste con otros trabajos (0.4 - 0.5 %) (Ponist *et al.*, 2021), el porcentaje de grasa es mayor en el presente experimento (0.72 - 1.04 %), ya que, como se había mencionado, la leche utilizada para la producción de queso en el

Campus Amazcala difiere de la norma aplicada por otros productores, ya que no está descremada.

En el suero de queso, la cantidad de sólidos no grasos afecta la densidad (Fig. 1e-f). Los datos obtenidos mostraron valores similares a los reportados para otros sueros: para sólidos totales (6 - 6.2 %) (Menchik *et al.*, 2019) y para densidad de leche de cabra (31.19 g/cm³) (Gharibi *et al.*, 2020). Respecto al contenido de proteínas (2.30 - 2.52 %) se encuentra dentro del rango de valores reportados (1.0 - 10.8 %) (Fig. 1g) (Nishanthi *et al.*, 2017). La conductividad o salinidad en el suero de queso depende de la cantidad de sal (NaCl) añadida durante la producción del queso. En este trabajo, los sueros experimentales (Fig. 1h) mostraron valores de conductividad bajos, entre 3.88 y 6.03 mS, comparados con lo descrito en la literatura de 8 mS promedio (Carvalho *et al.*, 2013).

La lactosa es uno de los principales componentes contaminantes que tiene el suero de queso ya que, al ser un carbohidrato, sirve de alimento para varios microorganismos, lo que aumenta su demanda biológica y química de oxígeno. En este experimento, los valores del suero (Fig. 1i) se mantuvieron dentro del rango reportado en otros trabajos (Ahmad *et al.*, 2019). El último parámetro analizado, el punto de congelación, permite la determinación de leche adulterada ya que, si contiene un mayor contenido de agua que el estándar, indica una posible alteración. Los sueros de queso experimentales presentan un punto de congelación más bajo (0.36 – 0.41 °C) (Fig. 1j) que el punto de congelación de la leche de vaca (0.53 °C) (Henno *et al.*, 2008). Esta diferencia tiene que ver con que, para hacer el queso, se le quitaron diversos nutrientes a la leche.

Entre los parámetros de interés que deben considerarse para que el suero, y cualquier sustrato, pueda ser usado para criar larvas son el pH, la temperatura, la humedad y la composición del sustrato ya que se ha descrito el efecto tan

importante que tienen en el crecimiento y desarrollo de BSFL (Padmanabha *et al.*, 2020).

Se realizó un análisis proximal de la dieta control y la dieta con suero de queso en el día 1 para comparar la composición de ambas y los posibles efectos que podrían tener en las larvas; los resultados se muestran en la Tabla 12.

La dieta experimental presenta una menor cantidad de carbohidratos debido a la reducción en la adición de la mezcla de granos; no obstante, exhibe un mayor contenido de grasa y ceniza como resultado de la adición del suero de queso. El incremento en el contenido calórico se relaciona, a su vez, con el aumento en el contenido de grasa.

Tabla 12. Composición proximal de la Dieta Control y la Dieta Experimental (% de materia seca a menos que se indique lo contrario)

Componente	Control (70% agua y 30% dieta Gainesville)	Dieta experimental (75% suero de queso y 25% dieta Gainesville)
Carbohidratos	38.15 ± 2.53 ^a	34.87 ± 1.20 ^b
Lípidos	3.76 ± 0.03 ^b	8.11 ± 0.70 ^a
Proteína	13.47 ± 0.80 ^a	15.06 ± 2.79 ^a
Cenizas	5.16 ± 0.03 ^b	5.51 ± 0.02 ^a
Calorías (cal/g)	3,382.33 ± 148.66 ^b	4,114.93 ± 28.56 ^a

* Todos los valores indicados son media ± desviación estándar (DE; n = 3). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

6.1.3.2. Crecimiento y desarrollo de las larvas en los tratamientos propuestos

La Figura 13 muestra cómo fueron ganando peso las larvas criadas en las dietas experimentales durante los días que duró el experimento.

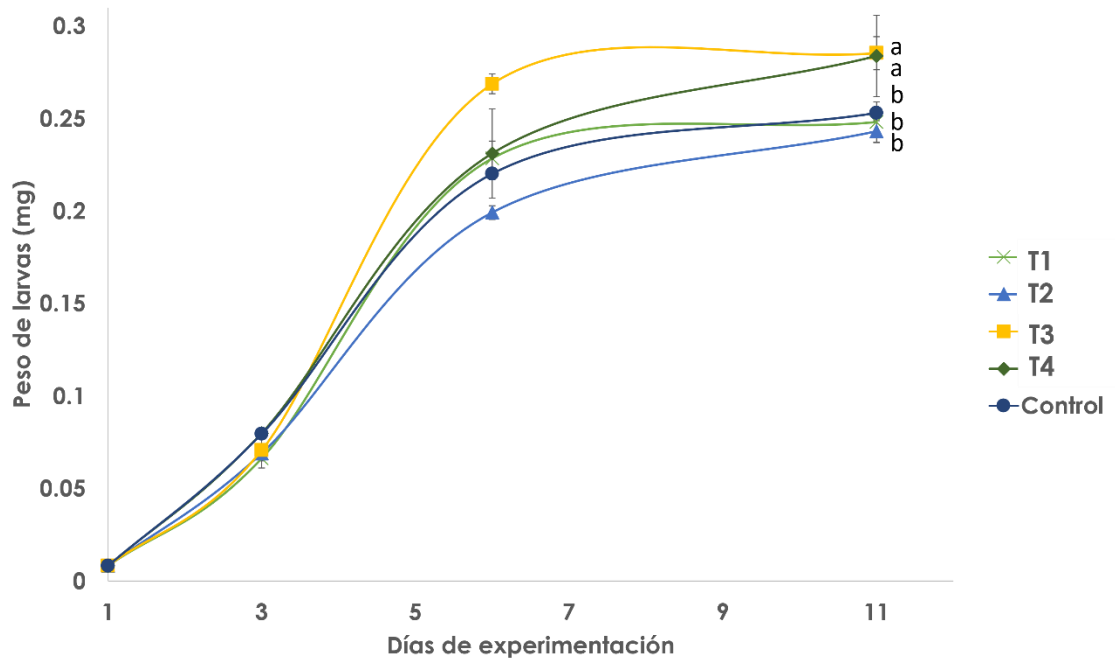


Figura 13. Aumento de peso de las larvas (mg) durante los días de experimentación. T1: dieta experimental preparada con suero obtenido el día de su generación y utilizado sin refrigeración y mezcla de granos (75:25), T2: dieta experimental preparada con suero obtenido el día de su generación y refrigerado y mezcla de granos (75:25), T3: dieta experimental preparada con suero obtenido cada día de su generación y calentado hasta 38 °C antes de dárselo a BSFL y mezcla de granos (75:25), T4: dieta experimental preparada con suero obtenido cada día de su generación y mezcla de granos (75:25), Control: dieta control Gainesville preparada con agua (70:30)*Todos los valores mostrados son media \pm desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

El peso inicial y final, el ancho y la longitud se presentan en la Figura 14 (a-c). El peso inicial por larva (0.0082 ± 0.0004 g) no fue significativamente diferente entre los tratamientos propuestos por lo que todas las larvas alimentadas con las dietas experimentales comenzaron con el mismo peso. Las dietas experimentales propuestas afectaron a la ganancia de peso, el crecimiento y la eficiencia del proceso de BSFL. Los pesos más altos se registraron en T3 y T4, que contenían suero fresco obtenido el día de su generación. Esto es consistente con informes que

muestran que la temperatura (Chia *et al.*, 2018) y el pH son factores críticos en el desarrollo larval (Meneguz *et al.*, 2018a).

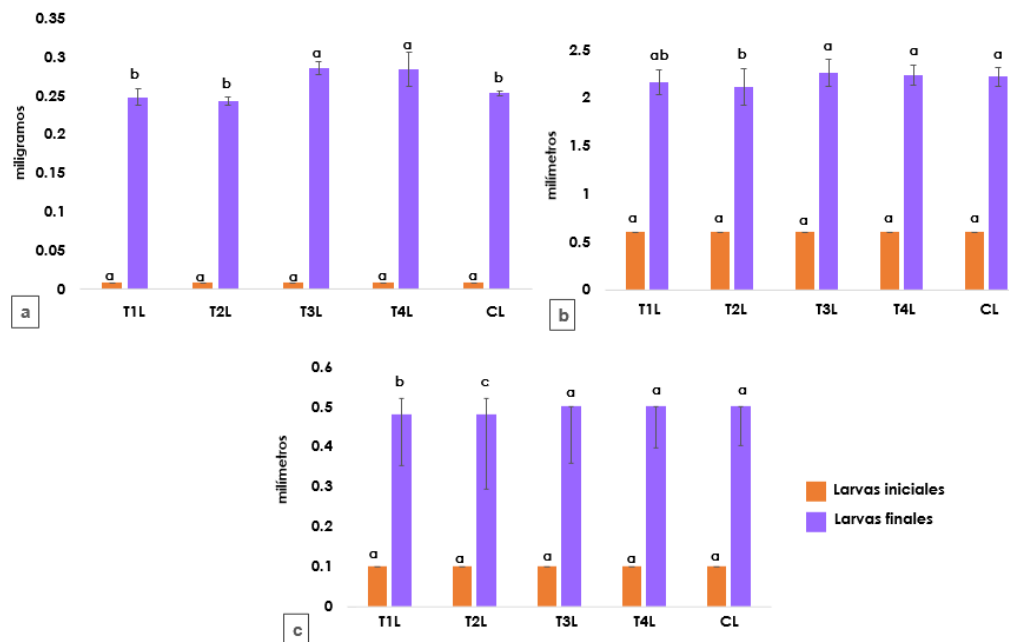


Figura 14. Peso inicial y final (a), longitud (b) y anchura (c) de las BSFL utilizadas en este trabajo. T1: dieta experimental preparada con suero obtenido el día de su generación y utilizado sin refrigeración y mezcla de granos (75:25), T2: dieta experimental preparada con suero obtenido el día de su generación y refrigerado y mezcla de granos (75:25), T3: dieta experimental preparada con suero obtenido cada día de su generación y calentado hasta 38 °C antes de dárselo a BSFL y mezcla de granos (75:25), T4: dieta experimental preparada con suero obtenido cada día de su generación y mezcla de granos (75:25), Control: dieta control Gainesville preparada con agua (70:30)*Todos los valores mostrados son media ± desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

En la larva de mosca soldado, un pH bajo (<6.0) afecta a los microorganismos intestinales que tienen en su sistema digestivo (Pang *et al.*, 2020). Por lo tanto, el menor peso que se muestra en la Figura 14a de T1L puede atribuirse al pH bajo por

la acidificación del suero. Respecto a la variable de temperatura, existen reportes que han descrito que una temperatura alrededor de 45 °C (la cual es óptima para la actividad proteolítica) contribuye a aumentar el metabolismo de las larvas soldado negro y, por lo tanto, su bioconversión (Seyedalmoosavi *et al.*, 2022). Dado que los demás parámetros analizados en los sueros experimentales estaban dentro de los datos reportados, se puede suponer que el pH y la temperatura fueron los principales factores que afectaron el peso, la longitud y el ancho. Es importante resaltar que los tratamientos T3L y T4L fueron los que mostraron los valores más altos en las tres variables analizadas.

En la Tabla 13, se comparan los datos obtenidos en este experimento con datos de la literatura. Con esta comparación se observa que dietas ricas en proteínas y fibra hacen que las larvas se desarrollen más lentamente que las dietas equilibradas con cereales (De Smet *et al.*, 2018). Los valores reportados que se asemejan más a los obtenidos son aquellos que contienen granos (Chia *et al.*, 2018; Bava *et al.*, 2019), dietas “equilibradas” (Lalander *et al.*, 2019), o sustratos que han sido sometidos a un pretratamiento con microorganismos (Isibika *et al.*, 2019). Los valores que más difieren provienen de dietas ricas en vegetales (fibra) (Rahmi *et al.*, 2020) y fibra (Jucker *et al.*, 2020; Lindberg *et al.*, 2022). El análisis del suero de queso realizado, mostró que este residuo aporta un 6 % adicional de carbohidratos, proteínas y grasas a la dieta de Gainesville, por lo que esta inclusión de nutrientes permite un mejor desarrollo en las larvas (Meneguz *et al.*, 2018a).

Tabla 13. Peso final, longitud y ancho de la biomasa de las larvas obtenidas y reportadas.

Dieta y condiciones	Peso (g)	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Referencia
T1	0.248 ± 0.011 ^b	2.30 ± 0.135 ^{ab}	0.5 ± 0.04 ^b	-
T2	0.243 ± 0.006 ^b	2.10 ± 0.197 ^b	0.5 ± 0.04 ^c	-
T3	0.285 ± 0.009 ^a	2.30 ± 0.151 ^a	0.5 ± 0.00 ^a	-

T4	0.284 ± 0.022 ^a	2.33 ± 0.107 ^a	0.5 ± 0.00 ^a	-
Control	0.253 ± 0.003 ^a	2.30 ± 0.103 ^a	0.5 ± 0.00 ^a	-
Residuos de malta de cervecería y levadura (37 °C)	0.216	NR	NR	Chia <i>et al.</i> (2018)
Residuos de malta de cervecería y levadura (35 °C)	0.168	NR	NR	Chia <i>et al.</i> (2018)
Dieta Gainesville	0.153 ± 0.113	1.25	NR	Meneguz <i>et al.</i> (2018a)
Cáscaras de plátano	0.12 ± 0.06	1.691 ± 0.399	0.437 ± 0.112	Rahmi <i>et al.</i> (2020)
Cáscaras de yuca	0.09 ± 0.05	1.436 ± 0.318	0.367 ± 0.072	Rahmi <i>et al.</i> (2020)
Cáscaras de plátano (50 %) con cáscaras de yuca (50 %)	0.06	1.506 ± 0.392	0.396 ± 0.103	Rahmi <i>et al.</i> (2020)
Alimento para gallinas	0.229 ± 0.020	NR	NR	Bava <i>et al.</i> (2019)
Bagazo de maíz (residuo de producción de etanol)	0.197 ± 0.014	NR	NR	Bava <i>et al.</i> (2019)
Okara (residuo de producción de tofu)	0.138 ± 0.006	NR	NR	Bava <i>et al.</i> (2019)
Granos gastados de cerveza	0.098 ± 0.001	NR	NR	Bava <i>et al.</i> (2019)
Residuos de matadero con 50 % de frutas y verduras.	0.252 ± 0.013	NR	NR	Lalander <i>et al.</i> (2019)
Lodos no digeridos	0.070 ± 0.005	NR	NR	Lalander <i>et al.</i> (2019)
Cáscaras de plátano pretratadas con amoníaco, seguidas de pretratamiento microbiano.	0.231	NR	NR	Isibika <i>et al.</i> (2019)
Residuos alimentos	0.141	NR	NR	Lindberg <i>et al.</i> (2022)
Recortes de brócoli y coliflor	0.108	NR	NR	Lindberg <i>et al.</i> (2022)
Residuos de grillos	0.0304 ± 0.00029	1.578 ± 0.010	NR	Jucker <i>et al.</i> (2020)

NR: no reportado, T1: dieta experimental 1, T2: dieta experimental 2, T3: dieta experimental 3, T4: dieta experimental 4, y Control. *Todos los valores mostrados son media ± desviación estándar (DE; n = 3). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

En la Tabla 14 presentan datos reportados en la literatura, así como los resultados relativos al impacto de las dietas experimentales sobre el crecimiento y eficiencia de conversión de las larvas. Si bien todas las dietas promovieron el crecimiento y desarrollo de las larvas, las diferentes características y composiciones, impactaron en su rendimiento.

