CAROLINA BALBINO DOS SANTOS LIGEIRO

CARACTERIZAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DA FASE LARVAR (5-19 DIAS) DA MOSCA SOLDADO NEGRA (*HERMETIA ILLUCENS* L.1758*)* INOCULADA EM SUBSTRATOS PREPARADOS COM ESTRUME DE AVES, SUÍNOS E BOVINOS

Orientadora: Profª Doutora Cristina Bressan

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2022

CAROLINA BALBINO DOS SANTOS LIGEIRO

CARACTERIZAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DA FASE LARVAR (5-19 DIAS) DA MOSCA SOLDADO NEGRA (*HERMETIA ILLUCENS)* INOCULADA EM SUBSTRATOS PREPARADOS COM ESTRUME DE AVES, SUÍNOS E BOVINOS

Dissertação defendida em provas públicas para a obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária no Curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, no dia 16/12/2022, com o despacho de Nomeação de Júri nº 9/2022, com a seguinte composição de Júri:

Presidente: Prof. Doutor Rui Branco, por delegação da Profª. Doutora Laurentina Pedroso

Arguente: Profª. Doutora Olga Moreira

Orientadora: Profª. Doutora Cristina Bressan

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2022

Agradecimentos

Durante a realização da presente dissertação tive o privilégio de poder contar com o apoio de várias pessoas e entidades. Por este motivo gostaria de deixar os meus agradecimentos:

À Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias por todos os conhecimentos que me transmitiu.

Aos meus orientadores Doutora Cristina Bressan e Doutora Teresa Ribeiro pelas orientações transmitidas e pela disponibilidade e auxílio que prestaram na escrita desta dissertação.

À EntoGreen (Ingredient Odyssey SA) pela oportunidade que me ofereceram de participar neste estágio e por toda a confiança que depositaram em mim. Um agradecimento especial ao Doutor Daniel Murta, Eng. Rui Nunes, ao Doutor Ivã Lopes e à Mestre Maria Ana Machado por todo o apoio e conhecimentos que me transmitiram.

À Estação Zootécnica Nacional, pólo do INIAV do Vale de Santarém, em particular à Doutora Olga Moreira pela possibilidade que me ofereceram de participar neste projeto e pelo fornecimento de todo o material biológico necessário e apoio nos ensaios realizados.

A todos os profissionais do INIAV de Oeiras em especial à Doutora Regina Menino por toda a disponibilidade e apoio que demonstrou durante o estágio.

À LusiAves e à Escola Superior de Agronomia de Santarém por fornecerem o material necessário para o projeto.

Às minhas colegas de estágio Carolina Canadas e Joana Santos por todo o auxílio e entreajuda que me providenciaram.

À minha família por todo o apoio que me prestaram durante todo o meu percurso académico, em especial aos meus pais por estarem sempre presentes e me apoiarem em todas as minhas conquistas.

Aos meus amigos, em especial à Catarina, à Joana, à Sara e à Mafalda por estarem sempre presentes para me auxiliarem a ultrapassar os obstáculos que encontrei ao longo da minha vida.

À Ana por todo o auxílio que me prestou durante a escrita da dissertação e por todo o conhecimento que me transmitiu.

Ao Rafael por todo o apoio e carinho que me demonstrou durante todo o meu percurso pessoal e académico.

Financiamento

Este ensaio foi realizado no âmbito do projeto GOefluentes, tendo decorrido na Estação Zootécnica Nacional, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV) Polo do Vale de Santarém, e em colaboração com a unidade de investigação e desenvolvimento da Ingredient Odyssey SA, EntoGreen.

Projeto GoEfluentes – Efluentes de Pecuária: Abordagem estratégica à valorização agronómica/energética dos fluxos gerados na atividade agropecuária (PDR2020-1.0.1-FEA-DER-031831). (https://projects.iniav.pt/goefluentes), financiado pelo Programa de Desenvolvimento Rural 2020, Medida 1. Promoção para a Inovação, Ação1.1. Inovação por Grupos Operacionais.













Resumo

O uso de larvas da mosca soldado negra (*Hermetia illucens* L. 1758.) pode representar uma forma eficiente para reciclar resíduos orgânicos, como estrumes e produzir compostos de alta qualidade para incorporação em solos agrícolas e biomassa larvar que pode ser usada na produção de biodiesel.

No presente estudo, o objetivo foi determinar o efeito de três diferentes tipos de estrume (frango, bovino e suíno) usados na preparação do substrato inoculado com larvas juvenis de mosca soldado negra sobre o peso das larvas aos 4, 8, 11 e 14 dias após a inoculação, composição centesimal e composição mineral das larvas qualidade final do fertilizante orgânico (*frass*), aos 14 dias, bem como o índice de conversão em biomassa larvar.

Relativamente às larvas foi possível observar que no ensaio com estrume de aves e de suíno, as larvas criadas no estrume foram mais pesadas que os controlos 53.9 e 36.36% respetivamente. Foi possível observar índices de bioconversão de 9.2 a 18.8%. No que diz respeito ao frass foi observada uma diminuição de humidade de cerca de 20% nos grupos experimentais em comparação com os grupos de controlo.

Foi possível concluir que as BSFL têm capacidade de se desenvolverem em estrume e que o substrato com melhores resultados em termos de qualidade das larvas, assim como do *frass*, foi a mistura com estrume de suíno. Estes resultados demonstram que este seria um bom método para tratamento de efluentes.

Palavras-Chave: Mosca soldado negra, estrume, *frass*, bioconversão, sustentabilidade

Abstract

The use of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L. 1758.) can represent an efficient way to recycle organic waste such as manure and produce high-quality composts for incorporation into agricultural soils and the larvar biomass can be used in the production of biodiesel.

In the present study, the objective was to determine the effect of three different types of manure (chicken, beef and swine) used in the preparation of the substrate inoculated with 5-day-old black soldier fly larvae on the larvae weight at 4, 8, 11 and 14 days after inoculation, centesimal composition and mineral composition of larvae and final *frass* quality at 14 days, as well as the larval biomass conversion rate.

Regarding the larvae, it was possible to observe that in the test with chicken and swine manure, the larvae reared in the manure were heavier than the controls 53.9 and 36.36% respectively. It was possible to observe bioconversion rates from 9.2 to 18.8%. Regarding the *frass*, a decrease in the humidity of about 20% was observed in the experimental groups when compared with the control group.

It was possible to conclude that BSFL can develop in manure and that the substrate with the best results in terms of larvae quality, as well as *frass*, was the mixture with swine manure. Therefore, these results show that this method would be a good method to use in effluent treatment.

Keywords: Black soldier fly, manure, *frass*, larvae, sustainability

Abreviaturas

µg – micrograma

AMP – peptídeo antimicrobiano

BCE – controlo *frass* no ensaio de estrume de bovino

BCL – controlo larvas no ensaio de estrume de bovino

BE – ensaio de estrume de bovino

BSF – mosca soldado negra, do inglês *black soldier fly*

BSFF – *frass* de mosca soldado negra, do inglês *black soldier fly frass*

BSFL – larvas de mosca soldado negra, do inglês *black soldier fly larvae*

C/N – carbono/azoto

Ca – cálcio

CFU – unidades formadoras de colónias

CH_4 – metano

CO_2 – dióxido de carbono

Cu – cobre

EAAP – Federação Europeia de Ciência Animal, do inglês *The European Federation of Animal Science*

Et al. – e outros, da locução latina "*et alli*"

EZN – Estação Zootécnica Nacional

FAO – Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura, do inglês *Farm and Agriculture Organization*

Fe – ferro

g – grama

GB – gordura bruta

GCE – controlo *frass* no ensaio de estrume de frango

GCL – controlo larvas no ensaio de estrume de frango

GE – ensaio de estrume de frango

GEE – gases de efeito de estufa

h – horas

HT – humidade total

INIAV – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

K – potássio

K_2O – óxido de potássio

Kg – quilograma

Mg – magnésio

Mn – manganês

MS – matéria seca

N – azoto

N_2O – óxido nitroso

Na – sódio

NH_3 – amoníaco

O_2 – oxigénio

ºC – graus Celcius

MO – matéria orgânica

P – fósforo

P_2O_5 – pentóxido de fósforo

PME – pequena média empresa

SCE – controlo *frass* no ensaio de estrume de suíno

SCL – controlo larvas no ensaio de estrume de suíno

SE – ensaio de estrume de suíno

Zn – zinco

p – significância

Índice

1. Atividades de Estágio ... 13
1.1. INIAV – Polo de Investigação da Fonte Boa (estação zootécnica nacional) e Ingredient Odyssey SA (EntoGreen) ... 13
1.1.1. Atividades desenvolvidas ... 13
1.2. INIAV – Oeiras ... 14
1.2.1. Atividades desenvolvidas ... 14
Introdução ... 15
2. Revisão Bibliográfica ... 17
2.1. Maneio convencional de resíduos - compostagem ... 17
2.2. Problemas associados a compostagem convencional ... 17
2.3 Mosca soldado negra *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) ... 20
2.3.1 Ciclo de vida ... 20
2.3.2 Biodigestão ... 22
2.3.3 Vantagens da Mosca Soldado Negra ... 25
2.3.4 Utilização das larvas da mosca soldado negra na biorremediação do estrume ... 27
2.4 Utilização da biomassa larvar ... 31
i. Utilização de larvas na produção de biodiesel ... 32
ii. Quitina ... 33
iii. Utilização de larvas para fins medicinais ... 34
iv. Utilização de larvas na alimentação animal ... 34
2.5 Utilização do composto (*frass*) ... 36
2.5.1 Características do *frass* ... 37
2.5.2 Vantagens da utilização do *frass* ... 37
3. Materiais e Métodos ... 39
3.1. Desenho experimental ... 39
3.2. Larvas e substrato ... 40
3.2.1. Obtenção de larvas ... 40
3.2.2. Substratos e tratamentos ... 40
3.2.3. Inoculação ... 43
3.2.4. Recolha de dados e amostras ... 44
3.3. Análises laboratoriais e cálculos executados ... 45
3.3.1. Composição centesimal ... 45
3.3.2. Índice de bioconversão ... 46
3.4. Análise estatística ... 46
4. Resultados ... 48
4.1. Evolução da temperatura e do peso ... 48

4.1.1. Temperatura 48
4.1.2. Peso 51
4.2. Composição centesimal, peso final e índice de bioconversão das larvas 54
4.2.1. Matéria seca (MS) 55
4.2.2. Proteína bruta (PB) 55
4.2.3. Gordura bruta (GB) 55
4.2.4. Peso final das larvas 56
4.2.5. Índice de bioconversão (IBC) 56
4.3. Composição centesimal do *frass* 56
4.3.1. Humidade (HT) 58
4.3.2. Azoto (N) 58
4.3.3. Proteína bruta (PB) 58
4.3.4. Fósforo (P) 59
4.3.5. Potássio (K) 59
4.3.6. Zinco (Zn) 59
4.4. Relação entre variáveis 60
4.5. Caracterização descritiva do *frass* 61
5. Discussão 64
5.1. Limitações do ensaio 70
Conclusão 71
Referencias bibliográficas 73
Apêndices I
Apêndice I – Poster apresentado no congresso da EAAP 2021 I
Apêndice II – Análise estatística II

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Contagens bacterianas de *E. coli* e *Salmonella spp* em diferentes substratos (estrume de animais e fezes humanas). 29
Tabela 2 - Representação esquemática do delineamento experimental, grupos de tratamento e número de repetições 39
Tabela 3 - Caracterização físico-química dos resíduos orgânicos utilizados como substrato para o crescimento de BSFL. 42
Tabela 4 - Formulação dos substratos experimentais (%) com os diferentes tipos de resíduos orgânicos (frangos, suínos e bovinos) e dieta padrão (Gainville), utilizadas para a inoculação das larvas juvenis 42
Tabela 5 – Quantidade de larvas de mosca soldado negra (*Hermetia illucens*) de 4 dias mais o alimento composto Gainville (Kg) usado na inoculação das diferentes repetições. 44
Tabela 6 – Médias (M) e desvio padrão (DP) de temperaturas obtidas no interior do substrato aos 4, 8, 11 e 14 dias de incubação das larvas da Mosca Soldado Negra (*Hermetia Illucens*) e médias de temperatura (T) e humidade relativa do ar (HR) nas instalações dos ensaios com estrumes de frango de engorda, suíno e bovino leiteiro. 49
Tabela 7 – Médias e desvio padrão do peso das larvas Mosca Soldado Negra (*Hermetia Illucens*) obtidas aos 4, 8, 11 e 14 dias de biodigestão das larvas dos substratos com resíduos orgânicos (estrumes de frango, suíno e bovino). 52
Tabela 8 – Média (M) e desvio padrão (DP) da composição centesimal das larvas obtido nos grupos experimentais (GE, SE e BE) após a biodigestão dos substratos compostos por estrume e ração GrainVille e das larvas obtidas nos grupos de controlo de larvas (GCL, SCL, BCL) após a biodigestão do substrato composto apenas de ração GrainVille 54
Tabela 9 - Média e desvio padrão da composição centesimal do *frass* obtido nos grupos experimentais (GE, SE e BE) após a biodigestão pelas larvas de mosca soldado negra (Hermetia illucens) e do substrato obtido nos grupos de controlo do *frass* (GCE, SCE, BCE) sem biodigestão pelas larvas 57
Tabela 10 – Relação entre a Matéria orgânica inicial do *frass*, o Azoto do *frass* e o Índice de bioconversão total, o Peso final das larvas, a Gordura bruta das larvas juntando os grupos experimentais 60