Todos los tratamientos, incluido el control, lograron un índice de reducción de residuos alto, que confirma la capacidad de las larvas para reducir sustratos orgánicos. En cuanto a la eficiencia de conversión de alimentos (ECD) y el crecimiento de las larvas, la dieta T3 fue la que superó a las demás. Un valor alto de ECD indica que el alimento o sustrato se asimila de buena manera en la biomasa de las larvas. La tasa de crecimiento de las larvas está relacionada con este último índice, ya que una mejor asimilación del alimento dará como resultado un mayor crecimiento. Estos resultados confirman que la temperatura y el pH también juegan un papel importante en el desarrollo larval (Pang *et al.*, 2020; Seyedalmoosavi *et al.*, 2022). Es importante mencionar que las dietas experimentales no afectaron la generación de frass (excretas, exoesqueletos y alimento no consumido), sino que afectaron la asimilación o eficiencia metabólica del sustrato por parte de las larvas.

Al comparar el WRI obtenido con los reportados por otros autores, se observa que las dietas equilibradas como mezclas de frutas y verduras o dietas ricas en cereales tienen un índice más alto. Esta diferencia puede deberse al número de días de experimentación, el cual es un valor que afecta directamente al cálculo. En este trabajo, las larvas estuvieron en contacto con el sustrato durante 11 días, mientras que, en los trabajos listados, permanecieron entre 15 y 24 días (Meneguz *et al.*, 2018b; Bava *et al.*, 2019; Jucker *et al.*, 2020). Esta diferencia en días permitiría que las larvas degradaran el sustrato durante más tiempo y lo convirtieran en biomasa, lo cual también se confirma con un ECD más alto. Por ello, se requieren estudios para conocer los días ideales en los cuáles las larvas hayan asimilado de mejor

manera el residuo. De esta manera, dependiendo de la composición del sustrato se podría definir la cantidad de días que debería estar en el sustrato para la producción de moléculas de interés. Respecto a la LGR, las dietas experimentales superaron los valores reportados; lo que indica que las larvas criadas con suero de queso pueden convertir y utilizar una mayor cantidad de residuos en biomasa larval por día.

Tabla 14. Rendimiento del crecimiento de las larvas y eficiencia de conversión en dietas experimentales.

Substrato	Tasa de crecimiento de las larvas (LGR)	Índice de reducción de residuos (WRI)	Eficiencia de conversión del alimento ingerido (ECD)	Referencia
T1L	0.0218 ± 0.001 ^b	2.72710 ± 0.00002 ^c	0.1617 ± 0.0004 ^c	-
T2L	0.0214 ± 0.001 ^b	2.72709 ± 0.00001 ^c	0.1824 ± 0.0097 ^b	-
T3L	0.0252 ± 0.001 ^a	2.72696 ± 0.00003 ^b	0.2155 ± 0.0190 ^a	-
T4L	0.0250 ± 0.002 ^a	2.72705 ± 0.00002 ^a	0.1837 ± 0.0159 ^b	-
Control	0.0223 ± 0.0003 ^b	2.72709 ± 0.00001 ^c	0.1496 ± 0.0101 ^c	-
Residuos de grillos	NR	3.12 ± 0.53	0.19 ± 0.05	Jucker <i>et al.</i> (2020)
70 % residuos de vegetales y 30 % residuos de frutas	0.006 ± 0.0018	3.2 ± 0.26	0.07 ± 0.009	Meneguz <i>et al.</i> (2018b)
100% residuos de fruta	0.007 ± 0.0007	3.2 ± 0.41	0.05 ± 0.011	Meneguz <i>et al.</i> (2018b)
Granos gastados de cerveza	0.006 ± 0.0009	5.3 ± 1.05	0.06 ± 0.002	Meneguz <i>et al.</i> (2018b)
Residuos de la producción de vino	0.014 ± 0.0009	2.4 ± 0.32	0.14 ± 0.034	Meneguz <i>et al.</i> (2018b)
Alimento para gallina	0.0051 ± 0.0007	4.46 ± 0.36	0.27 ± 0.02	Bava <i>et al.</i> (2019)

Bagazo de maíz (residuo de producción de etanol)	0.0056 ± 0.0001	3.22 ± 0.21	0.27 ± 0.02	Bava <i>et al.</i> (2019)
Okara (residuo de producción de tofu)	0.0021 ± 0.0.000	4.90 ± 0.07	0.36 ± 0.02	Bava <i>et al.</i> (2019)
Granos gastados de cerveza	0.0014 ± 0.0000	3.01 ± 0.06	0.25 ± 0.01	Bava <i>et al.</i> (2019)

T1L: dieta experimental 1 larvas, T2L: dieta experimental 2 larvas, T3L: dieta experimental 3 larvas, T4L: dieta experimental 4 larvas y Control: larvas de control. *Todos los valores mostrados son media ± desviación estándar (DE; n = 3). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

6.1.3.3. Análisis proximal de las larvas criadas en dietas experimentales

La Figura 15 muestra la composición general de la biomasa larvaria obtenida. En ella, puede observarse que la dieta T3 es la que más produjo grasa, la cual es la materia prima del biodiésel que se busca realizar.

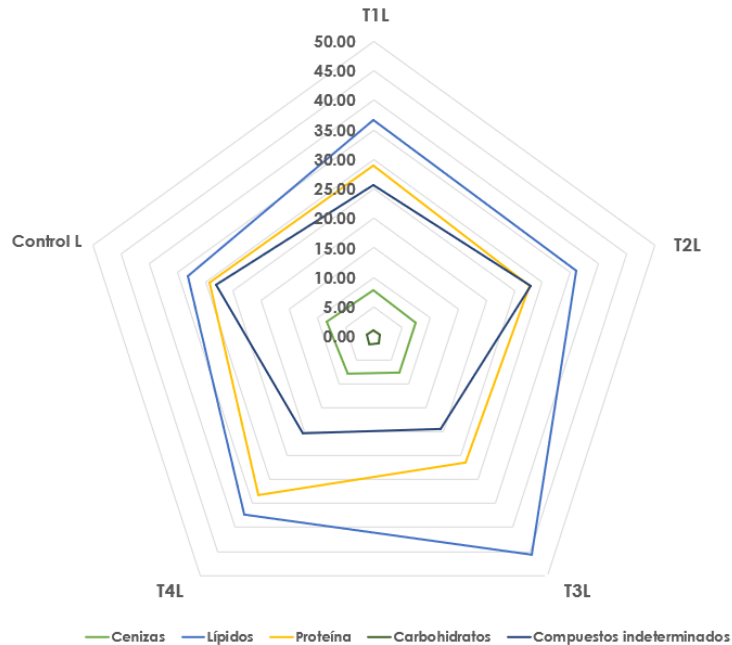


Figura 15. Composición general de la biomasa larvaria obtenida. T1L: larvas criadas en dieta experimental preparada con suero obtenido el día de su generación y utilizado sin refrigeración y mezcla de granos (75:25), T2L: larvas criadas en dieta experimental preparada con suero obtenido el día de su generación y refrigerado y mezcla de granos (75:25), T3L: larvas criadas en dieta experimental preparada con suero obtenido cada día de su generación y calentado hasta 38 °C antes de dárselo a BSFL y mezcla de granos (75:25), T4L: dieta experimental preparada con suero obtenido cada día de su generación y mezcla de granos (75:25), ControlL: dieta control Gainesville preparada con agua (70:30)

De manera similar, en la Tabla 15 se describe la composición proximal de las larvas criadas en las dietas experimentales. El contenido de grasa en las larvas de mosca soldado es importante ya que funciona como materia prima para la producción de biodiésel, el cual es uno de los productos buscados en el presente trabajo. En este sentido, el análisis de lípidos en la biomasa de BSFL obtenida con las diferentes dietas experimentales muestra una mayor cantidad acumulada en T3L. Esto se atribuye principalmente al hecho de que esta dieta se preparó con suero de queso fresco calentado a una temperatura más alta y con una cantidad constante de grasa durante los días experimentales. El efecto negativo de un pH y temperatura bajas puede observarse en la baja cantidad de proteína y grasa de las larvas T1L y T2L. Un dato interesante es que las larvas de BSFL criadas en la dieta control mostraron los valores más bajos de lípidos, lo que puede atribuirse a la diferencia en el contenido de grasa entre los sustratos debido a la inclusión de suero de queso.

Tabla 15. Composición proximal (% de materia seca) de larvas criadas con dietas experimentales.

	T1L	T2L	T3L	T4L	Control
Cenizas	7.86 ± 0.412 ^b	7.53 ± 0.040 ^c	7.49 ± 0.051 ^c	7.65 ± 0.103 ^{bc}	8.34 ± 0.032 ^a
Lípidos	36.70 ± 1.02 ^b	35.95 ± 1.88 ^b	45.57 ± 0.61 ^a	37.35 ± 0.80 ^a	33.01 ± 0.21 ^c
Proteína	28.85 ± 0.06 ^b	27.67 ± 1.59 ^{bc}	26.28 ± 0.46 ^c	33.26 ± 0.44 ^a	29.27 ± 1.51 ^b
Carbohidratos	0.98 ± 0.14 ^a	1.04 ± 0.20 ^a	1.35 ± 0.05 ^b	1.37 ± 0.15 ^b	1.24 ± 0.17 ^b
Compuestos indeterminados (posiblemente fibra, humedad y quitina)	25.61	27.82	19.31	20.36	28.14

T1L: dieta experimental 1 larvas, T2L: dieta experimental 2 larvas, T3L: dieta experimental 3 larvas, T4L: dieta experimental 4 larvas y Control: larvas de control. *Todos los valores mostrados son media ± desviación estándar (DE; n = 3). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (p ≤ 0.05).

El contenido de grasa en las larvas soldado negro es importante ya que funciona como materia prima para la producción de biodiésel. En este sentido, el análisis de

lípidos en la biomasa de las larvas obtenida con las diferentes dietas experimentales muestra una cantidad mayor en T3L. Esto podría atribuirse al hecho de que esta dieta se preparó con suero de queso fresco con una temperatura más alta y una cantidad constante de grasa durante los días experimentales que T1L y T2L. T1L y T2L mostraron una cantidad significativamente menor debido al pH más bajo y a la temperatura más baja, respectivamente. Las larvas soldado negro criadas en el sustrato de control mostraron los valores más bajos de lípidos, lo que puede atribuirse a la diferencia en grasa entre los sustratos debido a la inclusión de suero de queso.

Las cantidades de grasa obtenidas de las larvas experimentales en el presente estudio (35.95 - 45.57 % de materia seca) son similares a las reportadas por varios autores. Algunos de estos trabajos muestran larvas con un contenido de grasa más alto que las del presente estudio. Ewald *et al.* (2020) reportaron un contenido de grasa cruda de hasta 46.7 % para larvas alimentadas con trucha (*Onchorhynchus mykiss*) mezcladas en una proporción de 5:1 con salvado de trigo. En otro estudio, Scala *et al.* (2020) describieron la obtención de larvas con un 36.1 % de grasa cuando fueron criadas en manzana; Danieli *et al.* (2019) describieron la generación de hasta 46.9 % de grasa en larvas de BSFL criadas en una dieta alta en carbohidratos; de manera similar, Meneguz *et al.* (2018b) reportaron que utilizando desechos de frutas como sustrato, se pueden obtener larvas con un 40.7 %; finalmente, Jucker *et al.* (2020) mencionaron la obtención de larvas con un porcentaje de grasa de 38.67 % cuando fueron criadas en desechos de grillos. Sin embargo, también hay informes que son superados por los resultados presentados en este estudio. Shumo *et al.* (2019) obtuvieron larvas con una cantidad de grasa del 30.1 %, cuando fueron criadas en estiércol de pollo; Meneguz *et al.* (2018b) reportaron hasta un 26.28 % de grasa en larvas criadas en una mezcla de vegetales y frutas; las larvas criadas en Okara generaron un 31.2 % (Bava *et al.*, 2019); finalmente, Danieli *et al.* (2019) informaron un contenido del 31.9 % en larvas criadas en una dieta alta en fibra.

En cuanto a la proteína, se observó una cantidad menor en T3L. Esto se debe al hecho de que, como se mencionó anteriormente, el metabolismo larval se ve afectado por la temperatura (Neven, 2000). Por lo tanto, la temperatura promovió en T3L la conversión de nutrientes en lípidos en lugar de proteínas. En contraste, se observó una mayor cantidad de proteína en T4L. Las otras dietas no mostraron diferencias, lo que indica que el suero de queso no afecta negativamente la cantidad de proteína generada; por el contrario, puede aumentar si se modifican las condiciones de los residuos, lo cual brinda una ventana de oportunidad para el diseño de los sustratos dependiendo del uso final de las larvas.

En otros estudios, en los cuales se utilizaron diferentes sustratos, se obtuvieron cantidades de proteína similares a las descritas en este trabajo (26.28 - 33.26 %). Algunos de los sustratos reportados son estiércol de pollo (41.1 % de materia seca) (Shumo *et al.*, 2019), manzana (31.12 %) (Scala *et al.*, 2020), dieta de gallina (52.8 %), destilador de maíz (53.4 %), Okara (51.2 %), granos de cerveza (54.1 %) (Bava *et al.*, 2019), dieta alta en fibra (22.2 %) (Danieli *et al.*, 2019), desechos de frutas (22.97 %), mezcla de desechos de frutas y verduras (31.29 %) (Meneguz *et al.*, 2018b) y desechos de grillos (37.06 %) (Jucker *et al.*, 2020). Una vez más, se observa el efecto de la composición del sustrato en la composición de las larvas. Se destaca que los sustratos que generaron larvas con una cantidad similar de proteína a las obtenidas en este trabajo fueron manzana, dieta alta en fibra, desechos de frutas y desechos de frutas y verduras, los cuales son ricos en carbohidratos y se asimilan como grasa. Es importante mencionar que los métodos analíticos para la cuantificación de proteínas son diferentes; por lo tanto, las discrepancias también pueden deberse a esto.

Puede concluirse entonces que las dietas experimentales generaron en las larvas una cantidad significativa de grasa. Es importante destacar que el suero de queso (independientemente de sus condiciones) utilizado como sustrato puede generar larvas con una cantidad mayor o igual de grasa que otros residuos. Por lo tanto, es factible utilizar estas larvas como tratamiento en un esquema de biorrefinería para

su posterior uso y obtención de productos de interés. Es importante mencionar que no se determinó la fibra ni la quitina (Cappelozza *et al.*, 2019), los cuales son componentes son de interés ya que las larvas pueden ser utilizadas como alimento para animales. En ciertas proporciones, tanto la fibra como la quitina pueden afectar la digestibilidad o estimular el sistema inmunológico de algunos peces (Stenberg *et al.*, 2019), respectivamente.

Una vez que la grasa de las larvas se extrajo, se analizaron los ácidos grasos para evaluar el efecto que el sustrato pudo tener en el metabolismo de éstos. El perfil de los ácidos grasos de las larvas se muestra en la Tabla 16. Independientemente de la dieta, las larvas presentaron una mayor cantidad de ácidos grasos saturados (SFA), lo cual concuerda con lo reportado en la literatura.

Tabla 16. Contenido de ácidos grasos identificados en las dietas experimentales y en las larvas de biomasa de control (base seca).

Ácidos grasos identificados (mg/g)	TFA1	TFA2	TFA3	TFA4	ControlIFA
C 10:0	0.89 ± 0.03 ^b	0.90 ± 0.01 ^b	1.01 ± 0.07 ^b	1.49 ± 0.22 ^a	1.44 ± 0.35 ^a
C 12:0	22.83 ± 1.59 ^{cd}	21.74 ± 0.71 ^d	26.47 ± 2.10 ^c	41.07 ± 4.93 ^a	35.16 ± 6.11 ^b
C 14:0	9.92 ± 0.10 ^d	10.79 ± 0.16 ^a	10.25 ± 0.03 ^c	10.67 ± 0.28 ^{ab}	10.49 ± 0.37 ^{bc}
C 16:0	18.62 ± 0.35 ^{ab}	19.02 ± 0.19 ^a	19.84 ± 0.60 ^a	16.91 ± 2.21 ^b	14.82 ± 2.41 ^c
C 16:1 (n7)	3.57 ± 0.11 ^b	3.81 ± 0.09 ^b	4.56 ± 0.14 ^a	2.56 ± 0.37 ^d	3.22 ± 0.16 ^c
C 18:0	6.43 ± 0.24 ^a	6.59 ± 0.08 ^a	4.78 ± 0.40 ^b	5.12 ± 0.99 ^b	2.05 ± 1.79 ^c
C 18:1 (n9)	17.96 ± 0.46 ^a	17.91 ± 0.31 ^a	16.40 ± 0.72 ^a	12.26 ± 2.37 ^b	11.79 ± 1.88 ^b
C 18:2 (n6)	17.77 ± 0.70 ^b	17.21 ± 1.10 ^b	15.83 ± 0.47 ^c	9.60 ± 0.65 ^d	19.21 ± 1.17 ^a
C 18:3 (n3)	2.01 ± 0.09 ^a	2.02 ± 0.21 ^a	0.87 ± 0.04 ^b	0.32 ± 0.27 ^c	1.82 ± 0.32 ^a
SFA	58.70 ± 0.97 ^c	59.04 ± 1.07 ^c	62.34 ± 1.33 ^b	75.26 ± 3.27 ^a	63.96 ± 2.11 ^b
MFA	21.53 ± 0.45 ^a	21.72 ± 0.33 ^a	20.96 ± 0.85 ^a	14.82 ± 2.71 ^b	15.01 ± 2.01 ^b
PUFA	19.78 ± 0.79 ^b	19.23 ± 1.31 ^b	16.70 ± 0.50 ^c	9.92 ± 0.64 ^d	21.03 ± 1.43 ^a

TFA1: ácidos grasos dieta experimental 1, TFA2: ácidos grasos dieta experimental 2, TFA3: ácidos grasos dieta experimental 3, TFA4: ácidos grasos dieta experimental 4,

ControlFA: ácidos grasos control. *Todos los valores mostrados son media \pm desviación estándar (DE; n = 3). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

En todos los perfiles de ácidos grasos obtenidos, el ácido laúrico (C12:0) es el principal ácido graso en las grasas saturadas, seguido por el ácido palmítico (C16:0). En cuanto a los ácidos grasos insaturados, se encontró una composición equilibrada de dos ácidos grasos, oleico (C18:1 n-9) y linoleico (C18:2 n-6). Estas proporciones son similares a las reportadas por otros autores (Meneguz *et al.*, 2018b; Caligiani *et al.*, 2019; Danieli *et al.*, 2019; Gao *et al.*, 2019; Wong *et al.*, 2019; Ewald *et al.*, 2020; Giannetto *et al.*, 2020; Hadj Saadoun *et al.*, 2020; Romano, 2022).

T4 fue la dieta con el mayor contenido de ácidos grasos saturados en las larvas, seguida por T3 y Control. Aquellas con la menor cantidad de SFA fueron T1 y T2. Ewald *et al.* (2020) encontraron una correlación positiva entre el peso de las larvas y el porcentaje de SFA total. Sin embargo, mientras que esto es cierto para T1 y T2, la dieta Control generó una cantidad similar de estos ácidos que en las larvas criadas con T3. Dado que la única diferencia entre T3 y T4 fue el aumento de la temperatura, el análisis sugiere que un aumento en este factor afecta negativamente la síntesis de este tipo de ácidos grasos.

De la misma manera, aumentar la síntesis de SFA disminuye la síntesis de MUFA. En cuanto a los PUFA, se ha descrito que es probable que su acumulación provenga del sustrato (Ewald *et al.*, 2020). Por lo tanto, el aumento de PUFAs observado en T1, puede deberse al hecho de que esta dieta contenía una mayor cantidad de mezcla de granos (30 %) que las otras dietas experimentales (25 %).

Conocer el perfil de ácidos grasos de un posible alimento, es importante ya que algunos ácidos grasos pueden causar daño en la salud. Por ejemplo, se ha informado que los SFA, que son los más abundantes en las BSFL, son desfavorables en la dieta ya que aumentan las lipoproteínas de baja densidad, lo que puede causar trombosis (Shumo *et al.*, 2019). Del mismo modo, el perfil que

presentan estas larvas es similar al de otros aceites, como el de palma o coco, lo que ofrece varias oportunidades para su uso tanto en la industria cosmética como en la de biocombustibles (Ewald *et al.*, 2020). Conocer cómo el sustrato y sus condiciones afectan el perfil de ácidos grasos de las BSFL permitiría la ingeniería de larvas para la cría, dependiendo de su uso.

6.2. Obtención y prueba del extracto antimicrobiano de la larva de mosca soldado en escala laboratorio.

6.2.1. Determinación de los compuestos con actividad biológica

Para evaluar si los extractos metanólicos provenientes de las larvas criadas en las dietas experimentales presentaban compuestos con actividad biológica de interés, se evaluaron compuestos fenólicos, flavonoides y actividad antioxidante. Los resultados de estos análisis se muestran en la Tabla 17. La principal diferencia entre los ensayos de DPPH y ABTS, además del radical que se utiliza, es que el ABTS puede ayudar a cuantificar moléculas antioxidantes hidrofílicas y lipofílicas, a diferencia del DPPH que funciona mejor para moléculas lipofílicas (Munteanu y Apetrei, 2021).

Por ello, la diferencia entre los resultados presentados puede atribuirse a que la dieta Control, generó en las larvas compuestos antioxidantes lipofílicos como los PUFAs, los cuales fueron los que más se generaron con esta dieta y que se ha comprobado, tienen actividad antioxidante (Oppedisano *et al.*, 2020). Por su parte, el suero de queso promovió la acumulación de ácidos grasos saturados y otras moléculas solubles en el metanol, las cuales se cuantificaron con el ABTS.

Respecto a los fenoles y flavonoides no hubo diferencias significativas, por lo que el suero de queso no afectó su producción. Los taninos se generaron en mayor cantidad en las dietas T3 y T4, lo cual indica que el suero fresco promueve su producción.

Cabe resaltar que, si bien se analizaron moléculas que pueden disolverse en metanol, existen otras moléculas como la quitina que sólo se solubilizan en éste cuando está saturado con cloruro de calcio. Por ello, un estudio a mayor profundidad sobre las diferentes moléculas antioxidantes y a su vez antimicrobianas y con diferentes solventes, resulta necesario para comprender y aprovechar al máximo estas larvas.

Tabla 17. Compuestos con actividad biológica en las dietas experimentales y en las larvas de biomasa de control (base seca).

	T1L	T2L	T3L	T4L	ControlL
ABTS+ (mg E Trolox/g)	80.68 ± 1.14^a	73.93 ± 9.65^{abc}	74.79 ± 9.08^{abc}	71.83 ± 4.21 ^{bc}	69.35 ± 4.96 ^c
ABTS + (% inhibición)	72.90 ± 1.08^a	66.50 ± 9.14^{abc}	67.32 ± 8.60^{abc}	64.51 ± 3.98 ^{bc}	62.17 ± 4.70 ^c
DPPH+ (mg E Trolox/g)	62.10 ± 4.68 ^b	58.22 ± 1.24 ^{cd}	48.82 ± 1.25 ^e	57.83 ± 1.22 ^d	65.12 ± 1.59^a
DPPH(% inhibición)	26.01 ± 7.36 ^b	19.91 ± 1.94 ^{cd}	5.11 ± 1.97 ^e	19.28 ± 1.91 ^d	30.76 ± 2.50^a
Contenido total fenoles (mg EAG/g)	1.70 ± 0.30^a	1.56 ± 0.90^a	1.88 ± 0.12^a	1.72 ± 0.27^a	1.40 ± 0.11^a
Contenido total flavonoides (mgE rutina/g)	76.59 ± 13.5^a	67.09 ± 3.9^a	84.78 ± 1.6^{ab}	83.11 ± 18.1^{abc}	67.75 ± 5.7^a
Taninos (mg E catequina/g)	2.39 ± 0.45 ^c	2.33 ± 1.02 ^c	3.72 ± 0.38^{ad}	2.72 ± 0.17^a	1.37 ± 0.65 ^b

T1L: dieta experimental 1 larvas, T2L: dieta experimental 2 larvas, T3L: dieta experimental 3 larvas, T4L: dieta experimental 4 larvas y ControlL: larvas de control. *Todos los valores mostrados son media ± desviación estándar (DE; n = 3). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (p ≤ 0.05).

En un trabajo realizado por da Cruz *et al.*, se evaluó la capacidad antioxidante mediante ABTS (la cual es eficiente para evaluar hidrolizados de proteína) del suero de queso, mostrando una actividad de reducción de 57.28% (da Cruz *et al.*, 2020). Esto es de interés ya que, al comparar los resultados de % de ABTS en la larva, pareciera que el suero aporta una importante actividad que además hace que ésta aumente en la larva. Respecto al DPPH, se ha reportado para suero de queso

panela una actividad de 26% lo cual es similar o mayor a lo que más se ha obtenido en las larvas, esto puede indicar que el suero no aporta en nada o muy poco a la generación de moléculas detectadas con este método (Martin del Campo *et al.*, 2019). Para el suero de queso se ha evaluado también la cantidad de fenoles totales, los cuales han sido reportados en 245.43 ± 114.76 mg/L; si lo comparamos con lo mostrado en este trabajo podemos ver una clara diferencia, lo cual puede deberse a que la larva no acumula este tipo de compuestos (Chávez-Servín *et al.*, 2018).

El suero de queso tiene un contenido de flavonoides de aproximadamente 1.24 ± 0.05 mg/L (Qureshi *et al.*, 2019), lo cual representa un bajo o nulo aporte a la larva ya que ésta tuvo valores mucho más altos. Esta comparación puede reflejar que la larva tiende entonces a acumular estos compuestos sin importar si su alimento los incluye o no. En este sentido se debería estudiar con mayor detalle la composición total del alimento experimental que contenía también la mezcla de granos. Sobre taninos, si bien no se encontraron reportes de ellos en el suero de queso, la cantidad encontrada en la larva es baja, lo que implica que no lo acumuló o su alimento mezclado con el suero no lo contenía.

6.2.2. Comparación de los compuestos con actividad biológica

Los compuestos fenólicos (fenoles totales), flavonoides, taninos y actividad antioxidante se compararon con lo reportado en la literatura, utilizando información de la Tabla 4. Respecto a los compuestos fenólicos, los datos se obtuvieron en un rango entre 1.40 ± 0.11 y 1.88 ± 0.12 mg EAG/g, lo cual puede compararse con lo reportado para *Tenebrio molitor* (Navarro del Hierro *et al.*, 2019) donde se describe que este insecto presenta una cantidad de fenoles en el rango 3-50 g EAG/ g.

A su vez, Kunatasa *et al.* (2020) reporta valores de flavonoides de 15.50 ± 0.94 mEq/g y 15.14 ± 0.64 mEq/g para *Henicus whellani* y *Macrotermes facilger*,

respectivamente. Dichos valores se ven sobrepasados con los resultados obtenidos en este trabajo, que están en el rango de entre 67.09 y 84.78 mgE rutina/g.

Respecto a los taninos, también se ha reportado su presencia en el insecto *Henicus whellani* con 0.17 ± 0.007 mEq/g y *Macrotermes facilger* con 15.14 ± 0.64 mEq/g (Kunatasa *et al.*, 2020), mientras que para *Hermetia illucens*, se encontraron en este trabajo valores desde 1.37 ± 0.65 hasta 3.72 ± 0.38 , lo cual resulta bajo. Finalmente, para la capacidad antioxidante medida por DPPH, se ha reportado un 72% para *Acheta domesticus*, 57% para *Tenebrio molitor* (Navarro del Hierro *et al.*, 2019) y 39.76 ± 0.054 $\mu\text{mol ET/g}$ para huevos de Axayácatl (Corixidae); estos datos muestran que lo obtenido en el análisis de las larvas crecidas en suero de queso presenta niveles menores a lo descrito. Para la capacidad antioxidante medida por ABTS, se ha reportado un 25.34 ± 0.472 $\mu\text{mol ET/g}$ para huevos de Axayácatl (Corixidae), lo cual es sobrepasado por los valores obtenidos para *Hermetia illucens*. Los fenoles, flavonoides y taninos son moléculas que se absorben desde la dieta (Felton and Summers, 1995), por ello, las diferencias aquí presentadas pueden deberse a las diferentes dietas en las cuales se criaron los insectos presentados.

6.2.3. Evaluación de actividad antimicrobiana

6.2.3.1. Método de difusión en disco

Con base en la cantidad de grasa generada, se optó por utilizar extractos (40 mg/ml de concentración) de las larvas del tratamiento 3, el cual consistió en larvas criadas en la dieta 3. Esta dieta consistió en suero obtenido cada día de su generación y calentado hasta 38 °C antes de dárselo a BSFL. Los microorganismos utilizados (200 μl) para probar el extracto antimicrobiano fueron: *E. coli*, *Salmonella*, *P. capsici*, *B.subtilis*, *E. faecalis*, *Pseudomonas*, *B. cereus*, *S. aureus*, *Listeria* y *Clavibacter* se muestran en la Figura 16.



Figura 16. Cepas utilizadas para la prueba del antimicrobiano.

El crecimiento de los microorganismos *E. faecalis*, *B. cereus*, *Salmonella*, *S. aureus* se vio afectado cuando se aplicaron los extractos de *Hermetia illucens* criada en suero de queso. El diámetro de los halos obtenidos se muestra en la Tabla 18.


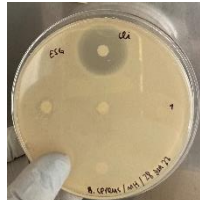


Tabla 18. Diámetro de los halos obtenidos.