Índice de Figuras

Figura 1 - Incidência de GEE de fermentação entérica e armazenamento de estrumes de acordo com o tipo de animal. 18
Figura 2- Ciclo de vida da mosca soldado negra..... 20
Figura 3 - Larvas com 20 dias de vida.. 21
Figura 4 - Oviposição da BSF. 22
Figura 5 - Esquema dos componentes que reagem na biodigestão e do aparelho digestivo da larva ... 23
Figura 6 - Esquema de produção de biodiesel através da compostagem com larvas de mosca soldado negra..... 33
Figura 7 - Estrume de suíno. 41
Figura 8 – Representação fotográfica da distribuição e identificação das unidades experimentais nas instalações de investigação..... 43
Figura 9 - Presença de fungos e diferentes consistências das unidades de biorremediação nos diferentes dias do ensaio de suíno. 62
Figura 10 – Presença de larvas de mosca doméstica (a) no controlo do *frass*, larva de mosca soldado negra a ingerir pupas de mosca doméstica no grupo experimental (b) e pupa de mosca doméstica encontrada durante a pesagem das larvas (c) no 8º dia de ensaio com estrume de frango. 63

Índice de Gráficos

Gráfico 1 - Teor proteína bruta e gordura bruta de diferentes insetos, soja e farinha de peixe. 32
Gráfico 2 – Evolução da temperatura por grupo experimental 51
Gráfico 3 - Evolução do peso das larvas por grupo experimental 53

1. Atividades de Estágio

1.1. INIAV – Polo de Investigação da Fonte Boa (estação zootécnica nacional) e Ingredient Odyssey SA (EntoGreen)

O estágio na EntoGreen teve início no dia 8 de outubro de 2020 e terminou no dia 19 de abril de 2021.

1.1.1. Atividades desenvolvidas

No primeiro período do estágio, a autora esteve envolvida no processo de produção/reprodução da mosca soldado negra (BSF), que foi depois utilizada no projeto experimental como ferramenta para a biodigestão de estrumes de diferentes espécies (aves, suínos e bovinos). Este processo incluiu a recolha e pesagem dos ovos de mosca, produção de larvas juvenis através de produção de unidades de maternidade, inoculação de substrato com larvas e produção de larvas e pupas. Nesse processo, diferentes etapas do processo produtivo foram acompanhadas pela autora a fim de cumprir um período de habilitação para a execução do trabalho de investigação.

No segundo período do estágio, a capacidade de biorremediação das larvas de *Hermetia illucens* (L. 1758) foi testada em substratos preparados com estrumes de aves (frangos), suínos e bovinos. Em todos os ensaios, a sequência de eventos foi similar e seguida no tempo. O primeiro, segundo e terceiro ensaios foram iniciados em 22 de janeiro, 15 de fevereiro e 26 de março com substrato de frangos, suínos, e bovinos respetivamente. Devido a constrangimentos logísticos, o ensaio com estrume de frango foi repetido.

Durante o desenvolvimento do trabalho experimental, a autora realizou medições do peso das larvas e da temperatura do substrato em biodigestão nos dias 4, 8, 11 e 14 dos respetivos ensaios. No final de cada ensaio a autora peneirou as unidades de biodigestão, pesou o total de larvas obtidas e recolheu amostras para serem analisadas na estação zootécnica nacional (EZN).

Durante este período foi também possível participar na redação de um resumo e construção de um poster para apresentar no congresso da Federação Europeia de Ciência Animal (EAAP) de 2021 em Davos (Apêndice I – Poster apresentado no congresso da EAAP 2021).

1.2. INIAV – Oeiras

O estágio no INIAV de Oeiras teve início no dia 15 de fevereiro e terminou no dia 6 de junho.

1.2.1. Atividades desenvolvidas

Nesta fase do estágio a autora auxiliou na realização de um ensaio de vasos com o objetivo de avaliar o potencial da mistura de excrementos de insetos e partes de insetos mortos, assim como resíduos de substrato alimentar, definido como *frass*, como fertilizante orgânico para o azevém. Este processo incluiu o auxílio na criação de unidades experimentais, a rega de vasos, corte do azevém e auxílio nos processos laboratoriais necessários. Durante esta fase do estágio a autora realizava a rega dos vasos duas vezes por semana.

Introdução

Ao longo dos anos tem existido um aumento exponencial da população mundial. Em 2050, estima-se que a mesma irá atingir um total de 9 mil milhões de habitantes (FAO, 2013). Este aumento populacional tem aumentado a procura por alimentos de origem animal e aumentado o volume dos resíduos gerados, tais como estrumes e efluentes (Čičková *et al*., 2015). Nesse contexto, o grande desafio é aplicar métodos eficientes de reaproveitamento e reciclagem de resíduos, os quais devem contemplar a redução da emissão dos gases de efeito estufa (GEE) e do uso da água e gerar produtos finais que possam aumentar a segurança e a qualidade alimentar e conservação de solos.

Um método de tratamento de resíduos orgânicos oriundos de explorações pecuárias é a compostagem, mas esta técnica utilizada de forma clássica tem aspetos negativos tais como: o tempo e o custo do processo, o odor libertado nas áreas de tratamento, a eventual atração de parasitas e a emissão de GEE (Grossi *et al*., 2019).

Os resíduos orgânicos podem ser usados de forma mais sustentável na composição de substrato para insetos na sua forma larvar. Uma das espécies utilizadas na bioconversão de resíduos orgânicos é a mosca soldado negra ou *black soldier fly*. Estudos com esta espécie, a *Hermetia illucens* L. (1758) têm demonstrado aumentos na qualidade dos resíduos em diferentes aspetos tais como: a diminuição da matéria orgânica, diminuição da carga de microrganismos patogénicos, diminuição da emissão de GEE, redução de contaminantes, entre outros (Gold *et al*., 2018).

A utilização das larvas de mosca soldado negra (BSFL) como uma ferramenta de bioremediação de resíduos orgânicos como o estrume pode permitir um processo mais limpo e eficaz do que a compostagem tradicional, e a obtenção de biomassa larvar de alta qualidade além de um fertilizante orgânico rico em nutrientes denominado *frass* (Čičková *et al*., 2015).

Por outro lado, os estudos de bioconversão de substratos produzidos com resíduos da produção animal (estrumes), bem como a qualidade do *frass* e da biomassa larvar são escassos.

Neste sentido, três ensaios foram conduzidos para estudar o desenvolvimento de larvas de BSF, a produção do *frass*, utilizando diferentes fontes de matéria orgânica (estrumes de aves, suínos e bovinos) para a preparação do substrato a digerir pelas larvas.

Para determinar os possíveis efeitos do tipo de matéria orgânica (estrume) utilizado, os seguintes parâmetros foram estudados:

a) Temperatura do substrato em biodigestão e peso das larvas aos 4, 8, 11 e 14 dias, compreendendo as diferenças entre grupos (controlo e experimental) e espécies (frangos, suínos e bovinos), e a relação entre as variáveis temperatura e peso das larvas;
b) composição do *frass* nos grupos experimentais e controlos do *frass* para as variáveis (matéria seca, humidade total, azoto, proteína bruta, fósforo, potássio e zinco), compreendendo as diferenças entre grupos e espécies;
c) os resultados obtidos nas larvas nos grupos experimentais e controlos das larvas para as variáveis (matéria seca, humidade total, azoto total, cinzas, proteína bruta e fibra bruta índice de bioconversão e peso final após a separação do *frass*), compreendendo as diferenças entre grupos e espécies;
d) relação entre as variáveis (matéria orgânica inicial do *frass*, azoto do *frass*, proteína do *frass*, índice de bioconversão, peso final das larvas, gordura bruta das larvas) nos grupos experimentais

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Maneio convencional de resíduos - compostagem

A utilização de resíduos orgânicos como fertilizantes sem tratamento prévio acarreta um excesso de minerais no solo e corpos de água, principalmente azoto e fósforo, os quais promovem a poluição de ambos. O tratamento destes resíduos possibilita a reciclagem de nutrientes. Desta forma, estes minerais podem ser disponibilizados ao solo melhorando as suas características físicas, químicas e biológicas (Salomão *et al*., 2018).

Atualmente, a compostagem é um dos métodos adequados mais utilizados na fração dos resíduos que é tratada. Este processo consiste na oxidação exotérmica aeróbia de um substrato orgânico que induz a produção de dióxido de carbono (CO_2) e libertação de substâncias minerais com o intuito de formar matéria orgânica estável e livre de microrganismos patogénicos. A compostagem é dependente das condições de temperatura, humidade, relação carbono/azoto (C/N), pH e quantidade de ar fornecida ao composto (Fernandes & Silva, 1999).

O principal método de compostagem utilizado no tratamento de efluentes da pecuária é o método de pilhas ou leiras (Westerman & Bicudo, 2005). Estas leiras são revolvidas periodicamente para promover a aeração interna e acelerar o estado de maturação do composto. O ar atmosférico entra na pilha de compostagem suprindo-o de oxigénio (O_2). Um aspeto negativo deste método é o tempo necessário para a compostagem, que pode ter uma duração de doze meses, dependendo do tipo de resíduo a ser compostado (Fernandes & Silva, 1999).

2.2. Problemas associados a compostagem convencional

A compostagem é um processo caro, trabalhoso e demorado. A compostagem de larga escala apresenta problemas tais como o odor e presença de parasitas levando ao encerramento de várias instalações agropecuárias devido a queixas. Para além disso, a compostagem quando instável vai emitir amoníaco (NH_3) e GEE como o oxido nitroso (N_2O) e o metano (CH_4) (Westerman & Bicudo, 2005). Outro problema que decorre do maneio inadequado dos resíduos orgânicos é o desequilíbrio nutricional quando o composto é colocado no solo, principalmente de azoto e fósforo (Raksasat *et al*., 2020).

A indústria pecuária é responsável por 64%, 37% e 65% das emissões de NH_3, CH_4 e N_2O antropogénicos, respetivamente (Steinfeld *et al*., 2006), sendo que 30% destes valores está atribuído ao maneio de estrume (Bernet & Béline, 2009). Uma forma de medir o impacto destes gases no aquecimento global é através da sua comparação com o CO_2 (equivalentes de dióxido

de carbono). No que se refere ao CH_4 e ao N_2O estes têm, respetivamente, um efeito no aquecimento global 28 e 275 vezes superior ao CO_2. A emissão de GEE varia consoante a espécie, como demonstrado na Figura 1 (Grossi *et al*., 2019).

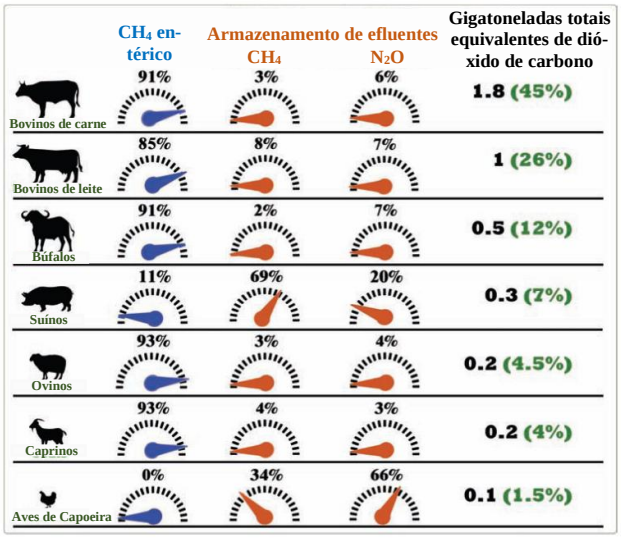


Figura 1 - Incidência de GEE de fermentação entérica e armazenamento de estrumes de acordo com o tipo de animal. (Adaptado de Grossi *et al.* 2019)

A emissão de GEE a partir do estrume resulta da alta composição em matéria orgânica e azoto. O CH_4 e o CO_2 são formados em condições de anaerobiose pela decomposição bacteriana da matéria orgânica. Por outro lado, o N_2O é formado em condições de anaerobiose, onde o azoto é nitrificado e em aerobiose onde o azoto é desnitrificado (Grossi *et al*., 2019). Estas condições são fornecidas pelos processos de aerações na compostagem.