Microorganismo	Diámetro obtenido (mm)	Tipo de extracto
<i>E. faecalis</i>	13.35 ± 3.76	metanólico
<i>B. cereus</i>	10.06 ± 0.72	metanólico
<i>Salmonella spp.</i>	11.29 ± 2.29	etanólico
<i>Salmonella spp.</i>	17.22 ± 1.82	metanólico
<i>S. aureus</i>	10.06 ± 0.72	metanólico
<i>E. coli</i>	0.0 ± 0.0	metanólico y etanólico
<i>P. capsici</i>	0.0 ± 0.0	metanólico y etanólico
<i>B. subtilis</i>	0.0 ± 0.0	metanólico y etanólico
<i>Pseudomonas</i>	0.0 ± 0.0	metanólico y etanólico
<i>Listeria</i>	0.0 ± 0.0	metanólico y etanólico
<i>Clavibacter</i>	0.0 ± 0.0	metanólico y etanólico
<i>E. faecalis</i>	0.0 ± 0.0	etanólico
<i>B. cereus</i>	0.0 ± 0.0	etanólico
<i>S. aureus</i>	0.0 ± 0.0	etanólico

. *Los valores mostrados son media \pm desviación estándar.

Los halos se compararon con datos reportados por el Comité Europeo sobre Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana en las tablas de puntos de corte para la interpretación de la concentración mínima inhibitoria (MIC por sus siglas en inglés) y diámetros de zonas (EUCAST, 2024).

Tabla 19. Comparación de los halos obtenidos con lo reportado por el Comité Europeo sobre Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana.

M.o.	Antibiótico	Punto de corte(m m)	Características	Actividad antimicrobiana	Imagen
<i>E. faecalis</i>	2 μ g de ampicilina	>10	Susceptible	Sí	
		<8	Resistente	No	
	10 μ g de norfloxacin a / 5 μ g de vancomicina	>12	Susceptible	Sí	
		<12	Resistente	No	
<i>B. cereus</i>	5 μ g de vancomicina	<10	Susceptible	No	
		>10	Resistente	Sí	
	5 μ g de clindamicina	<17	Susceptible	No	
		>17	Resistente	Sí	
<i>Salmonella spp.</i>	30 μ g de cefadroxilo	<12	Susceptible	No (extracto etanólico)	
		>12	Resistente	Sí (extracto etanólico)	
	10 μ g de gentamicina	<17	Susceptible	Sí (extracto metanólico)	
		>17	Resistente	No (extracto	

				metanólico)
S. aureus	30 µg de amikacina	<15	Susceptible	No
		>15	Resistente	Sí



M.o.: microorganismos

Como se observa en la Tabla 19, los microorganismos *E. faecalis* y *Salmonella spp.* mostraron susceptibilidad a los extractos metanólicos (40 mg/ml) de larva de mosca criada en suero de queso, por lo cual se puede decir que tienen una actividad antimicrobiana. Esta tabla se armó utilizando datos del Comité Europeo sobre Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. Se buscaron los rangos similares a lo obtenido para poder comparar la actividad con antibióticos comercialmente conocidos. Si el halo obtenido es mayor a los límites descritos para la susceptibilidad, se considera que el microorganismo es sensible al producto probado, de lo contrario, se considera que éste es resistente a lo probado. Los extractos metanólicos de la larva preparados en este trabajo, mostraron entonces tener una actividad antimicrobiana similar a 2 µg de ampicilina, 10 µg de norfloxacina o 5 µg de vancomicina para *E. faecalis* y 10 µg de gentamicina para *Salmonella*.

Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado por otros autores en los que han descrito la actividad antimicrobiana que tienen extractos de esta larva inmunizada con *Lactobacillus casei* en *Samonella*. La actividad antimicrobiana se le atribuyó a la melitina (péptido), que es el principal componente del veneno de abeja. (Lee *et al.*, 2020) y que a 27 °C es moderadamente soluble en metanol (Abd El-Wahed *et al.*, 2019). Otros trabajos reportan también la presencia y asilamiento de péptidos, por ejemplo: un péptido similar a defensina (DLP4) y que tiene propiedades antimicrobianas (Park *et al.*, 2015) así como siete fragmentos de genes de péptidos antimicrobianos de *Hermetia illucens* (Elhag *et al.*, 2017; Lu *et al.*, 2022).

En otros trabajos, se ha reportado también actividad antimicrobiana de extractos de larva realizados en medios ácidos para la extracción de quitosano, al cual se le atribuyen estas propiedades (Lagat *et al.*, 2021; Guarnieri *et al.*, 2022).

En 2014, Choi y Jiang indicaron que los extractos con diferentes solventes tienen actividad antibacteriana y propiedades que inhiben eficazmente el crecimiento de bacterias de manera dependiente de la concentración del ácido hexanodioico, el cual es soluble en metanol.

De manera general, se puede observar que la actividad antimicrobiana que los extractos presentan puede deberse a diferentes moléculas, ya sean péptidos, quitosano o quitina o ácido hexanodioico. En este sentido, en este trabajo se confirma que las larvas tienen compuestos antimicrobianos y sería de interés conocer cuáles moléculas son las que están mayormente presentes en larvas crecidas en este sustrato en particular. De este modo, se podría proponer una extracción óptima de los mismos, así como separarlos para obtener no sólo uno, sino varios extractos antimicrobianos con diferentes aplicaciones.

6.3. Obtención del biodiésel a partir de las grasas de la larva de mosca soldado en escala laboratorio.

6.3.1. Transesterificación de grasa para la producción de biodiésel

Para realizar una comparación entre tratamientos, se seleccionaron el control, 3 y 4. Esto, debido a que fueron los tratamientos con mayor cantidad de grasa extraída. Una vez que se obtuvo el extracto antimicrobiano, se extrajo la grasa para convertirla en biodiésel. Mediante la ecuación 5 se calculó el rendimiento de la producción de biodiésel a partir de la grasa, los resultados de muestran en la Tabla 20.

Tabla 20. Rendimiento del biodiésel obtenido a partir de la grasa de larvas de mosca soldado criadas en suero se queso y dieta Gainesville control.

Muestra	% grasa	Rendimiento producción de biodiésel	Rendimiento promedio (%)
Control	33.01	63.33	63.34 ± 0.56 ^a
		63.90	
		62.79	
Grasa T3L	45.57	62.85	61.13 ± 1.52 ^a

		59.96	
		60.57	
		64.06	
Grasa T4L	37.35	59.22	62.03 ± 2.52 ^a
		62.83	

Grasa T3L: grasa de las larvas criadas en dieta experimental preparada con suero obtenido cada día de su generación y calentado hasta 38 °C antes de dárselo a BSFL y mezcla de granos (75:25), Grasa T4L: grasa de las larvas criadas en dieta experimental preparada con suero obtenido cada día de su generación y mezcla de granos (75:25), Grasa Control L: grasa de las larvas criadas en dieta control Gainesville preparada con agua (70:30) *Todos los valores mostrados son media ± desviación estándar (DE; n = 3). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

Como puede observarse, no hubo diferencia significativa en cuanto al rendimiento obtenido en ninguno de los tratamientos o control, lo cual significa que la inclusión del suero en la dieta no afecta la producción de biodiésel. No obstante, los rendimientos obtenidos en este trabajo resultan bajos comparados con lo mencionado por diversos autores. Por ejemplo, Liew *et al.* (2023) reportaron eficiencias de conversión altas de entre 90 y 94% lo cual puede deberse a la metodología que se siguió en la cual se utilizó un co-solvente (cloroformo) y lo resultante se lavó con éter de petróleo y cloruro de sodio. Otros métodos de transesterificación de dos pasos alcanzaron un rendimiento de aproximadamente 92-93% (Zheng *et al.*, 2012a) y 93-96 % (Li *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2015). Otro estudio por Nguyen *et al.* (2018) que mencionó la transesterificación de un paso con diferentes solventes reportó rendimientos de 63.37% para hexanos, 54.83% para acetona, 48.50% para cloroformo y 35.67% de éter de petróleo, lo cual es comparable con lo que se obtuvo. Park *et al.* (2021) reportaron un rendimiento máximo de 86.51% lo cual resulta interesante ya que se utilizó la misma metodología descrita en su trabajo.

Las diferencias en cuanto a los rendimientos presentados pueden deberse a la variación en los reactivos y métodos usados. Se podría mejorar el control en la temperatura, así como la limpieza del biodiésel. En este sentido, se observa que existen métodos con mezclas de solventes así como el lavado con soluciones

específicas que parece que aumentan la eficiencia del proceso (Liew *et al.*, 2023) y con ello, la rentabilidad del proceso. Si bien uno de los objetivos del proyecto era sólo confirmar que se podía producir biodiésel, aún hay diversas áreas de oportunidad en las cuales se puede hacer más eficiente el proceso de obtener biodiésel a partir de larvas de mosca soldado criadas en suero de queso.

6.4. Síntesis de la biorrefinería propuesta con datos experimentales

Finalmente, se realizó la síntesis de la biorrefinería con los datos del tratamiento 3 para la obtención de los productos finales a partir del suero de queso. El diagrama de la biorrefinería propuesta, así como el balance de masa se muestra en la Figura 17.

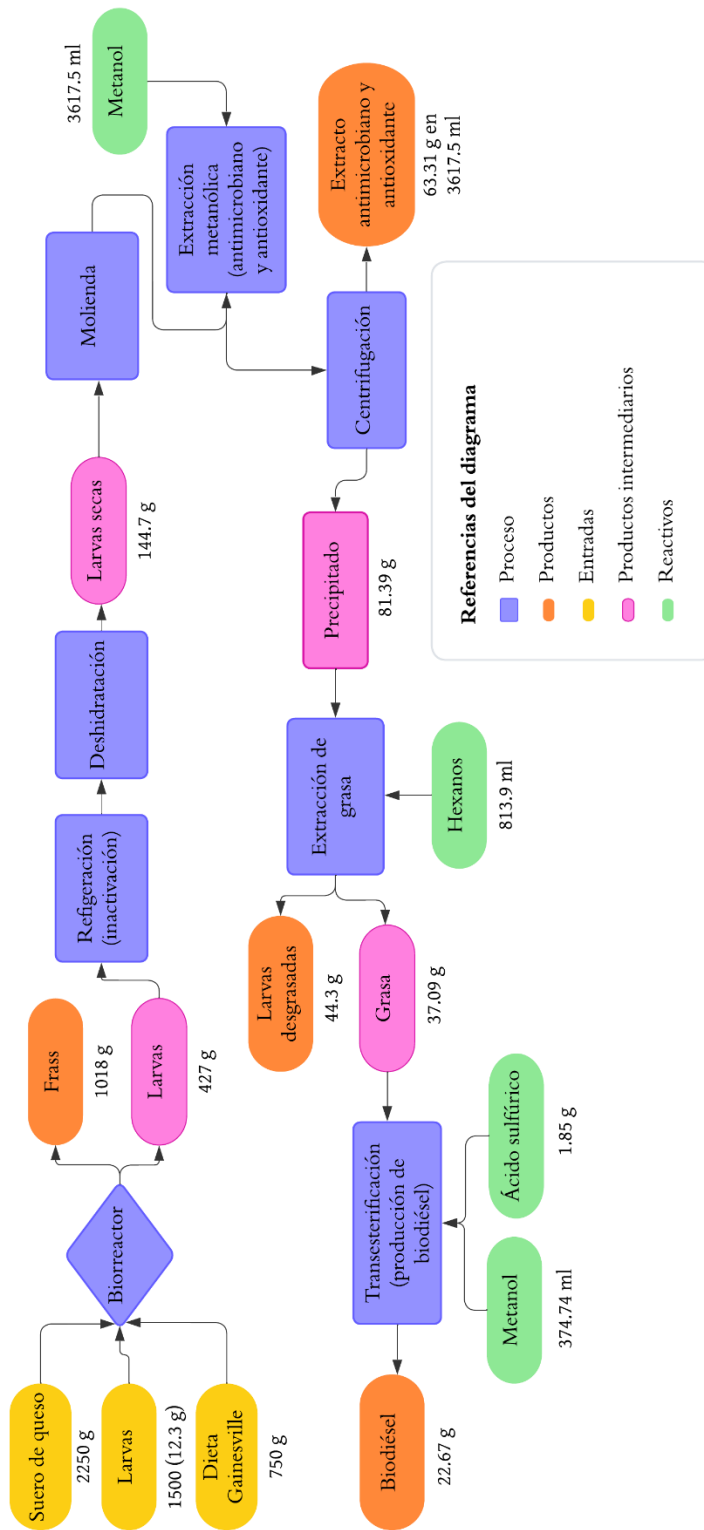


Figura 17. Diagrama de la biorrefinería propuesta.

Como puede observarse, el tratamiento de 2,250 gramos de suero de queso en un esquema de biorrefinería usando larvas de mosca soldado es factible y se obtienen como productos de interés: 1) 1,018 g de frass que puede ser estudiado como fertilizante natural y/o bioestimulante foliar (Basri *et al.*, 2022); 2) 63.31 g de extracto antimicrobiano y antioxidante; 3) 44.3 g de larvas desgrasadas, las cuales tienen proteína y pueden ser utilizadas como alimento para animales (Li *et al.*, 2017), y 4) 22.67 g de biodiésel.

Comparando por ejemplo, un estudio realizado por Liew *et al.* (2023) donde se investigó la bioconversión de estiércol con BSFL para producir biodiésel, se menciona que se pueden producir 1.3 g de biodiésel a partir de 100 g de estiércol en 21 días. En el presente trabajo, de acuerdo con los datos, de 100 g de suero de queso pueden obtenerse aproximadamente 1.01 g de biodiésel en 11 días, lo cual representa una disminución importante del tiempo de 10 días. Esta comparación resalta la eficiencia de una biorrefinería basada en suero de queso, ya que no sólo reduce significativamente el tiempo necesario para la producción de biodiésel y productos de interés, sino que también optimiza el proceso al utilizar un residuo lácteo abundante y potencialmente contaminante.

Si bien, pareciera que el tratamiento de suero de queso en un esquema de biorrefinería utilizando larvas de mosca soldado negro es una estrategia innovadora para la gestión de residuos y la generación de productos de valor agregado y biocombustibles, es indispensable que la biorrefinería propuesta sea evaluada en aspectos económicos, escalamiento, consumo energético e impacto ambiental para poder confirmar que es una alternativa sustentable. Sobre todo, sería interesante evaluar el impacto ambiental derivado del cultivo de los granos usados como entrada, así como la producción de reactivos químicos que se requieren en el proceso. Con base en este análisis se podrían proponer estrategias de mejora como sustitución de recursos, cambio de métodos, integración y optimización de procesos, entre otros.

7. Conclusiones

Este estudio es el primer trabajo en reportar la obtención de biodiésel a partir del tratamiento de suero de queso proveniente de la fabricación de quesos de vaca mediante un esquema de biorrefinería utilizando larvas de mosca soldado. Los resultados obtenidos demuestran que el suero de queso puede ser efectivamente tratado, generando una variedad de productos de interés y de los cuales se obtuvieron y analizaron el extracto antimicrobiano y antioxidante y biodiésel. Además, también existen otros productos como las larvas desgrasadas que pueden usarse suplemento proteico en la alimentación animal, así como la extracción de quitina y el frass que puede ser investigado como fertilizante natural y/o bioestimulante foliar.

También, la rápida conversión del suero de queso proveniente de la fabricación de quesos de vaca demuestra una mayor tasa de bioconversión y productividad de BSFL. Esta eficiencia temporal y productiva podría traducirse en menores costos operativos y un impacto ambiental reducido, haciendo del uso del suero de queso una alternativa atractiva y sostenible frente a otros residuos orgánicos. Sin embargo, es crucial seguir analizando la biorrefinería no sólo en términos de eficiencia y productividad, sino también en cuanto a su impacto social y ambiental. Realizar un análisis de ciclo de vida permitirá evaluar de manera integral los beneficios y desafíos de este enfoque, facilitando su implementación a mayor escala y promoviendo un desarrollo más sostenible y responsable.