Outros aspetos negativos relacionados com a compostagem tradicional de estrume são as contaminações com metais pesados (Wang *et al*., 2018), resíduos de medicamentos veterinários e agentes patogénicos como *Salmonella spp.* e *Escherichia coli* (Miranda *et al*., 2019). Os ecossistemas aquáticos e terrestres são particularmente sensíveis e alguns efeitos nocivos da contaminação são a diminuição da capacidade reprodutiva, alimentar e do crescimento, assim como a diminuição da capacidade de fuga aos predadores (Oliveira *et al*., 2009).

Quando o resultado de uma má compostagem é incorporado ao solo, o excesso de nutrientes, em especial o fósforo leva a uma lixiviação por escoamento e erosão contínua da superfície do solo. O escoamento vai resultar na presença destes nutrientes nos corpos de água, que pode desencadear a eutrofização (Attiogbe *et al*., 2019; Čičková *et al*., 2012; Raksasat *et al*., 2020; Zhang & Schroder, 2014). O ciclo do azoto e do fósforo foram identificados como

fatores-chave que devem ser mantidos dentro de determinados níveis de forma a manter os sistemas ecologicamente estáveis (Rockström *et al*., 2009).

Inúmeras estratégias foram propostas ao longo do tempo para tratar efluentes, contudo a maioria delas, como o caso da compostagem, apresentam desvantagens que são limitantes na prática. Assim novos conceitos de tratamentos de resíduos precisam ser estudados como alternativa efetivas e sustentáveis. Uma nova abordagem para esse fim é a utilização de insetos como biorremediadores.

2.2.1 Utilização de insetos como biorremediadores

Alguns grupos de insetos têm como fonte primária de alimento os resíduos orgânicos em decomposição, incorporando os nutrientes e reduzindo a quantidade destes resíduos na natureza (Čičková *et al*., 2015). Esses nutrientes são convertidos em biomassa larvar e um resíduo semelhante a um composto imaturo (Xiao *et al.,* 2018; Zurbrügg *et al.,* 2018). Outra vantagem neste processo são os seus períodos de desenvolvimento relativamente curtos. Desta forma vários insetos são uma alternativa para o maneio de matéria orgânica, nomeadamente, de diferentes tipos de efluentes (Čičková *et al.,* 2012).

A utilização de larvas de insetos para a decomposição de resíduos orgânicos pode ser uma melhor alternativa em comparação com outras técnicas de compostagem, pois as operações são de fácil execução e tem uma menor pegada ecológica (Singh & Kumari, 2019).

No maneio dos resíduos da produção pecuária, a forma larvar de moscas funcionam como biorremediadores de estabilização do composto (Liu, Wang & Yao, 2019). Conforme descreveram Donlon e Bauder (1980, cit. por Ewuim, 2013) a biorremediação está definida como "*uso de processos biológicos para degradar, decompor, transformar e/ou remover contaminantes do solo assim como da água*".

As espécies utilizadas como biorremediadores variam conforme o tipo de resíduo usado na formação do substrato. As diferentes espécies têm diferentes características como o tamanho, a adaptabilidade às condições da matéria orgânica fornecida, duração do tempo do estado larvar, entre outros que influenciam a sua capacidade de biorremediação (Čičková *et al.*, 2015). Adicionalmente, a escolha da espécie deve preservar o equilíbrio do ecossistema, isto é, as novas espécies devem contemplar aquelas naturalmente existentes nas condições ambientais.

2.3 Mosca soldado negra *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae)

A principal espécie utilizada na compostagem é a mosca soldado negra, nativa do continente americano e atualmente introduzida em regiões subtropicais e tropicais por todo o mundo (Čičková *et al.*, 2015). A *Hermetia illucens*, pertencente à ordem Diptera e à família *Stratiomyidae* (Surendra *et al.*, 2016), é saprofítica e consegue adaptar-se em ambientes rigorosos, tal como efluentes com bactérias e fungos (Guo *et al.*, 2021). Os resíduos orgânicos provenientes de plantas podem, também, ser decompostos e reciclados pelas larvas desta espécie (Park *et al.*, 2014).

2.3.1 Ciclo de vida

A mosca soldado negra tem um ciclo de vida curto com cerca de um a dois meses, podendo ser alongado a seis meses, caso as condições sejam desfavoráveis para o seu desenvolvimento (Costa *et al.*, 2018). O seu ciclo de vida é composto por quatro fases: ovo, larva, pupa e mosca (Figura 2). Em condições ideais, as larvas da mosca soldado negra podem passar ao estado de pré-pupas em apenas duas semanas (Salomone *et al.*, 2017). Durante esta fase vai ocorrer a biodigestão dos materiais orgânicos (Kim *et al.*, 2011).

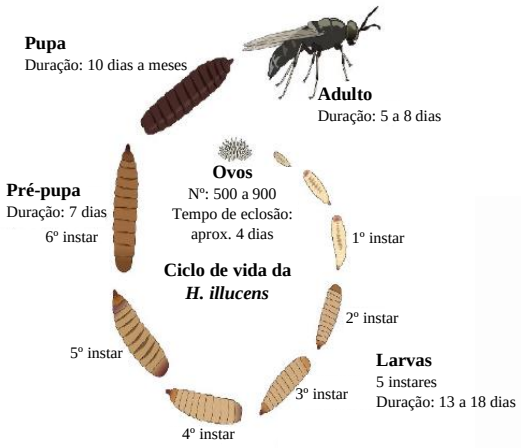


Figura 2- Ciclo de vida da mosca soldado negra. Adaptado de https://rethinkprotein.nl/candidate/details/5172 Retirado a 15 de abril de 2021

Os ovos eclodem, em média, até 4 dias após a oviposição e as larvas procuram resíduos orgânicos como substrato nas proximidades para crescerem. As larvas encontram-se em grandes densidades e apresentam um apetite voraz, consumindo entre 25 a 500 mg de matéria fresca/larva/dia, e processam uma grande diversidade de materiais orgânicos em decomposição (Diener *et al.*, 2011; Makkar *et al.*, 2014).

As larvas passam por 6 instares e podem atingir cerca de 2,5 cm de comprimento. Este processo, em condições ideais ocorre num período mínimo de 15-17 dias (Zurbrügg *et al.*, 2018). No último instar, as larvas podem pesar até 220 mg e atingir 27 mm de comprimento e 6 mm de largura (Salomone *et al.*, 2017).

Ao chegar ao sexto e último instar larvar, a pré-pupa, apresenta um comportamento migratório pronunciado, pois para poderem pupar as larvas têm que estar num ambiente seco e escuro longe da humidade da fonte do alimento (Diener *et al.*, 2011; Zurbrügg *et al.*, 2018). Nesta fase existe uma mudança de cor de branco para castanho escuro (Banks *et al.*, 2014) como apresentado na Figura 3. A larva, quando se encontra preparada para pupar, esvazia o aparelho digestivo e cessa o movimento e a alimentação (Hardouin & Mahoux, 2004). O estado de pupa decorre entre 2 a 3 semanas e termina quando a mosca emerge da sua cápsula pupal (Diener *et al.*, 2011).

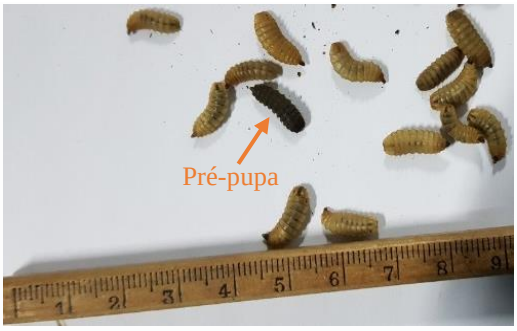


Figura 3 - Larvas com 20 dias de vida. Fotografia original da autora.

Na fase adulta, as moscas não se alimentam, dependendo apenas das suas reservas energéticas, quando esta reserva se esgota a mosca morre. Esta fase tem a duração de, aproximadamente uma semana (Diener *et al.*, 2011; Raksasat *et al.*, 2020).

As moscas adultas medem cerca de 20 mm, com coloração preta (Čičková *et al.*, 2015) e apresentam uma porção do tórax transparente que mimetiza o que seria uma cintura torácica característica das vespas, como se verifica na Figura 4 (Makkar *et al.*, 2014; Tomberlin & Sheppard, 2001)). Os indivíduos adultos têm um aparelho bucal pouco desenvolvido e não possuem ferrão e por isso não se alimentam nem atacam, podendo apenas beber água e néctar (da Silva & Hesselberg, 2020). Além disso, esta espécie não é uma voadora hábil e passa a maior parte do dia pousadas na vegetação (Čičková *et al.*, 2015).



Figura 4 - Oviposição da BSF. Fotografias originais de Carolina Canadas

Nesta fase de vida é essencial fotoperíodo e uma temperatura adequada para a cópula e oviposição (Zurbrügg *et al.,* 2018). O acasalamento ocorre dois dias após o emergir das fêmeas, estas colocam os seus ovos em fendas secas (Salomone *et al.,* 2017) abrigadas perto da matéria orgânica em decomposição tal como é demonstrado como na Figura 4 (Čičková *et al.,* 2015; Zurbrügg *et al.,* 2018), para que estes não sejam colocados diretamente num ambiente húmido (Diener *et al.,* 2011).

A oviposição idealmente ocorre acima dos 26ºC (Tomberlin & Sheppard, 2002), sendo que as fêmeas colocam, cada uma, entre 500 e 900 ovos (De Smet *et al.,* 2018).

O tempo de duração do ciclo de vida depende das condições ambientais, o que demonstra a resiliência destas moscas, que se adaptam e prolongam o tempo de desenvolvimento caso as condições sejam desfavoráveis (Diener *et al.,* 2011; Zurbrügg *et al.,* 2018). No entanto, a sua temperatura ótima de desenvolvimento situa-se acima dos 26ºC. Desta forma para atingir níveis ótimos de produção é necessário trabalhar em condições controladas para atingir a temperatura ideal (Tomberlin & Sheppard, 2001).

2.3.2 Biodigestão

As larvas conseguem desenvolver-se em diferentes substratos ricos em matéria orgânica tais como: matéria vegetal e animal em decomposição; estrume; desperdício alimentar e lixo municipal (da Silva & Hesselberg, 2020; Guo *et al.,* 2021; Lalander *et al.,* 2018; Li *et al.,* 2011; Sheppard *et al.,* 1994; Win *et al.,* 2018).

O tratamento dos resíduos pela BSFL pode ser dividido em dois componentes que reagem entre si: o interior da larva e o substrato que é digerido (Gold *et al.,* 2018) como descrito na Figura 5.

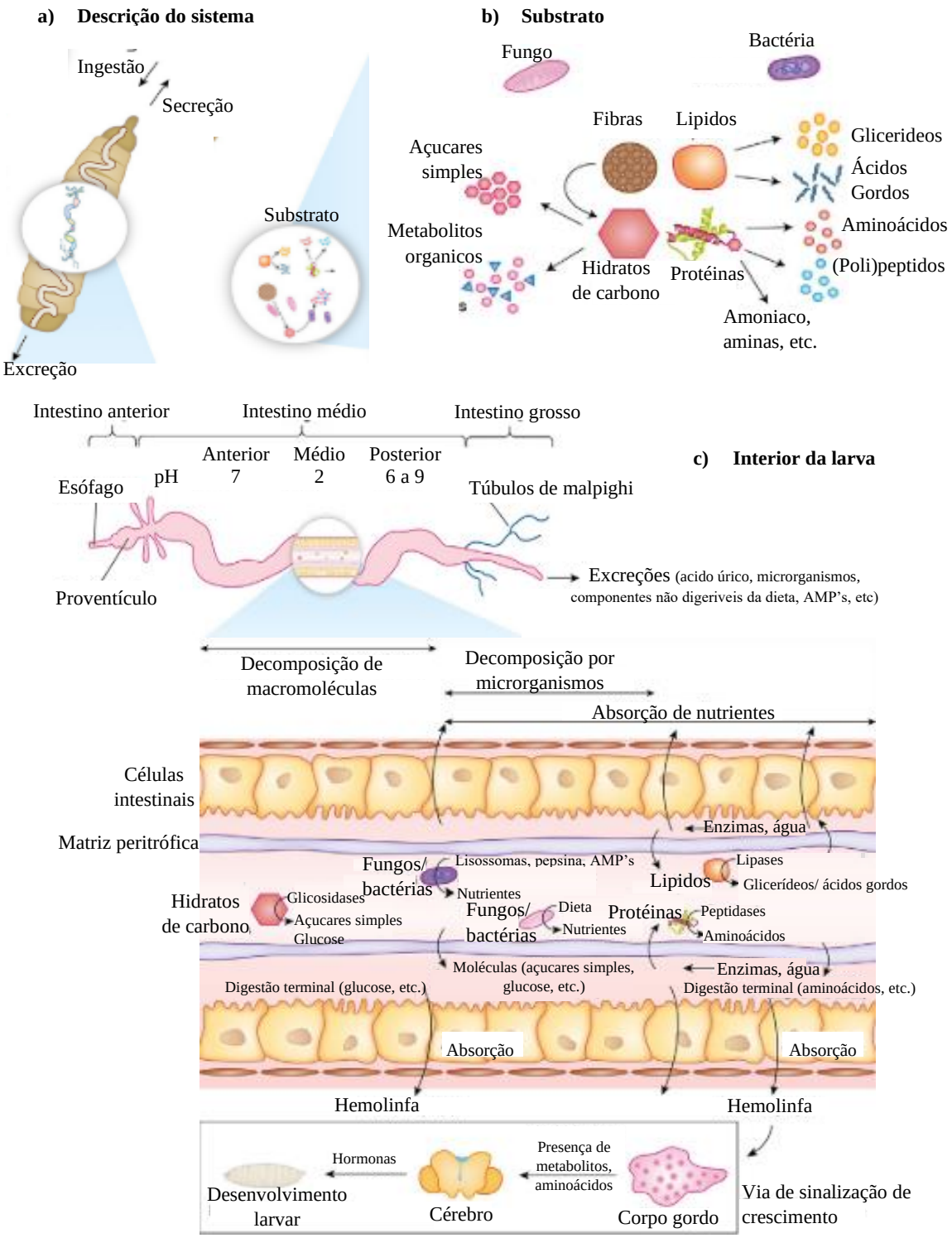


Figura 5 - Esquema dos componentes que reagem na biodigestão e do aparelho digestivo da larva (Adaptado de Gold *et al*. 2018).

Ambos os componentes podem ser influenciados por diversos fatores como o pH, a humidade, a densidade larvar, a quantidade de alimento, a temperatura, a relação carbono/azoto, entre outros. Para além disso, ambos são responsáveis pelo consumo e produção de gases (Cohen, 2015; De Smet *et al.*, 2018; Gold *et al.*, 2018; Pang *et al.*, 2020).

Na fase larvar ocorre a biodigestão, sendo nesta fase que esta espécie se alimenta e assim obtém os nutrientes para as suas necessidades metabólicas. Através da digestão, as larvas vão realizar a biorremediação do substrato através de enzimas e da flora intestinal (Cohen, 2015).

Kim *et al.* (2011) examinaram extratos de amilase, lipase, protease e a atividade de protease semelhante a tripsina nas glândulas salivares e intestinais de BSFL. Nos seus resultados destaca-se que menos de 10% da atividade enzimática das larvas é realizada nas glândulas salivares, ou seja, as larvas utilizam maioritariamente o intestino na sua digestão.

O intestino das larvas pode ser divido em três: o anterior, o médio, e o grosso, conforme demonstrado na Figura 5. O intestino médio é a porção com maior atividade enzimática e bacteriana (De Smet *et al.*, 2018; Gold *et al.*, 2018), combinando a ação do ambiente intestinal, enzimas e microbiota, dividindo o alimento em moléculas menores e absorvendo-o através das células intestinais até chegar à hemolinfa. A hemolinfa é análoga ao sangue dos vertebrados e transporta nutrientes dentro da larva (Gold *et al.*, 2018). Para além do mais a BSFL possuem aberturas nas extremidades anterior e posterior que ligam o sistema respiratório ao digestivo, permitindo um fornecimento de oxigénio contante ao aparelho digestivo (Rozkošný, 1982).

A biodigestão da BSFL pode ser afetada pelos substratos em que as larvas se encontram. O substrato tem efeitos no desempenho do crescimento, na eficiência de redução de resíduos e na composição química da BSFL (Guo *et al.*, 2021; Lopes *et al.*, 2020). As larvas apresentam um crescimento ótimo quando se encontram em substratos ricos em proteínas e com um equilíbrio de azoto e hidratos de carbono (Lopes *et al.*, 2020).

O próprio substrato funciona como um componente responsável pela biodigestão (Figura 5), sendo uma consequência da ação dos diversos microrganismos, nomeadamente fungos e bactérias, que possuem e libertam enzimas com funções semelhantes às encontradas no trato intestinal da larva. Além disso, os microrganismos do substrato possuem enzimas que permitem a digestão de fibras como celulose, hemicelulose e lenhina, que a larva tem maior dificuldade de digestão (De Smet *et al.*, 2018; Gold *et al.*, 2018).

Quando os microrganismos são ingeridos pela larva, os mesmos são seletivamente inativados pelo pH, enzimas e proteínas antimicrobianas. Posteriormente estes organismos servem como fonte de alimento. Por outro lado, os microrganismos não-inativados serão utilizados como constituintes da flora intestinal e auxiliando o crescimento larvar (Gold *et al*., 2018; Xiao *et al*., 2018). Este processo será facilitado pelas bactérias exógenas, resultando na modificação estrutural e química das fibras e ao desenvolvimento da biomassa larvar.

Rehman *et al*., (2019) demonstraram que bactérias exógenas lenhinocelulósicas podem melhorar a conversão de lenhinocelulose em estrume de bovinos de leite e estrume de frango.

Uma função-chave da microbiota intestinal inclui o fornecimento de produtos metabólicos através da decomposição dos macronutrientes da dieta (Figura 5). Estes são relevantes para o metabolismo larvar e proteção contra agentes patogénicos (Wong *et al*., 2016). Diferentes estudos demonstraram que as bactérias no intestino das BSFL possuem enzimas com a capacidade de hidrolisar amido, celulose, proteínas e lípidos. Todas estas contribuem para que as larvas façam uma boa decomposição dos resíduos (Čičková *et al*., 2015).

Rozkošný (1982) salientou a importância da avaliação do pH, tanto na larva como no substrato. No interior do aparelho digestivo o pH influencia a atividade enzimática e da microbiota intestinal (Rozkošný, 1982). No substrato, se houver uma degradação demasiado rápida de matéria orgânica, ocorre uma alteração brusca do pH que causará inibição das larvas na fase inicial do tratamento. Desta forma é importante ajustar o pH no início do tratamento de forma a otimizar a biodigestão das larvas, acelerando a decomposição e aumentando o rendimento e a qualidade da BSFL (Pang *et al*., 2020).

Durante o processo de biodigestão a temperatura do substrato aumenta, existe uma libertação acentuada de NH_3, aumenta o pH, passando de neutro ou ácido a alcalino. A atividade enzimática do intestino médio aumenta e a humidade do substrato diminui (Čičková *et al*., 2015)

2.3.3 Vantagens da Mosca Soldado Negra

A mosca soldado negra apresenta várias vantagens para a produção industrial. Primeiramente, esta espécie tende a ficar na vegetação e é pouco atraída por animais e atividades antropogénicas (Čičková *et al*., 2015), desta forma não são considerados um incómodo (van Huis, 2013; Salomone *et al*., 2017). Para além disso, como têm um aparelho bucal pouco desenvolvido, o sistema digestivo não desenvolvido e não possuem ferrão (Al-Qazzaz *et al*., 2016; da Silva & Hesselberg, 2020; Park *et al*., 2015) não são vetores de doenças (Salomone *et al*., 2017; Ushakova *et al*., 2018) e por isso, não são consideradas uma praga (Beskin *et al*., 2018; Furman *et al*., 1959).

Outra vantagem das moscas é que durante a sua fase adulta dependem apenas das suas reservas energéticas, pelo que não entram em interação com resíduos ou materiais orgânicos frescos, incluindo alimentos animais ou humanos (Diener *et al*., 2011).

A moscas soldado negra é uma competidora natural da mosca doméstica *Musca domestica L.* (1758, Diptera: Muscidae). Através da produção de feromonas, a *Hermetia illucens* repele a *Musca domestica*, pois inibe a sua reprodução (Salomone *et al*., 2017) e oviposição (Liu *et al*., 2019). Assim, a mosca soldado negra exerce uma atividade natural de controlo populacional da mosca doméstica (Harnden & Tomberlin, 2016; Myers *et al*., 2008).

Em geral, os resíduos orgânicos da produção animal atraem moscas do tipo doméstica, as quais são consideradas um dos principais vetores de agentes patogénicos (Diener *et al*., 2011). Contudo alguns estudos (Liu *et al*., 2008; Makkar *et al*., 2014) mostram uma supressão de 94 a 100% da mosca doméstica em estrumes de aves e suínos respetivamente, quando a mosca soldado negra estava presente (Bondari & Sheppard, 1987; Makkar *et al*., 2014).

O efeito de supressão da mosca soldado negra sobre a mosca doméstica resulta das diferenças fisiológicas. A mosca soldado negra dispõe de um maior número de enzimas digestivas permitindo-lhes desenvolver-se em substratos mais variados do que a mosca doméstica (Miranda *et al*., 2020). No contexto ambiental, estas enzimas têm também mais atividade, permitindo uma conversão mais eficazmente da matéria orgânica em fertilizantes orgânicos (Liu *et al*., 2019).

Devido às especificidades do seu aparelho digestivo, a larva da mosca soldado negra pode digerir glicoproteínas, glicolipídeos e hidratos de carbono mais rapidamente do que as larvas da mosca doméstica (Kim *et al*., 2011). E, após a digestão, as larvas da mosca soldado negra possuem a capacidade de deposição de uma maior proporção de gordura, em comparação com as larvas da moscas domésticas (Čičková *et al*., 2015). Essa gordura da biomassa larvar contem um teor de ácidos gordos saturados superior ao das outras espécies de insetos (Raksasat *et al*., 2020).

Os sistemas de reprodução das populações da mosca soldado negra não são complexos, favorecendo a adaptação dessas ao novos locais onde são estabelecidas (da Silva & Hesselberg, 2020). Essa adaptabilidade do seu ciclo de vida pode ser útil na gestão das populações durante períodos de escassez de resíduos orgânicos e no armazenamento de larvas para incubar uma nova população (Diener *et al.*, 2011).

Na fase de pré-pupa as larvas de mosca soldado negra migram para um local seco e protegido. Este comportamento natural fornece o mecanismo de auto-colheita, pois as pré-pupas podem ser recolhidas com o mínimo de esforço à medida que saem do substrato (Čičková *et al*., 2015; Quilliam *et al*., 2020). Desta forma, utilizando um bioreactor especialmente

concebido, este comportamento migratório típico das pré-pupas pode ser explorado de forma a facilitar o processo industrial (Diener *et al*., 2011; Surendra *et al*., 2016)

2.3.4 Utilização das larvas da mosca soldado negra na biorremediação do estrume

A biodigestão de matéria orgânica por BSFL é uma alternativa para a gestão dos resíduos, com a vantagem da produção de biomassa (com altas taxas de proteína bruta e extrato etéreo) e fertilizante orgânico.

As larvas iniciam a consumir matéria orgânica presente no substrato logo após a eclosão. Entretanto, as taxas de redução dos resíduos orgânicas no substrato da BSFL, conforme relatado na bibliografia, são variáveis. Diener *et al*., (2011) utilizaram chorume e resíduos municipais em diferentes rácios, alimentando as larvas a cada 3 dias até esta se tornarem pré-pupas, descrevem redução de volume dos resíduos na ordem de 55% de matéria seca. Bortolini *et al*. (2020) com estrume de frangos e BSFL (200 larvas com 6 dias de vida foram colocadas em 300 gramas de estrume) encontraram uma redução superior a 75% da massa inicial de estrume.

No substrato, e paralelamente ao desenvolvimento das fases larvais da BSFL, ocorre um crescimento bacteriano que é associado a redução ou supressão de odores desagradáveis (Diener *et al*., 2011).