8. Referencias bibliográficas

- Abd El-Wahed** A. A., Khalifa S.A.M., Sheikh B. Y., Farag M. A., Saeed A., Larik F. A., Koca-Caliskan U., AlAjmi M. F., Hassan M., Wahabi H. A., Hegazy M.E.F., Algethami A.F., Büttner S., El-Seedi H. R. (2019). Chapter 13 - Bee Venom Composition: From Chemistry to Biological Activity. *Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier, Vol. 60.
- Abdel-Shafy** H. I. y **Mansour** M. S. M. (2018). Solid waste issue: Sources, composition, disposal, recycling, and valorization. *Egyptian Journal of Petroleum* 27: 1275–1290.
- Ahmad** T., Aadil R.M., Ahmed H., Rahman U. ur, Soares B.C.V., Souza, S.L.Q., Pimentel T.C., Scudino H., Guimarães J.T., Esmerino E.A., Freitas M.Q., Almada R.B., Vendramel S.M.R., Silva M.C., Cruz, A.G. (2019). Treatment and utilization of dairy industrial waste: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 88, 361–372.
- AOAC**. Association of Official Analytical Chemists (2000). *Official Methods of Analysis*. 17th ed. Gaithersburg, MD, USA.
- Alalwan** H. A., Alminshid A. H. y Aljaafari H. A. S. (2019). Promising evolution of biofuel generations. Subject review. *Renewable Energy Focus* Vol. 28.
- Alemán** Z. W. (2005). Riesgos en los laboratorios: consideraciones para su prevención. *Higiene y Sanidad Ambiental*, 5, 132-137.
- Arora** A., Banerjee J., Vijayaraghavan R., MacFarlane D. y Patti A. F. (2018). Process design and techno-economic analysis of an integrated mango processing waste biorefinery. *Industrial Crops and Products* 116: 24–34.
- Asunis** F., De Gioannis G., Dessì P., Isipato M., Lens P.N.L., Muntoni A., Poletini A., Pomi R., Rossi A., Spiga D. (2020). The dairy biorefinery: Integrating treatment processes for cheese whey valorisation. *J. Environ. Manage.* 276, 111240.
- Barragan-Fonseca** K. B., Gort G., Dicke M., & van Loon J. J. A. (2019). Effects of dietary protein and carbohydrate on life-history traits and body protein and fat contents of the black soldier fly *Hermetia illucens*. *Physiological Entomology*, 44(2), 148–159.
- Basri** N.E.A., Azman N.A., Ahmad I.K., Suja F., Jalil N.A.A., Amrul N.F. (2022). Potential Applications of Frass Derived from Black Soldier Fly Larvae Treatment of Food Waste: A Review. *Foods* 11, 1–19.
- Bava** L., Jucker C., Gislón G., Lupi D., Savoldelli S., Zucali M. y Colombini S. (2019). Rearing of *Hermetia illucens* on different organic by-products: Influence on growth, waste reduction, and environmental impact. *Animals*, 9(6) 1-16.
- Borgogno** M., Dinnella C., Iaconi V., Fusi R., Scarpaleggia C., Schiavone A., Monteleone E., Gasco L. y Parisi G. (2017). Inclusion of *Hermetia illucens* larvae meal on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) feed: effect on sensory profile according to static and dynamic evaluations. *J Sci Food Agric*; 97: 3402–3411.

Brand-Williams W., Cuvelier M. E. y Berset C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologic*, 28, 25–30.

Bruni L., Pastorelli R., Viti C., Gasco L. y Parisi G. (2018). Characterisation of the intestinal microbial communities of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with *Hermetia illucens* (black soldier fly) partially defatted larva meal as partial dietary protein source. *Aquaculture* 487, 56–63.

Buñler S., Rumpold A. B., Jander E., Rawel H. M., Schlüter K. O. (2016). Recovery and techno-functionality of flours and proteins from two edible insect species: Mealworm (*Tenebrio molitor*) and black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *Heliyon* 2, e00218.

Caligiani A., Marseglia A., Sorci A., Bonzanini F., Lolli V., Maistrello L., Sforza S. (2019). Influence of the killing method of the black soldier fly on its lipid composition. *Food Res. Int.* 116, 276–282.

Caltzontzin-Rabell V., Escobar-Ortiz A., Gutiérrez-Antonio C., Feregrino-Pérez A.A., García-Trejo J.F. (2024). Reevaluation process of cheese whey through the cultivation of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*). *Eng. Reports* 1–12.

Cappellozza S., Leonardi M. G., Savoldelli S., Carminati D., Rizzolo A., Cortellino G., Terova G., Moretto E., Badaile A., Concheri G., Saviane A., Bruno D., Bonelli M., Caccia S., Casartelli M., Tettamanti G. (2019). A first attempt to produce proteins from insects by means of a circular economy. *Animals* 9, 1–24.

Cardador-Martínez A., Castaño-Tostado E., Loarca-Piña G. (2002). Antimutagenic activity of natural phenolic compounds in the common bean (*Phaseolus vulgaris*) against aflatoxinB1. *Food Additives and Contaminants*, 19(1): 62-69.

Carmona-Cabello M., Garcia I. L., Leiva-Candia D. y Dorado M. P. (2018). Valorization of food waste based on its composition through the concept of biorefinery. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry* 14: 67-79.

Carrillo-Nieves D., Rostro Alaní, M. J., de la Cruz Quiroz R., Ruiz H. A., Iqbal H. M. N. y Parra-Saldívar, R. (2019). Current status and future trends of bioethanol production from agro-industrial wastes in Mexico. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 102: 63–74.

Carvalho F., Prazeres A.R., Rivas J. (2013). Cheese whey wastewater: Characterization and treatment. *Sci. Total Environ.* 445–446, 385–396.

Chandel A. K., Garlapati V.K., Singh A.K., Antunes Fernandes F. A. y Da Silva S. S. (2018). The path forward for lignocellulose biorefineries: Bottlenecks, solutions, and perspective on commercialization. *Bioresource Technology* 264: 370–381.

Charalambous P., **Vyrides** I. (2021) In situ biogas upgrading and enhancement of anaerobic digestion of cheese whey by addition of scrap or powder zero-valent iron (ZVI). *JEnviron Manage.* 280: 111651.

Chávez-Servín J. L., Andrade-Montemayor H. M., Velázquez Vázquez C., Aguilera Barreyro A., García-Gasca T., Ferríz Martínez R.A., Olvera Ramírez A. M., de la Torre-Carbot K. (2018). Effects of feeding system, heat treatment and season on phenolic compounds and antioxidant capacity in goat milk, whey and cheese. *Small Ruminant Research*, 160; 54-58.

- Cheng** J. Y. K., Chiu S. L. H., & Lo I. M. C. (2017). Effects of moisture content of food waste on residue separation, larval growth and larval survival in black soldier fly bioconversion. *Waste Management*, 67, 315–323.
- Chia** S.Y., Mbi C., Id T., Khamis F.M., Mohamed A., Salifu D., Id S.S., Fiaboe K.K.M., Niassy S., Loon J.J.A. Van, Id M.D., Ekesi S. (2018). Threshold temperatures and thermal requirements of black soldier fly *Hermetia illucens*: Implications for mass production. *PLoS One* 9, 1–26.
- Chia** S.Y., Tanga C.M., Osuga I.M., Cheseto X., Ekesi S., Dicke M., van Loon J.J.A., (2020). Nutritional composition of black soldier fly larvae feeding on agro-industrial by-products. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 168, 472–481.
- Choi** W. H. y **Jiang** M. (2014). Evaluation of antibacterial activity of hexanedioic acid isolated from *Hermetia illucens* larvae. *Journal of applied biomedicine* 12: 179-189.
- Choi** W. H., Yun J. H., Chu J. P. y Chu K. B. (2012). Antibacterial effect of extracts of *Hermetia illucens* (diptera: Stratiomyidae) larvae against gram-negative bacteria. *Entomological Research* 42: 219–226.
- da Cruz** C.Z.P., de Mendonca R.J., Guimaraes L.H.S., Ramos M.A. dos S. Garrido S.S., de Paula A.V., Monti R., Massolini G. (2020). Assessment of the Bioactive Potential of Cheese Whey Protein Hydrolysates Using Immobilized Alcalase. *Food Bioprocess Technol.* 13, 2120–2130.
- Dahiya** S., Kumar A. N., Shanthi Sravan J., Chatterjee S., Sarkar O. y Mohan, S. V. (2018). Food waste biorefinery: Sustainable strategy for circular bioeconomy. *Bioresource Technology* 248: 2–12.
- Daneshvar** E., Zarrinmehr M. J., Koutra E., Kornaros M., Farhadian O. y Bhatnagar A. (2019). Sequential cultivation of microalgae in raw and recycled dairy wastewater: Microalgal growth, wastewater treatment and biochemical composition. *Bioresource Technology* 273: 556–564.
- Danieli** P. P., Lussiana C., Gasco L., Amici A., & Ronchi B. (2019). The Effects of Diet Formulation on the Yield, Proximate Composition, and Fatty Acid Profile of the BSF. *Animals*, 9 : 178.
- Demichelis** Francesca, Fiore S., Pleissner D. y Venus J. (2018). Technical and economic assessment of food waste valorization through a biorefinery chain. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 94: 38-48.
- De Smet** J., Wynants E., Cos P., Van Campenhout L. (2018). Microbial Community Dynamics during Rearing of Black. *Appl. Environ. Microbiol.* 84, 1–17.
- Devic** E., Leschen W., Murray F. y Little D.C. (2017). Growth performance, feed utilization and body composition of advanced nursing Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) larvae meal. *Aquaculture Nutrition*;1–8.
- Díaz-Jiménez** L., Carlos-Hernandez S., Jasso de Rodríguez D. y Rodríguez-García R. (2019). Conceptualization of a biorefinery for guishe revalorization. *Industrial Crops & Products* 138: 111441.
- Diclaro** II, Joseph W. y Phillip E. K. (2009). "Black Soldier Fly - *Hermetia Illucens*." Black Soldier Fly - *Hermetia Illucens*. University of Florida.

Diener S., Zurbrügg C., Tockner K. (2009). Conversion of organic material by black soldier fly larvae: Establishing optimal feeding rates. *Waste Manag. Res.* 27, 603–610.

Dortmans B.M.A., Diener S., Verstappen B.M., Zurbrügg C. (2017). *Black Soldier Fly Biowaste Processing - A Step-by-Step Guide* Eawag: Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology, Dübendorf, Switzerland.

Duan Y., Pandey A., Zhang Z., Awasthi M.K., Bhatia S.K., Taherzadeh M.J. (2020). Organic solid waste biorefinery: Sustainable strategy for emerging circular bioeconomy in China. *Ind. Crops Prod.* 153, 112568.

Elhag O., Zhou D., Song Q., Soomro A.A., Cai M., Zheng L., Yu Z., Zhang J. (2017). Screening, expression, purification and functional characterization of novel antimicrobial peptide genes from *Hermetia illucens* (L.). *PLoS One* 12, 1–15.

EUCAST. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 14.0, 2024. <http://www.eucast.org>

Ewald N., Vidakovic A., Langeland M., Kiessling A., Sampels S., Lalander C. (2020). Fatty acid composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) – Possibilities and limitations for modification through diet. *Waste Manag.* 102, 40–47.

FAO. Food and Agriculture Organization. (2011). Global food losses and food waste – Extent, causes and prevention. <http://www.fao.org/save-food/recursos/keyfindings/es/>

FAOStat. (2021). <http://www.fao.org/faostat/en/#search/global%20milk%20production>

Felton G.W., Summers C.B. (1995). Antioxidant Systems in insects. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 29, 187–197.

Feng W., Xiong H., Wang W., Duan X., Yang T., Wu C., Yang F., Xiong J., Wang T., Wang C. (2019). Energy consumption analysis of lipid extraction from black soldier fly biomass. *Energy* 185: 1076-1085.

Fischer C., Kleinschmidt T. (2015). Synthesis of galactooligosaccharides using sweet and acid whey as a substrate. *International Dairy Journal* 48, 15–22.

Franco A., Scieuzo C., Salvia R., Petrone A.M., Tafi E., Moretta A., Schmitt E., Falabella P. (2021). Lipids from *Hermetia illucens*, an innovative and sustainable source. *Sustainability.* 13.

Fukumoto L. R. y Mazza G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 48, 3597–3604.

Gao Z., Wang W., Lu X., Zhu F., Liu W., Wang X., Lei C. (2019). Bioconversion performance and life table of black soldier fly (*Hermetia illucens*) on fermented maize straw. *J. Clean. Prod.* 230, 974–980.

Gharibi H., Rashidi A., Jahani-Azizabadi H., Mahmoudi P. (2020). Evaluation of milk characteristics and fatty acid profiles in Markhoz and Kurdish hairy goats. *Small Rumin. Res.* 192, 106195.

- Ghatak H. R.** (2011). Chemical Biorefineries from the perspective of sustainability: Feedstocks, products, and processes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 15: 4042–4052.
- Ghobrini D.**, Brányik T., Kebbab L., Poutout B. y Aïboud K. (2018). Cultivation of *Chlorella vulgaris* using saline medium from a dairy effluent. *Proceedings of 2018 6th International Renewable and Sustainable Energy Conference, IRSEC 2018* 256: 1–5.
- Giannetto A.**, Oliva S., Ceccon Lanes C.F., de Araújo Pedron F., Savastano D., Baviera C., Parrino V., Lo Paro G., Spanò N.C., Cappello T., Maisano M., Mauceri A., Fasulo S. (2020). *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larvae and prepupae: Biomass production, fatty acid profile and expression of key genes involved in lipid metabolism. *J. Biotechnol.* 307, 44–54.
- Giroto F. y Cossu R.** (2019). Role of animals in waste management with a focus on invertebrates' biorefinery: An overview. *Environmental Development*.
- Gramegna G.**, Scortica A., Scafati V., Ferella F., Gurrieri L., Giovannoni M., Bassi, R., Sparla, F., Mattei B. y Benedetti M.G. (2020). Exploring the potential of microalgae in the recycling of dairy wastes. *Bioresource Technology* 12: 100604.
- Guarnieri A.**, Triunfo M., Scieuzo C., Ianniciello D., Tafi E., Hahn T., Zibek S., Salvia R., De Bonis A., Falabella P. (2022). Antimicrobial properties of chitosan from different developmental stages of the bioconverter insect *Hermetia illucens*. *Sci. Rep.* 12, 1–12.
- Guo M.**, Song W. y Buhain, J. (2015). Bioenergy and biofuels: History, status, and perspective. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* Vol. 42: 712-725.
- Hadj Saadoun J.**, Montevicchi G., Zanasi L., Bortolini S., Macavei L.I., Masino F., Maistrello L., Antonelli A. (2020). Lipid profile and growth of black soldier flies (*Hermetia illucens*, Stratiomyidae) reared on by-products from different food chains. *J. Sci. Food Agric.* 100, 3648–3657.
- Hassan S. S.**, Williams G. A., y Jaiswal A. K. (2019). Moving towards the second generation of lignocellulosic biorefineries in the EU: Drivers, challenges, and opportunities. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 101: 590–599.
- Hemalatha M.**, Sravan J.S., Min B., Venkata Mohan S. (2019). Microalgae-biorefinery with cascading resource recovery design associated to dairy wastewater treatment. *Bioresour. Technol.* 284, 424–429.
- Henno M.**, Ots M., Jõudu I., Kaart T., Kärt O. (2008). Factors affecting the freezing point stability of milk from individual cows. *Int. Dairy J.* 18, 210–215.
- Hu Y.**, Huang Y., Tang T., Zhong L., Chu W., Dai Z., Chen K., Hu Yi. (2020). Effect of partial black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal replacement of fish meal in practical diets on the growth, digestive enzyme and related gene expression for rice field eel (*Monopterus albus*). *Aquaculture Reports* 17.
- Hudzicki J.** (2009). Kirby-bauer disk diffusion susceptibility test protocol. <https://www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol.3189>

Isibika A., Vinnerås B., Kibazohi O., Zurbrügg C., Lalander C. (2019). Pre-treatment of banana peel to improve composting by black soldier fly (*Hermetia illucens* (L.), Diptera: Stratiomyidae) larvae. *Waste Manag.* 100, 151–160.