As BSFL estão a ser estudadas como ferramenta usada na gestão de estrumes em razão das várias características benéficas, nomeadamente: (1) melhorias na aparência do substrato; (2) redução do impacto ambiental em relação à compostagem tradicional (menor emissão de metano); (3) redução de agentes patogénicos no substrato; (4) redução de contaminantes no substrato; (5) entre outros (Beskin et al., 2018; Bortolini et al., 2020; Lopes et al., 2020; Q. Wang et al., 2021)

1. *Melhorias das características de apresentação do substrato*

A utilização de BSFL demonstrou uma redução na matéria orgânica (MO) em estrume de animais de produção (Sheppard *et al*., 1994). Tao *et al*. (2019), utilizaram estrume de bovino leiteiro, aves e suínos. Os grupos experimentais onde foi utilizada a BSFL obtiveram reduções de MO entre 24 e 26%, comparativamente ao grupo controlo, em que foi usada a mosca doméstica, onde a redução foi de 1,5 a 5%.

Relativamente a estudos sobre matéria seca, Zhou *et al*. (2013) mostraram reduzir a matéria seca (MS) do estrume de bovino leiteiro, frangos e suíno, em 40,1%, 48,4% e 46%, respetivamente. O estrume de bovinos apresentou uma maior concentração de lignocelulose

tendo como consequência uma redução de matéria seca, menos evidente, quando comparada com as outas espécies estudadas (Miranda *et al*., 2019, 2020).

As BSFL têm a capacidade de concentrar nutrientes minerais presentes nos resíduos orgânicos (Tomberlin & Sheppard, 2001). Reduções nos níveis de azoto na ordem de 50-62% em substrato com estrume de aves de capoeira e de bovinos de leite, e reduções nos níveis de fósforo na ordem de 61-70% em substratos com estrumes de bovinos leiteiros (Beskin *et al*., 2018; Makkar *et al*., 2014). Essas reduções nos índices de azoto e fósforo presente no estrume, diminuem o risco de poluição de rios e recursos hídricos.

2. Impacto ambiental

Comparativamente com a compostagem convencional, a bioconversão de resíduos orgânicos com larvas de *Hermetia illucens* mostra menor emissão de gases de efeito de estufa. As larvas afetam as características físico-químicas do substrato que controlam os processos de produção de gás reduzindo indiretamente as emissões de NH_3 e GEE. Esses resultados são obtidos devido à movimentação contínua das larvas no substrato que assegura uma aeração mecânica. Essa condição do meio determina perdas na humidade e na produção de NH_3 e aumento no crescimento do microrganismos aeróbios (Čičková *et al*., 2015; da Silva & Hesselberg, 2020; Mertenat *et al*., 2019; Pang *et al*., 2020; Rehman *et al*., 2019).

Pang *et al*. (2020) colocaram BSFL a digerir desperdícios alimentares e observaram que com um aumento inicial do pH do meio, as larvas desenvolveram-se mais depressa e existe uma diminuição de CO_2 emitido no processo. No entanto, existiu um aumento das emissões de NH_3 que, ainda assim não foi suficiente para ultrapassar as emissões geradas pelo método de compostagem tradicional. Outros estudos como Mertenat *et al*. (2019) observaram que o estrume que passou pela bioconversão das BSFL apresentou uma emissão de GEE 47 vezes inferior ao método de compostagem em leiras. Este trabalho demonstrou como a biocompostagem das BSFL seria uma boa alternativa à compostagem tradicional de forma a mitigar significativamente as emissões de gases de efeito estufa e o seu potencial no aquecimento global (El-Dakar *et al*., 2021; Wang *et al*., 2021; Xiao *et al*., 2018) .

A biocompostagem com BSFL é também conhecida por reduzir maus odores dos resíduos orgânicos deixando o substrato com um cheiro terroso (Čičková *et al*., 2015; Xiao *et al*., 2018; Miranda *et al*., 2019). Este processo acontece devido à redução dos níveis de compostos odoríferos, como os ácidos gordos voláteis e fenóis (Beskin *et al*., 2018; Miranda *et al*., 2019;

Wang *et al*., 2021). Estudos como Beskin *et al*. (2018) demonstraram uma redução de 100% dos ácidos gordos voláteis no estrume de suíno e bovino.

Outro benefício da utilização das BSFL é que requerem pouco consumo de água para o seu desenvolvimento (da Silva & Hesselberg, 2020; Rehman *et al*., 2019).

3. <u>Redução de agentes patogénicos no substrato</u>

Vários estudos demonstraram a redução de bactérias patogénicas como *Salmonella* spp. e *E.coli* e de vírus como Adenovírus, Reovírus e Enterovírus quando utilizada a BSFL como forma de compostagem de estrume (Banks *et al*., 2014; De Smet *et al*., 2018; Lalander *et al*., 2013, 2015; Liu *et al*., 2008; Miranda *et al*., 2019; Salomone *et al*., 2017).

Na Tabela 1 é possível observar a diminuição das contagens destas bactérias em estrumes de diferentes animais (Erickson *et al*., 2004; Cecilia Lalander *et al*., 2013; Q. Liu *et al*., 2008)

Tabela 1 - Contagens bacterianas de *E. coli* e *Salmonella spp* em diferentes substratos (estrume de animais e fezes humanas). Adaptado de De Smet *et al*. (2018)

Referências	Substrato	Armazenamento	Incubação (h)	Microrganismo	Inoculação (CFU/g)	Temperatura (ºC)	Redução (log_{10}CFU/g)
Erickson *et al*., 2004	Estrume de bovino	1 dia a -20ºC	72	*E. coli*	10^7	27	≈.5
	Estrume de Frango	1 dia a -20ºC		*Salmonella*	10^7	27	≈2.5
	Estrume de Frango			*E. coli*		23	≈1.0
				E. coli		27	≈6.0
				E. coli		32	≈6.0
	Estrume de Frango	45 min a 121ºC	72	*Salmonella*	10^7	27	≈2.5
Liu *et al*., 2008	Estrume de bovino de leite	7 dias a -20ºC	72	*E. coli*	10^7	23	5.1
						27	6.1
						31	5.0
Lalander *et al.*, 2013	Fezes humanas	-20ºC	192	*Salmonella*	10^7	20 - 25	6.0
				Enterococcus	10^6		<1.0

h – horas; CFU – unidades formadoras de colonia; g – grama

A redução da atividade microbiana no estrume onde as larvas estão inseridas ocorre através da produção de péptidos antimicrobianos (AMPs) (Bortolini *et al*., 2020; Erickson *et al.*, 2004; Q. Liu *et al.*, 2008) Estes apresentam atividade tanto em bactérias gram-negativas como em gram-positivas como *Staphylococcus aureus* (Park *et al.*, 2014, 2015).

No entanto, estudos como Erickson *et al*. (2004) referem um aumento da redução de *E. coli* no estrume de frango com temperaturas mais elevadas. Esta redução pode estar também associada ao aumento da concentração de NH_3 que aumenta com o aumento da temperatura (Gold *et al.*, 2018). Como a temperatura aumenta durante a biodigestão, a diminuição destas bactérias pode não estar diretamente relacionada com as larvas (da Silva & Hesselberg, 2020).

Tendo em consideração que estas bactérias são potencialmente patogénicas para os seres humanos e animais (Rehman *et al*., 2019), a diminuição destes agentes provoca um saneamento nos resíduos orgânicos pelas BSFL. Desta forma, os resíduos orgânicos bio convertidos (*frass*) podem ser utilizados como fertilizante seguros na agricultura (Lalander *et al*., 2013). No entanto estes possíveis contaminantes continuam a representar riscos quando a biomassa é destinada a alimentação animal (da Silva & Hesselberg, 2020).

4. Redução de contaminantes

A concentração de contaminantes químicos no estrume depende da concentração desse contaminante químico usado na alimentação animal ou água de abeberamento, da natureza do contaminante e do seu metabolismo no organismo animal. Essa concentração vai influenciar a capacidade de biodigestão das larvas (EFSA, 2015).

Diversos xenobióticos como antibióticos e pesticidas são moléculas complexas e estáveis que podem ficar no ambiente durante longos períodos de tempo (De Smet *et al*., 2018). As larvas de *Hermetia illucens* possuem mecanismos que permitem a degradação destes produtos através das bactérias e das enzimas presentes no aparelho gastrointestinal (Gold *et al*., 2018). Este processo é ainda favorecido pelo facto do desenvolvimento das larvas não ser afetado por estas substâncias (Gold *et al*., 2018; C. Lalander *et al*., 2016; Purschke *et al*., 2017). Diversos estudos avaliaram o impacto das BSFL em diferentes substâncias ativas. Cai *et al*., (2018) apontaram que a utilização da BSFL no tratamento de resíduos pode melhorar até 97% a degradação da tetraciclina. Lalander *et al*. (2016) também demonstraram que o tempo de semivida de cinco substâncias distintas (carbamazepina, roxitromicina, trimetoprim, azoxistrobina e propiconazol) submetidas ao tratamento com BSFL foi menor quando comparado com o controlo. Neste ensaio foi também referido que não existiu bioacumulação em nenhuma das substâncias analisadas.

Assim a BSFL desempenha um papel importante na reciclagem de resíduos orgânicos, mas também na biorremediação dos mesmos, tornando-os seguros e possíveis de se serem reutilizados no ambiente (De Smet *et al*., 2018; Lalander *et al*., 2016).

5. Outras vantagens

Outras vantagem da biocompostagem com BSFL é que de modo geral o tempo de tratamento com larvas é mais rápido (entre 11 e 20 dias) enquanto a compostagem convencional demora no mínimo 60 dias (Guo *et al*., 2021; Liu *et al*., 2019).

Complementariamente as BSFL consomem os resíduos orgânicos e convertem-nos em biomassa larvar, o substrato que é deixado para trás é semelhante a um composto orgânico (Gold *et al.,* 2018). Estes produtos são sustentáveis e comerciáveis o que permite que o estrume seja valorizado e incluído numa economia circular (Bortolini *et al.,* 2020; Lopes *et al.,* 2020).

Estes benefícios são das larvas em relação a bioconversão, e seguidamente serão apresentados os benefícios relativos as larvas pós bioconversão e aos seus resíduos.

2.4 Utilização da biomassa larvar

A bioconversão de diferentes resíduos com larvas de mosca soldado negra resulta na produção da biomassa larvar que pode ter utilizações diversas para fins industriais, medicinais e alimentícios (Beskin *et al*., 2018), a partir das suas frações de proteínas, gordura e quitina (Liu *et al*., 2019). Este processo permite a valorização e uso sustentável dos recursos naturais que aparentemente têm pouco valor comercial ou que podem representar um constrangimento ambiental.

As larvas podem ser utilizadas como fonte alimentar quando estão no quinto ou sexto instar como pré-pupa. Geralmente a segunda tem sido mais utilizada devido à facilidade da colheita (Diener *et al*., 2011; Cheng *et al*., 2017). No entanto a constituição das larvas pode apresentar variações consoante o substrato onde se encontram (Cheng *et al*., 2017; Gold *et al*., 2018; Lalander *et al*., 2015; Liu *et al*., 2019; Makkar *et al*., 2014).

Relativamente à composição centesimal, os estudos demonstram que as larvas e as pré-pupas apresentam um alto teor proteico (Diener *et al*., 2009): um teor proteico da biomassa larvar alto (32 e 58%) expresso em matéria seca (Gold *et al*., 2018) e proteína bruta das pré-pupas entre 40 a 44 % e uma concentração proteica, depois da remoção parcial dos lípidos, até 65% (Gold *et al*., 2018). O teor lipídico encontra-se entre 15 a 39% em matéria seca Gold *et al*. (2018) sendo que o teor de gordura bruta é muito maior nestas larvas do que noutros insetos, farinha de soja e farinha de peixe (Liu *et al*., 2019) como está demonstrado no Gráfico 1.