Jantzen Da Silva L., Menegon D. O., Da Rocha M., Prentice C. (2019). Edible insects: an alternative of nutritional, functional and bioactive compounds, *Food Chemistry*.

Jucker C., Lupi D., Moore C.D., Leonardi M.G., Savoldelli S. (2020a). Nutrient recapture from insect farm waste: Bioconversion with *hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae). *Sustain.* 12, 14.

Kamarulzaman M.K., Hafiz M., Abdullah A., Chen A.F., Awad O.I. (2019). Combustion, performances and emissions characteristics of black soldier fly larvae oil and diesel blends in compression ignition engine. *Renewable Energy* 142, 569–580.

Kamm B., Kamm M., Soyez K. (1998). The green biorefinery, concept of technology. In: 1st International Symposium on Green Biorefinery. Society of Ecological Technology and System Analysis, Berlin.

Katya K., Borsra M. Z. S., Ganesan D., Kuppusamy G., Herriman M., Salter A., Azam A. S. (2017). Efficacy of insect larval meal to replace fish meal in juvenile barramundi, *Lates calcarifer* reared in freshwater. *Int Aquat Res*, 9:303–312.

Kim W., Bae S., Park K., Lee S., Choi Y., Han, S. y Koh Y. (2011). Biochemical characterization of digestive enzymes in the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology* 14: 11–14.

Klammsteiner T., Turan V., Juárez M.F.D., Oberegger S., Insam H. (2020). Suitability of black soldier fly frass as soil amendment and implication for organic waste hygienization. *Agronomy* 10.

Kopsahelis N., Dimou C., Papadaki A., Xenopoulos E., Kyraleou M., Kallithraka S., Kotseridis Y., Papanikolaou S., Koutinas A.A. (2018). Refining of wine lees and cheese whey for the production of microbial oil, polyphenol-rich extracts and value-added co-products. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 93, 257–268.

Kudakasseril K. J., Raveendran N. G., Hussain A., y Vijaya R.G. S. (2013). Feedstocks, logistics and pre-treatment processes for sustainable lignocellulosic biorefineries: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 25: 205-219.

Lagat M.K., Were S., Ndwigah F., Kemboi V.J., Kipkoech C., Tanga C.M. (2021). Antimicrobial activity of chemically and biologically treated chitosan prepared from black soldier fly (*Hermetia illucens*) pupal shell waste. *Microorganisms* 9.

Lalander C., Diener S., Zurbrügg C. y Vinnerås B. (2019). Effects of feedstock on larval development and process efficiency in waste treatment with black soldier fly (*Hermetia illucens*). *Journal of Cleaner Production* 208: 211–219.

Lappa I.K., Papadaki A., Kachrimanidou V. (2019). Cheese Whey Processing: Integrated Biorefinery. *Foods* 8, 1–37.

- Lavelli V.** y **Beccalli M.P.** (2022). Cheese whey recycling in the perspective of the circular economy: Modeling processes and the supply chain to design the involvement of the small and medium enterprises. *Trends Food Sci. Technol.* 126, 86–98.
- Lee K.S.,** Yun E.Y. y Goo T.W. (2020). Antimicrobial activity of an extract of *Hermetia illucens* larvae immunized with lactobacillus casei against *Salmonella species*. *Insects* 11, 1–11.
- Li Q.,** Zheng L., Cai H., Garza E., Yu Z., Zhou S. (2011). From organic waste to biodiesel: Black soldier fly, *Hermetia illucens*, makes it feasible. *Fuel* 90, 1545–1548.
- Li W.,** Li Q., Zheng L., Wang Y., Zhang J., Yu Z., Zhang Y. (2015). Potential biodiesel and biogas production from corncob by anaerobic fermentation and black soldier fly. *Bioresour. Technol.* 194, 276–282.
- Li S.,** Ji H., Zhang B., Zhou J., Yu H. (2017). Defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal in diets for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian): Growth performance, antioxidant enzyme activities, digestive enzyme activities, intestine and hepatopancreas histological structure. *Aquaculture* 477, 62–70.
- Liew W. H.,** Hassim M. H., y Ng D. K. S. (2014). Review of evolution, technology and sustainability assessments of biofuel production. *Journal of Cleaner Production* 71: 11–29.
- Liew C.S.,** Mong G.R., Lim J.W., Raksasat R., Rawindran H., Hassan M.A., Lam M.K., Khoo K.S., Zango Z.U. (2023). Low-temperature thermal pre-treated sewage sludge for feeding of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae: Protein, lipid and biodiesel profile and characterization. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 178, 113241.
- Liland N. S.,** Biancarosa I., Araujo P., Biemans D., Bruckner C.G. y Waagbø R. (2017). Modulation of nutrient composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae by feeding seaweed- enriched media. *PLoS ONE* 12(8): e0183188.
- Lindberg L.,** Ermolaev E., Vinnerås B., Lalander C. (2022). Process efficiency and greenhouse gas emissions in black soldier fly larvae composting of fruit and vegetable waste with and without pre-treatment. *J. Clean. Prod.* 338, 130552.
- Liu X.,** Chen X., Wang H., Yang Q., Ur Rehman K., Li W., Cai M., Li Q., Mazza L., Zhang J., Yu Z. y Zheng L. (2017). Dynamic changes of nutrient composition throughout the entire life cycle of black soldier fly. *PLoS ONE*, 12(8), 1–21.
- Lock E.R.,** Arsiwalla T., Waagbø. (2016). Insect larvae meal as an alternative source of nutrients in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) postsmolt. *Aquaculture Nutrition*: 22; 1202–1213.
- Lu J.,** Guo Y., Muhmood A., Zeng B., Qiu Y., Wang P., Ren L. (2022). Probing the antioxidant activity of functional proteins and bioactive peptides in *Hermetia illucens* larvae fed with food wastes. *Sci. Rep.* 12, 1–10.
- De Marco M.,** Martínez S., Hernandez F., Madrid J., Gai F., Rotolo L., Belforti M., Bergero D., Katz H., Dabbou S., Kovitvadhii A., Zoccarato I., Gasco L., Schiavone A. (2015). Nutritional value of two insect larval meals (*Tenebrio molitor* and *Hermetia illucens*) for broiler chickens: Apparent nutrient digestibility, apparent ileal amino acid digestibility and apparent metabolizable energy. *Animal Feed Science and Technology*: 209; 211–218.

Ma J., Lei Y., Rehman K.U., Yu Z., Zhang J., Li W., Li Q., Tomberlin J.K., Zheng L., (2018). Dynamic Effects of Initial pH of Substrate on Biological Growth and Metamorphosis of Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae). *Environmental Entomology*. 47, 159–165.

Martín-del-Campo S.T.; Martínez-Basilio P.C.; Sepúlveda-Álvarez J.C.; Gutiérrez-Melchor S.E.; Galindo-Peña K.D.; Lara-Domínguez A.K.; Cardador-Martínez A. (2019). Production of Antioxidant and ACEI Peptides from Cheese Whey Discarded from Mexican White Cheese Production. *Antioxidants* 8, 158.

Menchik P., Zuber T., Zuber A., Moraru C.I. (2019). Short communication: Composition of coproduct streams from dairy processing: Acid whey and milk permeate. *J. Dairy Sci.* 102, 3978–3984.

Meneguz M., Gasco L., Tomberlin J.K., (2018a). Impact of pH and feeding system on BSF larval development. *PLoS One* 13, 1–15.

Meneguz M., Schiavone A., Gai F., Dama A., Lussiana C., Renna M., Gasco L., (2018b). Effect of rearing substrate on growth performance, waste reduction efficiency and chemical composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *J. Sci. Food Agric.* 98, 5776–5784.

Merrill A.L., Watt B.K. (1973). Energy value of foods: basis and derivation. Washington: Human Nutrition Research Branch, Agricultural Research Service; for sale by the Supt. of Docs., U.S. Govt. Print. Off.

Mohamed H., Marusich E., Afanasev Y., Leonov S. (2021). Fatty acids-enriched fractions of hermetia illucens (Black soldier fly) larvae fat can combat MDR pathogenic fish bacteria aeromonas spp. *Int. J. Mol. Sci.* 22.

Moncada B. J., Aristizábal M. V., y Cardona A. C. A. (2016). Design strategies for sustainable biorefineries. *Biochemical Engineering Journal* 116: 122–134.

Munteanu I.G., Apetrei C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 3380.

Nagarajan D., Lee D.J., Chen C.Y., Chang J.S. (2020). Resource recovery from wastewaters using microalgae-based approaches: A circular bioeconomy perspective. *Bioresour. Technol.* 302, 122817.

Naser El Deen S., van Rozen K., Elissen H., et al. (2023). Bioconversion of different waste streams of animal and vegetal origin and manure by black soldier Fly larvae *Hermetia illucens* L (Diptera: Stratiomyidae). *Insects*: 14:204.

Navarro del Hierro J., Gutiérrez-Docio A., Otero P., Reglero G. y Martín D. (2019). Characterization, antioxidant activity, and inhibitory effect on pancreatic lipase of extracts from the edible insects *Acheta domesticus* and *Tenebrio molitor*, *Food Chemistry*.

Negro M. J., Manzanares P., Ruiz E., Castro E. y Ballesteros M. (2017). The biorefinery concept for the industrial valorization of residues from olive oil industry. *Olive Mill Waste: Recent Advances for Sustainable Management*: 57–78.

Nenadis N., Wang L. F., Tsimidou M. y Zhang H. Y. (2004). Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS•+ Assay. *J. Agric. Food Chem.* 52:4669-4674.

- Neven** L.G. (2000). Physiological responses of insects to heat. *Postharvest Biol. Technol.* 21, 552–103–111.
- Newton** L., Sheppard C., Watson D. W., Burtle G., Dove R. (2005). Using the Black Soldier Fly, *Hermetia Illucens*, as a value-added tool for the management of swine manure.
- Newton** L., Sheppard C., Watson D. W., Burtle G., Dove R., Tomberlin J.K. y Thelen E.E. (2004). "The Black Soldier Fly, *Hermetia Illucens*, As a Manure Management/Resource Recovery Tool." 1-5. Abstract. (n.d.): n. pag. Print.
- Ng** D. K. S., Ng K. S. y Ng R. T. L. (2017). Integrated Biorefineries. In *Encyclopedia of Sustainable Technologies*: 299–314.
- Nguyen** H.C., Liang S.H., Li S.Y., Su C.H., Chien C.C., Chen Y.J., Huong D.T.M. (2018). Direct transesterification of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) for biodiesel production. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 85, 165–169.
- Nishanthi** M., Chandrapala J., Vasiljevic T. (2017). Compositional and structural properties of whey proteins of sweet, acid and salty whey concentrates and their respective spray dried powders. *Int. Dairy J.* 74, 49–56.
- Nizami** A. S., Rehan M., Waqas M., Naqvi M., Ouda O. K. M., Shahzad K., Pant D. (2017). Waste biorefineries: Enabling circular economies in developing countries. *Bioresource Technology* 241: 1101–1117.
- Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002**, Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico-infecciosos-Clasificación y especificaciones de manejo.
- Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005**, Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos.
- Norma Oficial Mexicana NOM-002-SEMARNAT-1996**, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal.
- Oomah** B. D., Cardador-Martínez A., Loarca-Piña G. (2005). Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris L*) *J Sci food Agric.* 85: 935-942.
- Oppedisano** F., Macr R., Gliozzi M., Musolino V., Carresi C., Maiuolo J., Bosco F., Nucera S., Zito M.C., Guarnieri L., Scarano F., Nicita C., Coppoletta A.R., Ruga S., Scicchitano M., Mollace R., Palma E., Mollace V. (2020). The Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of n-3 PUFAs: Their Role in Cardiovascular Protection. *Biomedicines* 8, 1–18.
- Padmanabha** M., Kobelski A., Hempel A.J., Streif S. (2020). A comprehensive dynamic growth and development model of *Hermetia illucens* larvae. *PLoS One* 15, 1–25.
- Padmanabha** M., Kobelski A., Hempel A.J., Streif S. (2023). Modelling and optimal control of growth, energy, and resource dynamics of *Hermetia illucens* in mass production environment. *Comput. Electron. Agric.* 206.

Pang W., Hou D., Chen J., Nowar E.E., Li Z., Hu R., Tomberlin J.K., Yu Z., Li Q., Wang S. (2020). Reducing greenhouse gas emissions and enhancing carbon and nitrogen conversion in food wastes by the black soldier fly. *J. Environ. Manage.* 260, 110066.

Park S. I., Kim J. W. y Yoe S. M. (2015). Purification and characterization of a novel antibacterial peptide from black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *Developmental and Comparative Immunology* 52: 98–106.

Park J.-Y., Jung S., Na Y.-G., Jeon C.-H., Cheon H.-Y., Yun E.-Y., Lee S., Kwon E. E., y Kim, J.-K. (2021). Biodiesel production from the black soldier fly larvae grown on food waste and its fuel property characterization as a potential transportation fuel. *Environmental Engineering Research*, 27(3), 200704–0.

Patel A.K., Joun J., Sim S.J. (2020). A sustainable mixotrophic microalgae cultivation from dairy wastes for carbon credit, bioremediation and lucrative biofuels. *Bioresource Technology* 313, 123681.

Pereira C.I. do V., Dametto J.F. dos S., Oliveira J.C.C. (2016). Evaluation of human milk titratable acidity before and after addition of a nutritional supplement for preterm newborns. *J. Pediatr. (Rio. J.)* 92, 499–504.

Ponist J., Samesova D., Schwarz M. (2021). Methods of processing whey waste from dairies. A review. *Environ. Prot. Eng.* 47, 67–84.

Qureshi T.M., Amjad A., Nadeem M., Murtaza M.A., Munir M. (2019). Antioxidant potential of a soft cheese (paneer) supplemented with the extracts of date (*Phoenix dactylifera L.*) cultivars and its whey. *Asian-Australas J Anim Sci.* 32(10):1591-1602.

Rahmi F.A., Elfidasari, D., Rini F., Azhar M. I., Sisingamangaraja A., Kebayoran baru J. S. J., Jakarta Indonesia D. (2020). Banana and cassava peel waste bioconversion using black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *Int. J. Entomol. Res.* 5, 67–70.

Rehman K. ur, Rehman A., Cai, M. Zheng, L., Xiao X., Somroo A. A. y Zhang, J. (2017). Conversion of mixtures of dairy manure and soybean curd residue by black soldier fly larvae (*Hermetia illucens L.*). *Journal of Cleaner Production*, 154: 366–373.

Renna M., Schiavone A., Gai F., Dabbou S., Lussiana C., Malfatto V., Prearo M., Capucchio M. T., Biasato I., Biasibetti E., De Marco M., Brugiapaglia A., Zoccarato I. y Gasco L. (2017). Evaluation of the suitability of a partially defatted black soldier fly (*Hermetia illucens L.*) larvae meal as ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*) diets. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8:57.

Romano N. (2022). Cardboard supplementation on the growth and nutritional content of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae and resulting frass. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 42, 3357–3362.

Romano N., Sinha A.K., Powell A., Fischer H. (2023). Mineral composition in black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae and resulting frass from fruit and their peels. *J. Insects as Food Feed* 9, 43–53.

Salomone R., Saija G., Mondello G., Giannetto A., Fasulo S., & Savastano D. (2017). Environmental impact of food waste bioconversion by insects: Application of Life Cycle Assessment to process using *Hermetia illucens*. *Journal of Cleaner Production*, 140, 890–905.

- Sánchez-Estrada** M. de la L., Caltzontzin-Rabell V., Feregrino-Pérez A.A. (2023). Nutritional Composition, Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Different Samples of Water Boatmen Eggs (Hemiptera: Corixidae). *Foods* 12, 1–15.
- Scala** A., Cammack J. A., Salvia R., Scieuzo C., Franco A., Bufo S. A., Tomberlin J. K., & Falabella P. (2020). Rearing substrate impacts growth and macronutrient composition of *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae) larvae produced at an industrial scale. *Scientific Reports*, 10(1), 1–8.
- Sebastián-Nicolás** J.L., González-Olivares L.G., Vázquez-Rodríguez G.A., Lucho Constatino C.A., Castañeda-Ovando A., Cruz-Guerrero A.E. (2020). Valorization of whey using a biorefinery. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* 14, 1010–1027.
- Seyedalmoosavi** M.M., Mielenz M., Veldkamp T., Daş G., Metges C.C. (2022). Growth efficiency, intestinal biology, and nutrient utilization and requirements of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae compared to monogastric livestock species: a review. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 13, 1–20.
- Shumo** M., Osuga I.M., Khamis F.M., Tanga C.M., Fiaboe K.K.M., Subramanian S., Ekesi S., van Huis A., Borgemeister C. (2019). The nutritive value of black soldier fly larvae reared on common organic waste streams in Kenya. *Sci. Rep.* 9, 1–13.
- Situmorang** Y. A., Zhao Z., Yoshida A., Kasai Y., Abudula A. y Guan, G. (2019). Potential power generation on a small-scale separated-type biomass gasification system. *Energy* 179: 19-29.
- Singleton** V.I., Orthofer R. y Lamuela R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymology*, 299: 152-178.
- Sperandio** G. B. y **Ferreira** Filho E. X. (2019). Fungal co-cultures in the lignocellulosic biorefinery context: A review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 142: 109–123.
- Spranghers** T., Ottoboni M., Klootwijk C., Oryn A., Deboosere S., De Meulenaer B., Michiels J., Eeckhout M., De Clercq P. y De Smet S. (2017). Nutritional composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on different organic waste substrates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*; 97: 2594–2600.
- St-Hilaire** S., Cranfill, K., Mark A., McGuire E., Mosley E., Tomberlin J. K., Newton L., Sealey W., Sheppard C. y Irving S. (2007). Fish offal recycling by the black soldier fly produces a food stuff high in omega-3 fatty acids. *Journal of the World Aquaculture Society* 38: 309-313.
- Stenberg** O.K., Holen E., Piemontese L., Liland N.S., Lock E.J., Espe M., Belghit I. (2019). Effect of dietary replacement of fish meal with insect meal on in vitro bacterial and viral induced gene response in Atlantic salmon (*Salmo salar*) head kidney leukocytes. *Fish Shellfish Immunol.* 91, 223–232.
- Tschirner** M. y **Simon** A. (2015). Influence of different growing substrates and processing on the nutrient composition of black soldier fly larvae destined for animal feed. *Journal of Insects as Food and Feed*; 1(4): 249-259.
- Vlyssides** A.G., Tsimas, E.S., Barampouti, E.M.P., Mai, S.T. (2012). Anaerobic digestion of cheese dairy wastewater following chemical oxidation. *Biosyst. Eng.* 113, 253–258.

Venkata M. S., Dahiya S., Amulya K., Katakojwala R. y Vanitha T. K. (2019). Can circular bioeconomy be fueled by waste biorefineries — A closer look. *Bioresource Technology Reports*: 7, 100277.

Waśko A., Bulak P., Polak-Berecka M., Nowak K., Polakowski C. y Bieganski A. (2016). The first report of the physicochemical structure of chitin isolated from *Hermetia illucens*. *International Journal of Biological Macromolecules* 92: 316–320.

Watson P.D. y **Tittler** R.P. (1961). The Density of Milk at Low Temperatures. *J. Dairy Sci.* 44, 416–424.

Wong C.Y., Rosli S.S., Uemura Y., Ho Y.C., Leejeerajumnean A., Kiatkittipong W., Cheng C.K., Lam M.K., Lim J.W. (2019). Potential protein and biodiesel sources from black soldier fly larvae: Insights of larval harvesting instar and fermented feeding medium. *Energies* 12.

Xiao X., Jin P., Zheng L., Cai M., Yu Z., Yu J. y Zhang J. (2018). Effects of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal protein as a fishmeal replacement on the growth and immune index of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Aquaculture Research*; 49:1569–1577.

Zhang M., Xie L., Yin Z., Khanal S. K. y Zhou Q. (2016). Biorefinery approach for cassava-based industrial wastes: Current status and opportunities. *Bioresource Technology* 215, 50–62.

Zheng L., Li Q., Zhang J. y Yu, Z. (2012a). Double the biodiesel yield: Rearing black soldier fly larvae, *Hermetia illucens*, on solid residual fraction of restaurant waste after grease extraction for biodiesel production. *Renewable Energy*, 41, 75–79.

Zotta T., Solieri L., Iacumin L., Picozzi C. y Gullo M. (2020). Valorization of cheese whey using microbial fermentations. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 104, 7, 2749–2764.

Zurbrügg C., Dortmans B., Fadhila A., Vertsappen B., & Diener S. (2018). From pilot to full scale operation of a waste-to-protein treatment facility. *Detritus*, 1(March), 18–22.

Anexo A: Prácticas de seguridad e higiene.

Con el objetivo de prevenir y actuar ante accidentes que puedan suscitarse dentro y fuera de los laboratorios a utilizar, se atendieron las siguientes prácticas de seguridad e higiene basadas en lo reportado por Alemán (2005), NOM-002-SEMARNAT-1996, NOM-052-SEMARNAT-2005 y NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002:

1. Atender las medidas de sana distancia (1.5 m de separación) entre compañeros.
2. Conocer la hoja de datos de seguridad de todos los reactivos que se emplearán en los experimentos a realizar.
3. Mantener la campana de extracción limpia y sin reactivos.
4. Evitar el uso de dispositivos móviles cuando se manipulen sustancias químicas en las mesas de trabajo.
5. Mantener el área de trabajo limpia y ordenada.
6. No comer ni almacenar alimentos dentro del laboratorio.
7. No tocar con las manos los ojos, nariz o boca mientras se utilicen guantes.
8. Lavar las manos después de retirarse los guantes y antes de salir del laboratorio.
9. Utilizar el equipo de protección personal requerido (bata, guantes y/o lentes de seguridad) y, en caso de tener el cabello largo, mantenerlo recogido.
10. Utilizar siempre pantalón y zapato cerrado dentro del laboratorio.
11. No devolver reactivos al envase original si existe un sobrante, separar la cantidad aproximada.
12. Nunca desechar residuos peligrosos en el desagüe, se deberá contar con envases de bioseguridad etiquetados adecuadamente, los cuales se eliminarán previo acuerdo con el gestor de residuos contratado (esto incluye telas o papeles impregnados).

13. En el caso de los residuos peligrosos y biológico infecciosos como punzantes y cortantes, se deben depositar en recipientes adecuados y deben ser descontaminados antes de su eliminación.
14. Los solventes utilizados se clasifican por polaridad y posteriormente son transportados por especialistas en el manejo de solventes a una planta de residuos (externa a la UAQ) para su inactivación y/o reutilización.
15. Transportar los productos en bandejas o recipientes para evitar derrames en caso de roturas.
16. No efectuar pipeteos con la boca.
17. Asegurar el enfriamiento de los materiales antes de aplicar directamente las manos para tomarlos.
18. No dejar mecheros encendidos y sin vigilancia.
19. Al finalizar una tarea u operación, recoger materiales, reactivos, equipos, etc., evitando las acumulaciones innecesarias. Asegurar además la desconexión de aparatos, agua, gases, etc.
20. Usar y almacenar productos inflamables en las cantidades imprescindibles.
21. Sustituir los productos químicos más peligrosos por otros que sean de menor peligrosidad.
22. Comprobar el adecuado etiquetaje de recipientes y botellas. Etiquetar debidamente las soluciones preparadas en el laboratorio.
23. No reutilizar envases para otros productos sin quitar la etiqueta original.
24. No sobreponer etiquetas.

Los desechos orgánicos generados de las muestras y desechos agroindustriales derivados se destinaron a la composta, siempre y cuando estos residuos agrícolas no contengan sustancias contaminantes.

Anexo B: Productos obtenidos derivados de la presente investigación

A continuación, se muestran los productos obtenidos a partir del presente trabajo.

1. Artículo científico publicado en revista Engineering Reports “Revaluation process of cheese whey through the cultivation of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*)” 2024. <https://doi.org/10.1002/eng2.12853>

Received: 2 July 2023 | Revised: 23 December 2023 | Accepted: 9 January 2024
DOI: 10.1002/eng2.12853

RESEARCH ARTICLE

Engineering Reports WILEY

Revaluation process of cheese whey through the cultivation of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*)

Valeria Caltzontzin-Rabell¹ | Alexandro Escobar-Ortiz² | Claudia Gutiérrez-Antonio¹ | Ana Angélica Feregrino-Pérez¹ | Juan Fernando García-Trejo¹

¹Facultad de Ingeniería, Campus Amazcala, Universidad Autónoma de Querétaro, El Marqués, Mexico
²Facultad de Química, Centro Universitario, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, Mexico

Correspondence
Claudia Gutiérrez-Antonio, Engineering School, Universidad Autónoma de Querétaro, Carretera Chichimequillas-Amazcala Km 1 S/N, Amazcala, C.P. 76265, El Marqués, Querétaro, Mexico.
Email: claudia.gutierrez@uaq.mx; claugter@gmail.com

Abstract
Organic wastes, including cheese whey, are generated in greater quantities each year, which require management that has economic and social implications. Current treatments of cheese whey do not allow for its complete degradation or utilization. In this context, black soldier fly larvae (BSFL) promise to degrade a variety of wastes while generating and accumulating value-added products such as protein, fat that can be transformed into biodiesel, and fertilizer can be obtained from their residues. In this work, the aim was to evaluate the cultivation of BSFL as a biological treatment for the revaluation process of cheese whey, as well as the composition of the larvae and residue (FRASS) obtained for the subsequent extraction of value-added products such as fat or protein. It was observed that cheese whey did not affect the growth of the larvae; on the contrary, it increased it (final

2. Artículo científico publicado en revista Heliyon. “Bio-upcycling of cheese whey: Transforming waste into raw materials for biofuels and animal feed” 2024. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32700>

Heliyon 10 (2024) e32700

Contents lists available at ScienceDirect

CellPress

Heliyon

journal homepage: www.cell.com/heliyon

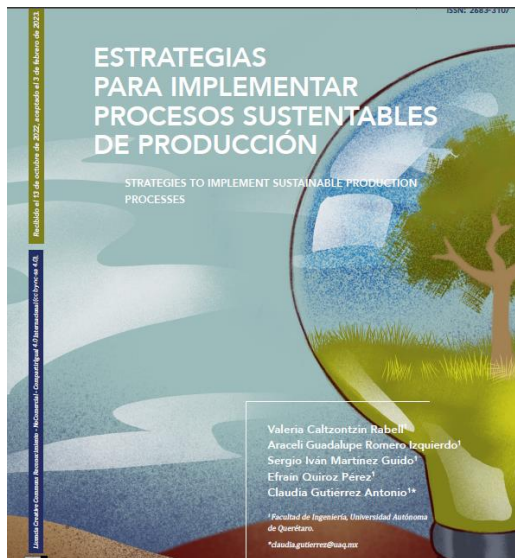
Research article

Bio-upcycling of cheese whey: Transforming waste into raw materials for biofuels and animal feed

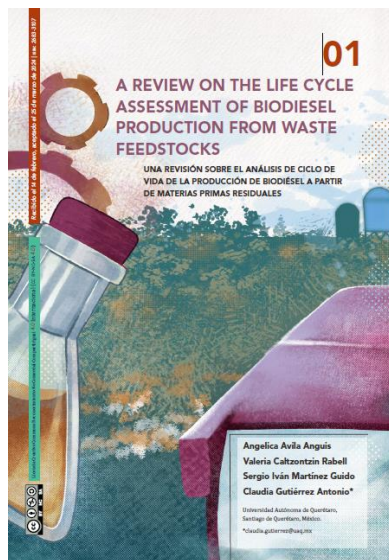
Valeria Caltzontzin-Rabell, Ana Angélica Feregrino-Pérez, Claudia Gutiérrez-Antonio

Facultad de Ingeniería, Campus Amazcala, Universidad Autónoma de Querétaro, Carretera a Chichimequillas km 1 s/n, El Marqués, Querétaro, C.P. 76265, Mexico

3. Artículo científico publicado en la revista “Perspectivas de la Ciencia y la Tecnología” 2024. ISSN: 2683-3107. “Estrategias para implementar procesos sustentables de producción”



- Artículo científico publicado en la revista “Perspectivas de la Ciencia y la Tecnología” 2024. ISSN: 2683-3107. “A review on the life cycle assessment of biodiesel production from waste feedstocks”



- Artículo de divulgación “Obtención de biodiésel a partir de larvas de una mosca”. Revista Ciencia de la Academia Mexicana de Ciencias registrada en el padrón de CONAHCYT. 2024.



Valeria Calzontzin-Rabell y Claudia Gutiérrez Antonio



Obtención de biodiésel a partir de larvas de una mosca

Los residuos orgánicos son una alternativa para la obtención de energía, ya que no se usan como alimento y su producción es constante. Dichos residuos pueden emplearse para el cultivo de la mosca soldado; las larvas de esta mosca tienen una alta eficiencia de conversión, y generan grasa que puede ser convertida en biodiésel. Si se manipula la generación de grasas a partir de la alimentación, es posible incrementar la producción de biodiésel.

Introducción

La energía que se utiliza para cargar nuestro teléfono, calentar nuestra comida y hacer que nuestro automóvil se mueva proviene en su mayoría de combustibles fósiles; el 80% de la energía a nivel mundial se produce a partir de la quema de estos combustibles. Lo cual genera grandes cantidades de gases de efecto

6. Artículo de divulgación “Alternativas para el aprovechamiento integral de residuos orgánicos”. Revista Ciencia de la Academia Mexicana de Ciencias registrada en el padrón de CONAHCYT. 2022.