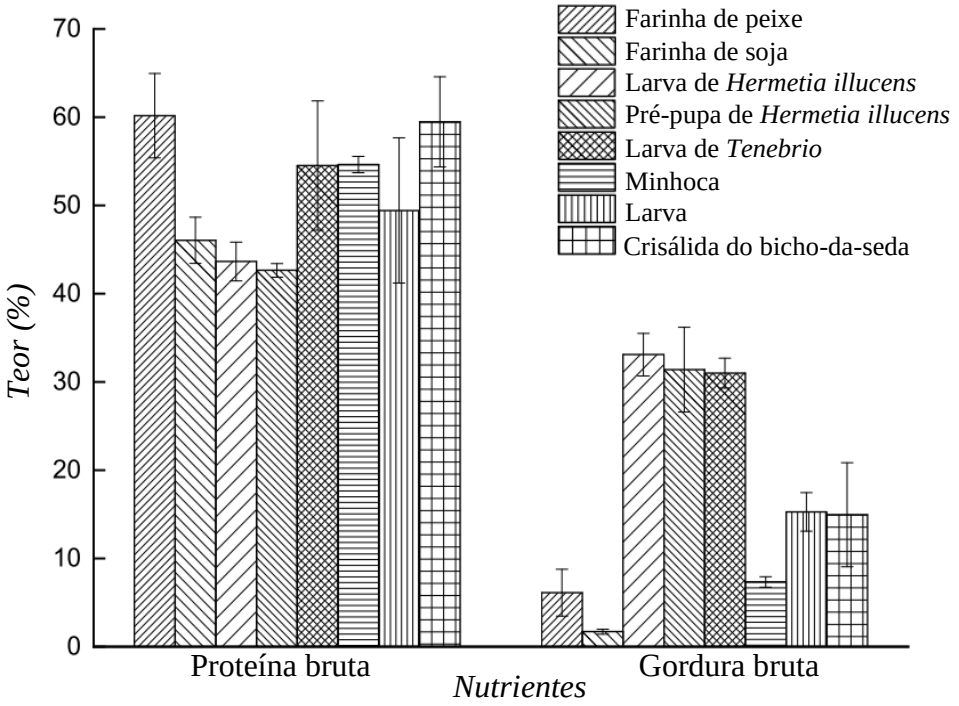


Gráfico 1 - Teor proteína bruta e gordura bruta de diferentes insetos, soja e farinha de peixe. Adaptado de Liu et al., (2019)

Para além disso, as larvas de *H. illucens* são bastante ricas em aminoácidos e minerais (Makkar *et al*., 2014).

i. Utilização de larvas na produção de biodiesel

Na fase de pré-pupa, as larvas passam por um processo de secagem e posterior extração química ou mecânica de forma a separar o óleo da massa larvar (Li *et al*., 2011; Raksasat *et al*., 2020; Surendra *et al*., 2016; Zheng *et al*., 2012).

Uma das utilizações do óleo obtido através das larvas tem sido na produção de biodiesel (Li *et al*., 2011; Surendra *et al*., 2016; Raksasat *et al*., 2020; Zheng *et al*., 2012). O óleo sofre posteriormente um processo de transesterificação transformando-se em biodiesel (Surendra *et al*., 2016). Estudos como Surendra *et al*. (2016) comprovaram a produção de um biodiesel de boa qualidade utilizando BSFL que tinham sido utilizadas anteriormente para bioconverter desperdícios alimentares (Figura 6).



Figura 6 - Esquema de produção de biodiesel através da compostagem com larvas de mosca soldado negra. (Adaptado de Surendra *et al.* 2016)

A transição dos combustíveis fosseis para os biocombustíveis é importante para diminuir os impactos nocivos da extração no ambiente e encontrar uma fonte de energia renovável e sustentável. Em comparação com outras matérias primas utilizadas para a produção de biodiesel, as larvas são fáceis de recolher e o seu óleo pode ser extraído com técnicas disponíveis atualmente o que reduz o custo do produto final (Elsayed *et al*., 2020).

Estudos como Newton et al., (2005) confirmaram que as BSFL criadas a partir de estrume de suíno têm a capacidade de produzir um biodiesel e que produz tanta energia quanto a produção de metano da mesma quantidade de estrume.

Para além disso, estudos como Surendra *et al*. (2016) verificaram que o óleo derivado de BSFL contém concentração elevada de ácidos gordos saturados de cadeia média e baixa concentração de ácidos gordos polinsaturados, ou seja, torna este óleo um substrato ideal para produzir biodiesel de alta qualidade, pois apresenta menor viscosidade e maior estabilidade oxidativa.

ii. Quitina

O exosqueleto dos insetos é composto de quitina que tem um interesse comercial devido à sua elevada percentagem de azoto (6,9%) em comparação com a celulose sinteticamente substituída (1,25%). Desta forma, a quitina é um agente de química útil para produtos em medicina, cosméticos e biotecnologia (Majeti & Kumar, 2000; Diener *et al.*, 2011).

A quitina pode ser processada em quitosano que pode ser usado em várias aplicações tais como tratamento de águas residuais e revestimentos bioativos (De Smet *et al*., 2018). Este processo faz-se através da deacetilação da quitina. O quitosano é um polímero de alto valor comercial com várias utilizações no ramo da biotecnologia (Gray, 2019; Liu *et al*., 2019).

iii. Utilização de larvas para fins medicinais

As BSFL produzem substâncias biologicamente ativas que podem ser facilmente extraídas e utilizadas na industria farmacêutica devido as suas propriedades antibacterianas, antitumorais e estimulantes do crescimento (Čičková *et al*., 2015).

O aproveitamento do robusto sistema imunitário da BSF tem aumentado a relevância no ramo da medicina. A imunidade da BSF é uma combinação de mecanismos mediados por células e mecanismos humorais inatos. Na hemolinfa da BSF, as principais respostas mediadas por células são fagocitose, nodulação e encapsulamento, enquanto alguns mecanismos humorais inatos são os peptídeos antimicrobianos e proteínas (por exemplo, lisossomas) (De Smet *et al*., 2018).

Os AMPs presentes na hemolinfa podem ser extraídos de forma a produzir novos princípios ativos. Os péptidos antimicrobianos presentes na BSFL demonstraram atividade contra bactérias gram-positivas como *Staphylococcus aureus* (Park *et al*., 2014, 2015) e gram-negativas como como *Salmonella spp*. e *E.coli* (T. Liu *et al*., 2019; Rehman *et al*., 2017). Além disso, os péptidos antimicrobianos derivados de BSFL demonstram possuir maior estabilidade térmica que os péptidos antimicrobianos derivados de outros insetos, tendo apresentado um bom desempenho após congelamento e descongelamento repetidos (Liu *et al*., 2019).

iv. Utilização de larvas na alimentação animal

Devido ao aumento da população mundial, tem existido uma procura crescente por fontes proteicas (FAO, 2013). As matérias primas convencionais como soja, farinha de peixe e outras usadas na alimentação animal podem tornar-se limitadas, aumentando assim a procura por diferentes fontes alternativas (Miranda *et al*., 2019).

A utilização intensiva dos concentrados proteicos, tais como farinha de soja e farinha de peixe, tem impactos negativos no ambiente. O aumento da procura por esses concentrados proteicos causa agravamento na sobrepesca, desflorestação e uso de grandes quantidades de água. Outro aspeto associado é o preço elevado destas matérias primas convencionais (EFSA, 2015; Gold *et al*., 2018; Lalander *et al*., 2016; Lopes *et al*., 2020; Quilliam *et al*., 2020) assim como a enorme dependência de marcados externos.

Assim, os insetos podem desempenhar um papel importante como fonte de proteína alternativa (da Silva & Hesselberg, 2020). A biomassa larvar pode ser usada na produção de alimentos para animais de produção (aves, suínos e peixes) e animais de estimação devido à composição em proteínas e lípidos (Diener *et al*., 2011; Gold *et al*., 2018; Lalander *et al*., 2016).

A biomassa larvar, quando produzida adequadamente, cumpre os requisitos nutricionais necessários para ser utilizado na alimentação animal, uma vez que são ricos em vitaminas, minerais e micronutrientes. A gordura proveniente das mesmas contém ácidos gordos saturados e polinsaturados. Esta foi utilizada para substituir fontes tradicionais de gordura nas formulações de alimentos para animais sem efeitos adversos no desempenho dos mesmos, assim como na qualidade do produto final (da Silva & Hesselberg, 2020; Liu *et al*., 2019).

Embora o conteúdo de gordura das larvas seja afetado pelo substrato orgânico onde foram criadas, o teor de gordura bruta é maior na biomassa larvar comparativamente à farinha de soja, o mesmo ocorre com o teor de proteína bruta (Liu *et al*., 2019), como mostrado no Gráfico 1.

Nos estudos de Lalander *et al*. (2015) foi referido que animais alimentados com ração composta por farinha de BSFL não mostraram alteração na palatibilidade e na taxa de crescimento.

Outra vantagem da utilização de BSFL na alimentação dos animais é a biodisponibilidade de certas substâncias. Por exemplo, as proteínas de algumas plantas não são diretamente acessíveis aos peixes. No entanto, se estas plantas forem processadas através do tratamento com BSFL, as larvas podem ser utilizadas como alimento para peixes e essa mesma proteína já estará disponível (da Silva & Hesselberg, 2020).

A utilização de larvas para a biodegradação de resíduos para depois serem utilizadas na alimentação permitiria que os resíduos fossem tratados de forma mais ecológica e se produzisse uma fonte proteica rentável, de alto valor biológico e sustentável (Gold *et al*., 2018).

No entanto, segundo as normas da união europeia, as larvas consequentes da bioconversão de efluentes de produção pecuária não podem ser utilizadas na alimentação. Para serem

utilizadas na alimentação de animais só podem conter produtos de origem não animal, com exceção de alguns produtos, desde que provenientes de materiais de categoria 3 (Costa *et al*., 2018). As matérias de categoria 3 são descritas no Artigo 6º do Capítulo II do regulamento 1774/2002.

Esta restrição resulta do facto das larvas poderem bioacumular compostos nocivos do estrume (Lalander *et al.,* 2013)**.** No entanto, Lalander *et al*. (2016) mostraram que as larvas não fazem a bioacumulação de diversos princípios ativos.

Nos que diz respeito aos microrganismos, as bactérias patogénicas para os insetos (entomopatogénicas) são consideradas inofensivas para os animais e humanos devido ao facto de os hospedeiros serem tão filomaticamente diferentes (FAO, 2013). Os riscos para os seres humanos e animais relacionados com insetos terão, portanto, origem principalmente na microbiota relacionada com as condições de criação (como os substratos), manuseamento, processamento e preservação. Assim, microrganismos tais como *Salmonella*, *Campylobacter* e *E. coli*, podem estar presentes em insetos não transformados, dependendo do substrato utilizado e das condições de criação.

No entanto, o risco de transmissão destas bactérias poderia ser atenuado através de um processamento eficaz assim como transformação e armazenagem pode ser moderado por medidas higiénicas em toda a cadeia de produção (EFSA, 2015). Por exemplo, seria recomendado o saneamento com amoníaco. Antes de utilizar as pré-pupas na alimentação animal seria necessário aperfeiçoar mais as técnicas de saneamento (Lalander *et al.,* 2013).

2.5 Utilização do composto (*frass*)

A fração sólida obtida após a colheita da BSFL e processamento pelas mesmas tem a denominação de *frass* (Elsayed *et al*., 2020; Quilliam *et al*., 2020). O *frass*, em geral, descreve os excremento dos insetos, mas num contexto comercial refere-se frequentemente a uma mistura de fezes de insetos, resíduos de substratos digeridos e não digeridos e exoesqueletos das larvas (Klammsteiner *et al*., 2020).

Existem várias evidencias que demonstram que as BSFL podem transformar diferentes resíduos em fertilizantes orgânicos de forma muito eficiente em comparação a outros insetos ou animais (Kim *et al*., 2011).

2.5.1 Características do *frass*

O *frass* das moscas soldado negra (BSFF) tem uma estrutura granular solta com odor terroso e é adequado para ser usado como fertilizante orgânico (Lopes *et al*., 2022).

A taxa de mineralização do azoto é dos fatores mais determinantes na qualidade do fertilizante. No entanto, é relevante destacar que o substrato utilizado para o cultivo de insetos afeta as propriedades do *frass*, pois os resíduos não assimilados permanecem inutilizáveis, enquanto a fração digerida é modificada pela microbiota intestinal ao passar pelo trato gastrointestinal (Klammsteiner *et al.*, 2020).

Menino *et al*. (2021), demonstraram com BSFF proveniente de larvas que digeriram subprodutos vegetais da indústria agroalimentar um efeito significativo na produção global de azevém. Foi observada uma melhoria geral na fertilidade do solo utilizado no ensaio, nomeadamente, um aumento significativo de matéria orgânica (MO) de pentóxido de fósforo (P_2O_5) e de óxido de potássio (K_2O), juntamente com um aumento constante da atividade de desidrogenase, desde o controlo ao tratamento que recebeu maiores quantidades do fertilizante.

Liu *et al*. (2019) demonstraram que diferentes estrumes convertidos por BSFL podem ser usados como fertilizante orgânico. Em particular, o estrume de bovino após a bioconversão com BSFL, torna-se menos sólido, e aumentou o crescimento da pastagem. Além disso, verificou que os teores de azoto, fósforo e potássio de estrume de suíno diminuíram após a conversão. Estas observações indicam que o BSFF oferece benefícios económicos e ambientais significativos no tratamento e conversão de excrementos de animais.

2.5.2 Vantagens da utilização do *frass*

Para a fertilidade do solo a longo prazo, existem vantagens na alteração dos solos com matéria orgânica em combinação com fertilizantes sintéticos (Quilliam *et al.*, 2020). Os benefícios ambientais significativos estão relacionados com a substituição da produção de adubos à base de azoto (Salomone *et al*., 2017).

O BSFF é um agregado de elementos estáveis que são conhecidos pela melhoria do pH, matéria orgânica do solo, níveis de micronutrientes secundários e micronutrientes, bem como disponibilidade de nutrientes, absorção e utilização do solo (Beesigamukama *et al.*, 2020). Quilliam *et al*. (2020) demonstraram que o cultivo de culturas no solo alterado com *frass* pode ser uma estratégia valiosa para aumentar a resistência, ou pelo menos tolerância, a doenças culturais economicamente importantes.

A utilização da BSF para biodigestão de efluentes provenientes da pecuária permitiriam que estes tivessem o maneio correto, com um impacto menor para o ambiente em comparação com os métodos de compostagem tradicional. Para além disso, esta utilização daria origem a produtos de valor comercial com alto valor acrescentado, o que permitiria criar uma economia circular com um mínimo desperdício (Bortolini *et al.,* 2020) e aproveitamento máximo de recursos

O presente trabalho de dissertação encontra-se no âmbito do projeto GoEfluentes desenvolvido em colaboração com o INIAV e tem o objetivo de determinar a influência de diferentes resíduos orgânicos (estrume de frango, bovino e suíno) no desenvolvimento da massa larvar de mosca soldado negra e características do *frass* originado a partir do processo.

3. Materiais e Métodos

O presente trabalho de investigação foi desenvolvido na unidade de investigação e desenvolvimento da EntoGreen no período entre 22 de janeiro de 2021 a 19 de abril de 2021, localizada em Santarém. Este protocolo experimental teve como base estudos de Beskin *et al*., (2018), Tao *et al*., (2019) e Miranda *et al*., (2020) que descrevem a utilização de larvas na bioconversão de estrume com três grupos de análise.

3.1. Desenho experimental

Um procedimento experimental com três ensaios usando três tipos de substratos preparados com estrume de frango (n=12), suínos (n=15) e bovinos (n=15) foi realizado consecutivamente no tempo. Em cada ensaio, um total de três grupo (blocos) de tratamentos foram conduzidos com cinco repetições (n=5) e cada repetição foi considerada o conjunto substrato e larvas.

No ensaio com estume de frango, devido a constrangimentos do local (dificuldade de manter a temperatura e a humidade relativa estáveis) foi necessário repetir o ensaio. Contudo, dada a disponibilidade desse composto orgânico só foi possível realizar duas unidades experimentais do grupo de controlo de *frass* (GCE). Os restantes tratamentos (grupo experimental - GE e grupo controlo de larvas - GCL) foram conduzidos com cinco unidades experimentais. Na Tabela 2 é possível observar o resumo destas informações.

Tabela 2 - Representação esquemática do delineamento experimental, grupos de tratamento e número de repetições

Ensaios	Grupos de estudo (blocos)		
	Grupo experimental (com estrume e com larvas)	Grupo de controlo do *frass* (com estrume e sem larvas)	Grupo de controlo das larvas (sem estrume e com larvas)
Ensaio com estrume de frango	GE (n=5)	GCE (n=2)	GCL (n=5)
Ensaio com estrume de suíno	SE (n=5)	SCE (n=5)	SCL (n=5)
Ensaio com estrume de bovino	BE (n=5)	BCE (n=5)	BCL (n=5)

GE = grupo experimental no ensaio de frango; GCE = grupo de controlo do *frass* no ensaio de frango; SE = grupo experimental no ensaio de suíno; SCE = grupo de controlo do *frass* no ensaio de suíno; BE = grupo experimental no ensaio de bovino; BCE = grupo de controlo do *frass* no ensaio de bovino.

I. **grupo experimental** (com estrume e larvas): as larvas foram inoculadas num substrato formado pela mistura de estrume, ração e água (exceto no ensaio com estrume de suíno em que não foi utilizada água), especificamente estrume de frangos, estrume de suínos e estrume de bovinos (representado por GE, SE, BE respetivamente);
II. **grupo de controlo do *frass*** (sem larvas): o substrato foi preparado de forma similar ao grupo experimental, contudo não foram inoculadas larvas (representado por GCE, SCE, BCE);
III. **grupo de controlo de larvas** (sem estrume): o substrato foi preparado com a dieta padrão Gainville e água e denominada de GCL, SCL, BCL.

3.2. Larvas e substrato

3.2.1. Obtenção de larvas

O processo de produção das larvas da mosca soldado negra (BSFL) foi iniciado após a cópula e ovipostura em dispositivos próprios. Os ovos, após a sua remoção da superfície do dispositivo por leve raspagem, foram depositados num vidro de relógio laboratorial e pesados numa balança de precisão (BEM 200-3 KERN) a fim de quantificar os ovos e estimar a massa inicial larvar.

Em seguida, os ovos foram inoculados num substrato inicial depositado em caixas de PVC (40 x 60 x 11 cm) e preparado para apresentar 70 % de humidade e 30 % de matéria seca. Esse substrato foi constituído por um alimento composto Gainville, alimento padrão constituído por 50% de sêmea de trigo, 30% de luzerna e 20% de milho (Miranda *et al*., 2020). Para a inoculação das larvas, o substrato inicial foi preparado imediatamente antes da inoculação e posteriormente, as caixas foram colocadas na maternidade, com temperatura media de 28ºC e humidade relativa do ar de 70%, condições consideradas favorável à eclosão e desenvolvimento inicial das larvas (Tomberlin *et al.*, 2002). Após alguns dias, as caixas foram retiradas da maternidade e as larvas juvenis foram transferidas para as unidades de biodigestão.

3.2.2. Substratos e tratamentos

Os resíduos orgânicos de aves de engorda, suínos de engorda e bovinos leiteiros foram obtidos em explorações comerciais de produção animal licenciadas para as respetivas atividades e localizadas na região de Santarém (nomeadamente: LusiAves; INIAV e Escola Superior Agrária de Santarém, respetivamente).

Os resíduos de aves, suínos e bovinos devido a diferentes maneios para a higienização de baias e instalações apresentaram uma consistência inicial muito diferente (em termos de humidade). Como esperado, o estrume de frango apresentou alta percentagem de matéria seca (Tabela 3). Neste caso, após a retirada do último de três lotes de frangos, a cama foi removida mecanicamente do pavilhão de acabamento, revolvida e moída.

O estrume de suíno foi recolhido nas cisternas de receção de efluentes, oriundos do pavilhão de terminação de suínos, que continha água de lavagem dos pisos sob pressão, realizada uma vez ao dia, fezes e urina. Dessa forma, o estrume de suínos continha uma percentagem alta de água. Na recolha e manipulação desse material foi utilizado um homogeneizador portátil (berbequim), acoplado a uma vareta com hélice de 4 palas (Figura 7).

O estrume de bovino foi recolhido numa exploração de vacas de leite, criadas em sistema intensivo. Nestas instalações, as fezes foram removidas mecanicamente com auxílio de robô provido de lamina de raspagem do solo, de forma que o material experimental, fezes frescas apresentaram resíduos de urina e cama (palha).



Figura 7 - Estrume de suíno. Fotografia original da autora

Os substratos usados no estudo foram formulados para obter uma mistura final com 65% de humidade e 35% de matéria seca. Esta humidade foi adotada para o desenvolvimento adequado das larvas e para obter um *frass* com consistência não muito húmida, facilitando a separação entre larvas e *frass* por peneiração (Cheng *et al*., 2017). Antes da preparação dos substratos experimentais, os resíduos orgânicos das diferentes espécies foram caracterizados gravimetricamente (matéria seca, humidade, matéria orgânica total, fibras e cinzas - Tabela 3). Para atingir os valores de humidade e matéria seca prevista, aos resíduos orgânicos foi acrescentada água (exceto no ensaio com estrume de suíno e o alimento composto Gainville). Nesse

contexto, as quantidades de matéria seca foram padronizadas para garantir quantidades similares de matéria orgânica nas respetivas unidades experimentais.

Tabela 3 - Caracterização físico-química dos resíduos orgânicos utilizados como substrato para o crescimento de BSFL.

Componentes	Matéria Seca (%)	Humidade (%)	Matéria orgânica total (%)	Fibras (%)	Cinzas (%)
Alimento composto Gainville	88.00	12.00	23.00	58.00	7.00
Estrume de frango de engorda	76.70	23.30	17.52	59.10	.00
Estrume de bovino leiteiro	22.00	78.00	10.50	3.39	8.11
Estrume de suíno	10.00	90.00	3.66	6.34	.00

Todas as repetições, antes da inoculação com as larvas juvenis, foram preparadas para ter a quantidade de mistura predefinida, 35% de matéria seca e 65% de humidade. A composição do substrato em estrume, bem como a caracterização gravimétrica é apresentada na Tabela 4. As unidades experimentais foram identificadas numericamente de 1 a 5 como mostrado na Figura 8.

Tabela 4 - Formulação dos substratos experimentais (%) com os diferentes tipos de resíduos orgânicos (frangos, suínos e bovinos) e dieta padrão (Gainville), utilizadas para a inoculação das larvas juvenis

(%)	Composição dos substratos				Gravimetria			
	Estrume frango	Estrume suíno	Estrume bovino	Gainville	Água	Matéria orgânica total	Fibras	Cinzas
Controlo das larvas*	-	-	-	40	60	9	23.0	3.0
GE, GCE**	40	-	-	5	55	8	27.0	0.0
SE, SCE**	-	68	-	32	-	10	23.0	2.0
BE, BCE**	-	-	60	25	15	12	16.0	7.0

* Substrato preparado com a dieta padrão Gainville e água (65% de humidade e 35% de matéria seca).

** Substratos preparados com resíduos orgânicos, água e dieta padrão Gainville (65% de humidade e 35% de matéria seca).

GE = substrato com estrume de frangos e larvas inoculadas aos 4 dias;
GCE = grupo controlo do *frass* - ensaio de frango - substrato similar ao grupo experimental, sem inoculação de larvas
SE = substrato com estrume de suíno e inoculadas aos 4 dias;
SCE = grupo controlo do *frass* - ensaio de suíno - substrato similar ao grupo experimental, sem inoculação de larvas
BE = substrato com estrume de bovino e inoculado com larvas de 4 dias;
BCE = grupo controlo do *frass* - ensaio de bovino - substrato similar ao grupo experimental, sem inoculação de larvas
Todas as unidades continham um total de 13.5Kg.

As unidades experimentais, conjunto substrato e larvas, depositadas em caixas de PVC (cloreto de polivinilo), com dimensões de 60 x 40 x 20 cm^2, foram mantidas em instalação de alvenaria, com cerca de 15 m^2, equipada com ar-condicionado regulado para operar em condições de temperatura (27 ºC) e humidade do ar adequados para o desenvolvimento larvar (Harnden & Tomberlin, 2016; Tomberlin *et al*., 2009). Cada caixa foi identificada conforme representado na Figura 8.



Figura 8 – Representação fotográfica da distribuição e identificação das unidades experimentais nas instalações de investigação. GCE = grupo de controlo do frass no ensaio de frango; GCL = grupo de controlo de larvas no ensaio de frango; GE = grupo experimental no ensaio de frango.
Fotografia original da autora

3.2.3. Inoculação

Antes da inoculação das larvas, as caixas foram colocadas numa sala climatizada a 27ºC por 48 horas para atingir temperaturas adequadas. Este passo foi realizado pois em ensaios de teste com efluente foi verificada uma dificuldade inicial no arranque da biodigestão das larvas devido a temperaturas baixas. Durante a realização dos ensaios e para uma maior uniformidade da influência da temperatura entre tratamentos, as posições das caixas foram trocadas aos dias 4, 8, 11 e 14 dias de cada ensaio, pois as caixas em posição superior mostraram temperaturas mais altas devido à atividade das larvas nas caixas inferiores.