Valeria Calzontzin Rabell, Claudia Gutiérrez Antonio y Juan Fernando García Trejo



Alternativas para el aprovechamiento integral de residuos orgánicos

Los residuos orgánicos representan un problema de contaminación, ya que se generan en grandes volúmenes. Si bien pueden aprovecharse mediante diferentes procesos de conversión, el tipo de productos que se obtiene es limitado. En cambio, el uso de biorrefinerías, que incluyan el cultivo de insectos como pretratamiento, permitirá generar una amplia gama de productos de una manera integral.

7. Artículo de divulgación “Conversión de residuos orgánicos en biodiésel: un enfoque sustentable”. Revista Emprennova. 2022.

Conversión de residuos orgánicos en biodiésel: un enfoque sustentable

Conversion of organic waste into biodiesel: a sustainable approach

Carlos Fernández Villascán
carlosfernandez138@gmail.com

Valeria Caltzontzin-Rabell
valeria.caltzontzinrabell@gmail.com

Sergio Iván Martínez Guido
dcq.guido@gmail.com

Araceli Guadalupe Romero-Izquierdo
irga9912@gmail.com

Claudia Gutiérrez-Antonio
Claudia.gutierrez@uaq.mx

RESUMEN

8. Capítulo de libro “Chapter 2- Raw materials for a biomass-based industry”. Editado por Elsevier 2022. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824116-5.00010-6>



Biofuels and Biorefining
Volume 1: Current Technologies for Biomass Conversion
2022, Pages 25-52



Chapter 2 - Raw materials for a biomass-based industry

Valeria Caltzontzin-Rabell ^a, Araceli Guadalupe Romero-Izquierdo ^a,
Ana Laura Moreno-Gómez ^b, Sergio Iván Martínez-Guido ^a,
Fernando Israel Gómez-Castro ^c, Claudia Gutiérrez-Antonio ^a

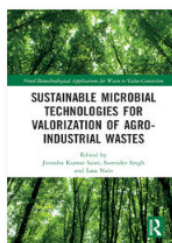
Show more

Add to Mendeley Share Cite

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824116-5.00010-6>

[Get rights and content](#)

9. Capítulo de libro “Chapter 19- Concepts and Recent Trends in Life Cycle Analyses in Waste Valorization”. Editado por CRC Press 2022.



Chapter

Concepts and Recent Trends in Life Cycle Analyses in Waste Valorization

By Valeria Caltzontzin-Rabell, Sergio Iván Martínez-Guido, Claudia Gutiérrez-Antonio, Juan Fernando García-Trejo, Ana Angélica Feregrino-Pérez

Book [Sustainable Microbial Technologies for Valorization of Agro-Industrial Wastes](#)

Edition	1st Edition
First Published	2022
Imprint	CRC Press
Pages	25
eBook ISBN	9781003191247



Share

10. Capítulo de libro “Chapter 13- Microalgae-based biofuels: advances and challenges”. Editado por Elsevier 2022. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-21430-1.00007-7>



13

Microalgae-based biofuels: advances and challenges

Valeria Caltzontzin-Rabell¹, Oscar Daniel
Lava-Montaña¹, Araceli Guadalupe Romero-Izquierdo¹,
Sergio Iván Martínez-Guido¹, Salvador Hernández²
and Claudia Gutiérrez-Antonio¹

¹Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro,
México, ²Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Guanajuato,
Guanajuato, México

11. Artículo científico publicado en revista CienciaUAQ. ISSN: 2395-8847
“Perspectiva ética sobre el uso de insectos en proyectos de investigación”.
2021.



PERSPECTIVA ÉTICA SOBRE EL USO DE INSECTOS EN PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN.

ETHICAL PERSPECTIVE ON THE USE OF INSECTS IN RESEARCH PROJECTS.

Caltzontzin-Rabell Valeria¹, Romero-Zepeda Hilda¹, Gutiérrez-Antonio Claudia^{2*}, García-Trejo Juan Fernando¹, Ferrerino-Pérez Ana Angélica¹

¹Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro, Campus Amazcala, Carreterra Chichimequillas s/n Km 1, 76265. El Marqués, Querétaro, México

* Autor de correspondencia, correo: claudia.gutierrez@uaq.mx

Resumen

La humanidad tiene necesidades y retos que, para ser solventados, requieren la participación de organismos diversos, entre los que se encuentran los animales. En particular, la participación de los animales en los proyectos de investigación está regulada y legislada en la mayoría de los países; sin embargo, el uso de insectos en este sentido aún requiere atención. En el presente

Abstract

Humanity has needs and challenges that, in order to be solved, require the participation of diverse organisms, including animals. In particular, the participation of animals in research projects is regulated and legislated in most countries; however, the use of insects in this sense still requires attention. In this work, the use of insects as food was reviewed, as well as their participation in

12. Artículo científico publicado en las memorias del CONIIN 2022. “Effect of whey addition on the growth and proximal composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae”



Effect of whey addition on the growth and proximal composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae

Valeria Caltzontzin-Rabell, Claudia Gutiérrez-Antonio, Juan Fernando García-Trejo, Ana Angélica Ferrerino-Pérez

Facultad de Ingeniería, Campus Amazcala, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.
Corresponding author: claudia.gutierrez@uaq.mx

Abstract—The black soldier fly larvae (BSFL) are organisms that have generated interest due to the wide variety of residues that can convert into products of interest, such as protein and fat, which can be converted into biodiesel. Cheese whey is a residue that has not been studied as a substrate for this organism. In the present work, three experimental diets were tested with different amounts of cheese whey in order to determine the optimal amount for their growth and generation of macromolecules of interest. It was observed that BSFL can degrade up to 75% of the whey and 25% of the Gainesville diet, without affecting their development in general. Knowing these percentages will allow the design of strategies for the treatment of this waste, and its revaluation in products such as biofuels and value-added products.

Keywords—Black soldier fly larvae, bioconversion, biological treatment, whey, dairy waste, valorization.

up to 1.6 times; therefore, the use of BSFL as waste treatment for its revaluation is attractive [8].

This insect prefers tropical and subtropical climates, as it requires a certain moisture content for its proper development. The humidity of the substrate where the larvae are reared is of interest for several reasons. It can make it difficult to separate the residue and the larvae, especially if it has a moisture content of about 80%. In addition, if the residue is very wet, it will be difficult to handle. It also affects bioconversion, as there are reports where larval growth and development were affected [9].

According to the literature, several residues have been studied, such as bread, food waste, fish, mussels [10]. A waste that has not been studied as a substrate is the whey obtained from cheese production, which results of interest because about 160 to 190 million tons per year are generated worldwide [11].

13. Artículo científico publicado en las memorias del CONIIN 2023. “Conversion of organic waste into a potential fertilizer using insects as treatment”.

Conversion of organic waste into a potential fertilizer using insects as treatment

Valeria Caltzontzin-Rabell, Jorge Iñaki López-Portas, Sergio Iván Martínez-Guido, Claudia Gutiérrez-Antonio, Juan Fernando García-Trejo, Ana Angélica Feregrino-Pérez
Facultad de Ingeniería, Campus Amazcala
Universidad Autónoma de Querétaro
Querétaro, México
Corresponding author: claudia.gutierrez@uaq.mx

Abstract— The generation of municipal waste is a growing problem that not only has a significant economic impact, but also represents a source of pollution. Among the alternatives to its treatment is the use of insects, which transform the waste into biomass rich in proteins and a residue called frass. It has been reported that frass is rich in nutrients such as nitrogen and phosphorus, vital for plant growth. This work reviewed several articles where insect frass has been tested during the growth and development of various plants. A sustainable method to reuse waste and advance in a circular economy is the alternative of using frass as fertilizer.

Keywords—organic waste treatment, biological treatment, fertilizers, insects, insect frass.

I. INTRODUCTION

By 2025, municipal solid waste generation is expected to be

energy, and antioxidants, among others [6], and thereby promote the circular economy [2].

Another major challenge facing humanity is its constant growth. Human population is growing rapidly, which leads to increased production by agriculture and livestock to ensure food for billions of people. Among the challenges this presents, space is increasingly smaller, in addition to the fact that the methods used must be sustainable; the above is due to the current situation of the environment, as well as the critical state in which resources are found [7].

In 2017, a study was conducted on the situation of agriculture in Mexico. It is highlighted that the area used for agriculture has increased very little compared to the growth of the Mexican population. Therefore, increasing the yield per unit area is necessary as a strategy to ensure food production. The authors conclude that by the year 2050, the available arable

14. Artículo científico publicado en las memorias del CONIIN 2021. “A review on processes for whey and dairy wastewater treatment and valorization”.
<https://10.1109/CONIIN54356.2021.9634792>

A review on processes for whey and dairy wastewater treatment and valorization

Valeria Caltzontzin Rabell, Claudia Gutiérrez-Antonio, Juan Fernando García Trejo, Ana Angélica Feregrino-Pérez
Facultad de Ingeniería, Campus Amazcala
Universidad Autónoma de Querétaro,
El Marqués, Querétaro.
valeria.caltzontzinrabell@gmail.com; claudia.gutierrez@uaq.mx; fernando.garcia@uaq.mx; geli@uaq.mx

Abstract—The dairy industry generates a significant amount, around 150 million tons, of losses and wastes. Particularly, whey requires treatment due to their high nutrient content and therefore, its facility to pollute. This treatment also allows its revalorization. Among the main processes that have been reported are the biochemical ones, where anaerobic fermentation is used to produce ethanol, biological processes with microalgae, for the production of fatty acids and some chemicals, and other processes, such as physical or enzymatic. If these processes are integrated, a biorefinery can be designed where the objective is to obtain a

cheese, which is obtained from milk, generates waste such as whey. The treatment of whey is complex, due to its important quantities of proteins, lactose, high content of organic matter, alkalinity, and it is easy to acidificate [5]. Another residue generated is dairy wastewater (DWW), which results by the washing of equipment, containers, or control analysis. This water is composed by lactose, proteins, lipids, salts and detergents [6].

These organic wastes are classified as second generation

15. Artículo científico publicado en la revista Perspectivas de la Ciencia y la Tecnología 2020. “Conversión de residuos orgánicos mediante un esquema de biorrefinería en biocombustibles y productos de valor agregado: panorama y perspectivas”.

CONVERSIÓN DE RESIDUOS ORGÁNICOS MEDIANTE UN ESQUEMA DE BIORREFINE- RÍA EN BIOCOMBUSTIBLES Y PRODUC- TOS DE VALOR AGREGADO: PANORAMA Y PERSPECTIVAS

Conversion of organic waste through a biorefinery scheme into biofuels and value-added products: overview and perspectives

Valeria Caltzontzin Rabell¹, Claudia Gutiérrez Antonio^{1*}, Juan Fernando García Trejo¹, Ana Angélica Feregrino Pérez¹

¹Universidad Autónoma de Querétaro, Campus Amazcala
*Correo electrónico: claugtez@gmail.com

16. Participación como Ponente en el Seminario FIBIO 2024. “Aprovechamiento de suero de queso en un esquema de biorrefinería mediante el cultivo de mosca soldado”



17. Participación como Ponente en el Seminario PSPB 2024. “Aprovechamiento de suero de queso en un esquema de biorrefinería mediante el cultivo de mosca soldado”



18. Publicación de artículo científico “Revalorization of Cheese Whey through a Biorefinery Scheme” en revista “CHEMICAL ENGINEERING TRANSACTIONS” 2024. <https://10.3303/CET24109041>



Revalorization of Cheese Whey through a Biorefinery Scheme

Valeria Caltzontzin-Rabell, Claudia Gutiérrez-Antonio*

Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ingeniería, Campus Amazcala, Carretera a Chichimequillas s/n Km 1, Amazcala, El Marqués, Querétaro, 76265, México.
 claugtez@gmail.com

Cheese whey is a by-product of cheese production. This waste, of which almost 145 million tons are generated annually, is of interest because of the management it requires; improper handling can cause adverse environmental impacts due to its high organic load and nutrient content. Although the treatment depends on its origin, anaerobic digestion is the most widely used from which methane can be obtained. In this way, several proposals for its treatment through biorefinery schemes have been proposed. However, treatment with insects and their inclusion in biorefinery schemes, specifically with black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*), has not been proposed. Black soldier fly larvae (BSFL) have stood out for their effectiveness in treating large quantities

19. Participación con ponencia en CECYTE, Querétaro. 2024.



20. Participación como Ponente en el 1er Congreso Internacional “Producción y Transformación de Alimentos para la Seguridad Alimentaria” del Instituto Tecnológico de Roque.



21. Participación como Ponente en el 1er Concurso Interplanteles STEAM. 2023. “Basura para unos, alimento y biocombustibles para otros”.



22. Participación con póster en la XVII Reunión Nacional de Bioenergía 2023. “Aprovechamiento de suero de queso mediante un esquema de biorrefinería”.



23. Participación con póster en el Encuentro Iberoamericano en Biomasa y Bioenergía. Noviembre 2022. “Aprovechamiento de residuos del cultivo de insectos (frass) como fertilizante: uso y beneficios”.



24. Participación como Asesora de equipo ganador del segundo lugar en el 1er Concurso Interplanteles STEAM. 2023. “Producción de pellets mejoradores de suelo apartir de residuos agrícolas”



25. Participación como Responsable en proyecto FOPER 2021 “Revalorización de suero lácteo mediante un tratamiento con larvas de mosca soldado”



26. Participación como Responsable en proyecto FOPER 2022 "Evaluación de un fertilizante orgánico a partir de residuos del cultivo de larva de mosca soldado (frass) en residuos lácteos".



27. Participación en sínodo de alumna de maestría. 2024.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
SECRETARÍA ACADÉMICA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

En la ciudad de Querétaro Qro., siendo las 10:00 horas del día 7 de junio de 2024, en las instalaciones de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro, se reunió el jurado designado por la Secretaría Académica en la autorización número 2922 de fecha 25 de abril de 2024, DRA. CLAUDIA GUTIERREZ ANTONIO, DIRECTOR; M. EN C. VALERIA CALTZONTZIN RABELL, SECRETARIO; DR. SERGIO IVAN MARTINEZ GUIDO, VOCAL; DR. JUAN MANUEL VERA MORALES, SINODAL; DR. RAMON GERARDO GUEVARA GONZALEZ, SINODAL, para efectuar el examen de grado a la

C. LUZ ANDREA GUTIERREZ RAMIREZ

Para obtener el grado de

MAESTRIA EN CIENCIAS (INGENIERIA EN BIOSISTEMAS)

El acto se realizó de conformidad con el Reglamento de Estudiantes vigente, expedido por la Institución, con base en la tesis "Obtención de fertilizante natural mediante vermicomposteo de frías de larva de mosca soldado y residuos de poda de fresa" realizado por la sustentante, y el resultado fue:

APROBADO POR UNANIMIDAD DE VOTOS

Acto seguido se tomó protesta y para constancia del examen se levanta la presente acta, que firman de conformidad los participantes:

No. de acta:
2024FINQ37342

 DRA. CLAUDIA GUTIERREZ ANTONIO PRESIDENTE	 M. EN C. VALERIA CALTZONTZIN RABELL SECRETARIO
 DR. SERGIO IVAN MARTINEZ GUIDO VOCAL	 DR. JUAN MANUEL VERA MORALES SUPLENTE
 DR. RAMON GERARDO GUEVARA GONZALEZ SUPLENTE	 LUZ ANDREA GUTIERREZ RAMIREZ SUSTENTANTE