Em cada ensaio com estrume de aves, estrume de suínos e estrume de bovinos, a inoculação dos substratos com larvas de 4 dias foi realizada no dia 0 do ensaio. O substrato da caixa maternidade contendo uma quantidade inicial de ovos conhecida e uma quantidade conhecida de alimento composto Gainville foi dividido em dez partes para inocular as 10 caixas do grupo experimental (n=5) e do controlo de larvas (n=5). O material de inoculação foi

homogeneizado manualmente e as caixas foram pesadas individualmente. A quantidade de larvas colocada em cada ensaio encontra-se demonstrada na Tabela 5.

Tabela 5 – Quantidade de larvas de mosca soldado negra (*Hermetia illucens*) de 4 dias mais o alimento composto Gainville (Kg) usado na inoculação das diferentes repetições.

	GCL	GE	SCL	SE	BCL	BE
Larvas (Kg)	.380	.380	.550	.550	.465	.465

GCL = grupo controlo de larvas - ensaio de frango (substrato com Gainville mais água) e larvas inoculadas aos 0 dias
GE = substrato com estrume de frangos e larvas inoculadas aos 4 dias;
SCL = grupo controlo de larvas - ensaio de suíno (substrato com Gainville mais água) e larvas inoculadas aos 0 dias
SE = substrato com estrume de suíno e inoculadas aos 4 dias;
BCL = grupo controlo de larvas - ensaio de bovino (substrato com Gainville mais água) e larvas inoculadas aos 0 dias
BE = substrato com estrume de bovino e inoculado com larvas de 4 dias;
Kg = quilogramas;

3.2.4. Recolha de dados e amostras

As medidas de temperatura e humidade relativa das instalações, bem como as temperaturas do substrato (caixa de PVC) e o peso de 20 larvas de cada caixa, foram determinadas nos dias 4, 8, 11 e 14 do ensaio.

A pesagem das larvas foi realizada com o auxílio de uma pinça e uma balança de precisão (BEM 200-3 KERN). Essa determinação foi repetida três vezes com larvas retiradas aleatoriamente de três locais diferentes da mesma caixa. A média destes três valores, representativo do peso individual de larvas para cada caixa no dia específico, foi usada na análise estatística.

A temperatura do substrato da caixa foi determinada em dois locais distintos na caixa de PVC e a 1 cm no interior do substrato, contado a partir da superfície, utilizando um termómetro de mercúrio. As duas medidas foram usadas para calcular a média que foi usada na análise estatística.

O conteúdo de cada caixa, aos 14 dias do ensaio, foi peneirado numa peneira vertical vibratória (MCL 1000, MCLEÇA, Leça da Palmeira, Matosinhos, Portugal) e o valor total do peso das larvas, por caixa, foi determinado em balança. Três crivos com 3mm, 5mm e 7mm de diâmetro foram utilizados para separar as larvas do substrato digerido (com menos de 3mm) e do substrato aglutinado ou de outros objetos (com mais de 7mm). Para uma separação adequada, o substrato deve estar o mais seco possível, pois o excesso de humidade provoca a agregação do mesmo em grumos, dificultando a passagem pelo crivo (Machado, 2019).

Amostras de larvas e *frass* numa quantidade de 200 gramas foram coletadas aleatoriamente, acondicionadas em embalagem a vácuo, identificadas e submetidas a temperaturas de -20ºC para as análises posteriores.

3.3.Análises laboratoriais e cálculos executados

As análises de composição centesimal foram realizadas no laboratório do Polo de Investigação da Fonte Boa do INIAV. Essas análises foram conduzidas conforme descritos na Norma Portuguesa, que segue a AOAC. No *frass* foi analisado: humidade (HT); matéria seca (MS); proteína bruta (PB); macro e microminerais. Na biomassa larvar foram analisadas: humidade (HT); matéria seca (MS); proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE)

3.3.1. Composição centesimal

Amostras de larvas e amostras de *frass* foram obtidas após o período de bioconversão e ambas as amostras foram submetidas à determinação da composição centesimal (humidade, matéria seca, azoto, extrato etéreo e fibras). As análises foram realizadas em duplicação usando os métodos da AOAC (AOAC, 2000), conforme descrito na Norma Portuguesa 1994. Em resumo, a proteína bruta foi quantificada utilizando o método micro-Kjeldahl (método 954.01) com o auxílio de um digestor de blocos e um destilador de azoto, seguido do calculado com o fator de conversão de 6,25. O extrato etéreo foi determinado pelo método Soxhlet (método 920.39) usando um extrator Soxhlet (VELP Scientifica SER 148/6 Extractor de Solventes, Itália). O teor de humidade foi determinado em estufa, a uma temperatura de 105 °C até se obter um peso de amostra constante (método 950,46). Os resultados foram expressos em % da MS.

3.3.1.1.Macro e microminerais

Para as determinações de macro e microminerais, porções de 1,5 gramas de amostras frescas da biomassa larvar e do *frass* foram individualmente incineradas em mufla a 550 °C (AOAC, 2000) as cinzas foram dissolvidas em ácido clorídrico. Os compostos de sílica encontrados na amostra foram removidos por precipitação e filtração. O precipitado foi dissolvido em ácido clorídrico e diluído até ao volume desejado. O conteúdo de Cálcio (Ca), Sódio (Na), Potássio (K), Magnésio (Mg) e Ferro (Fe) foram determinados por espectrometria de absorção atómica (Shimadzu AA 680®), seguindo as especificações para cada mineral (AOAC, 2000) . A absorbância de cada elemento foi medida por comparação com a absorbância das soluções padrão de calibração para cada elemento. O fósforo (P) foi determinado pelo espectrómetro

UV/VIS (Unicam UV2®) após a reação corada do reagente nitrovanadomolibdato de amoníaco (AOAC, 2000). O Fe foi expresso como µ/g, Ca foi expresso como mg/100 g e os outros minerais foram expressos como g/100g de produto.

3.3.2. Índice de bioconversão

O índice de bioconversão (IBC) foi calculado através da fórmula:

$$IBC = \frac{Kg\ total\ de\ larvas}{Total\ de\ Kg\ de\ mistura\ administrada}$$

Em que: *total de larvas* corresponde a quantidade total de larvas (em kg) produzidas no final de cada ensaio, e *total de mistura administrada* corresponde a quantidade de mistura de estrume (em kg) para cada grupo do ensaio (Miranda et al., 2019). Lembrando que em todos os ensaios a quantidade total de substrato foi igual.

3.4.Análise estatística

A comparação de grupos de análise foi efetuada através do software SPSS (versão 27), com recurso a testes não paramétricos devido à dimensão da amostra ser pequena (Marôco, 2018).

O teste não paramétrico de Friedman foi utilizado para testar e identificar o efeito dos tratamentos sobre as respostas de temperatura das caixas e peso das larvas nos dias dentro de cada grupo, para a comparação múltipla de ordens como descrito em Marôco (2018), com a probabilidade de erro tipo I (α) de .05.

Nas respostas com diferenças significativas, o teste não paramétrico Wilcoxon foi utilizado para compreender, em comparações par a par, em que grupos estas diferenças existiam. Para tal, a correção de Bonferonni foi utilizada que ajusta o *p-value* ao número de comparações múltiplas efetuadas (como são quatro dias consecutivos, o α=.010).

O teste Mann-Whitney, com a probabilidade de erro tipo I (α=.05), foi utilizado para comparar o grupo experimental com cada um dos grupos de controlo para avaliar: a existência de diferenças ao nível da temperatura e do peso das larvas nos diferentes dias (4, 8, 11, e 14); a

existência de diferenças na análise do *frass* nas variáveis MS, HT, N, P, K e Zn; a existência de diferenças na análise das larvas, nas variáveis resposta: peso final, IBC, MS, HT, PB e GB.

A análise de correlação de Pearson, com a probabilidade de erro tipo I ($\alpha = 0.05$), foi utilizada para compreender a intensidade e associação entre duas variáveis resposta tais como: temperatura com o peso; $peso_{final}$, com as variáveis $MO_{inicial}$ e N_{frass}; IBC com as variáveis $MO_{inicial}$ e N_{frass} e; GB com as variáveis $MO_{inicial}$ e N_{frass}.

Para avaliar a significância entre ensaios cujos substratos foram preparados com estrume de frango, suíno e bovino leiteiro o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis foi utilizado (Marôco, 2018) com uma probabilidade de erro tipo I (α) de .05.

Quando existiam diferenças, utilizou-se o teste não paramétrico Mann-Whitney para compreender em que grupos estas diferenças existiam. Para tal, foi utilizada a correção de Bonferonni que ajusta o p-value ao número de comparações múltiplas efetuadas (como são três grupos de animais, o α=.017).

4. Resultados

4.1. Evolução da temperatura e do peso

A temperatura ambiente e a humidade relativa da sala onde decorreram os ensaios foram determinadas para validar os resultados obtidos no interior dos substratos. Os resultados da temperatura (ºC) nas unidades de biodigestão (substrato) e peso das larvas (média das 20 larvas em mg) foram também avaliados consoante as espécies (frango, suíno e bovino).

4.1.1. Temperatura

Na Tabela 6 estão apresentadas as temperaturas médias das caixas de biodigestão de cada grupo (experimental, controlo das larvas e controlo do *frass*) em cada ensaio (frango, suíno e bovino), realizada aos 4, 8, 11 e 14 dias.

Relativamente à evolução da temperatura dentro de cada grupo, o teste de Friedman mostrou que todos os grupos, à exceção do controlo do *frass* do ensaio com estrume de frango (substrato com estrume de frango sem larvas) (p >0.05), apresentaram diferenças significativas para as temperatura entre 4 e 14 dias (GCL: $\chi^2(3)=13.776$; p=.003; GE: $\chi^2(3)=9.960$; p=.019; SCL: $\chi^2(3)=14.04$; p=.003; SE: $\chi^2(3)=14.04$; p=.003; SCE: $\chi^2(3)=13.653$; p=.003; BCL: $\chi^2(3)=12.60$; p=.006; BE: $\chi^2(3)=13.56$; p=.004; BCE: $\chi^2(3)=10.92$; p=.012). No entanto, quando comparadas a temperaturas par a par (a medição do 4.º dia com o 8.º, do 8.º com o 11.º e do 11.º com o 14.º), as comparações com o teste de Wilcoxon indicaram que estas diferenças não eram significativas para nenhum dos grupos (p >0.01) (Tabela 11 do Apêndice II – Análise estatística).

Tabela 6 – Médias (M) e desvio padrão (DP) de temperaturas obtidas no interior do substrato aos 4, 8, 11 e 14 dias de incubação das larvas da Mosca Soldado Negra (*Hermetia Illucens*) e médias de temperatura (T) e humidade relativa do ar (HR) nas instalações dos ensaios com estrumes de frango de engorda, suíno e bovino leiteiro.

Dias de medição de temperatura	T (ºC)	HR (%)	Temperatura no interior do substrato (ºC)			Mann-Whitney
			A	B	C	A-B B-C
	M	M	M ± DP			
Ensaio com estrume de frango de engorda			GCL n=5	GE n=5	GCE n=2	
4	30.50	68.00	44.20 ± 1.11	34.75 ± 1.77	27.00 ± 0.71	AB *U*<.01 *p*=.009 BC *U*<.01 *p*=.009
8	25.20	80.00	46.25 ± 2.08	28.35 ± 1.45	27.75 ± 1.06	AB *U*<.01 *p*=.009 BC *U*=4.00 *p*=.688
11	31.30	73.00	28.80 ± 2.92	26.50 ± 3.12	28.75 ± 2.47	AB *U*=4.00 *p*=.075 BC *U*=3.00 *p*=.434
14	28.60	69.00	26.45 ± 1.65	27.00 ± 1.24	26.00 ± 1.41	AB *U*=9.50 *p*=.525 BC *U*=2.50 *p*=.324
Teste Friedman	--	--	$\chi^2(3)=13.776$	$\chi^2(3)=9.960$	$\chi^2(3)=2.053$	
p-value			*p*=.003	*p*=.019	*p*=.562	
Ensaio com estrume de suíno			SCL n=5	SE n=5	SCE n=5	
4	26.00	58.00	53.10 ± 1.28	40.95 ± 4.24	29.05 ± 1.35	AB *U*<.01 *p*=.009 BC *U*<.01 *p*=.009
8	26.60	94.00	43.35 ± 4.29	48.70 ± 1.16	42.90 ± 3.02	AB *U*=1.50 *p*=.021 BC *U*=.50 *p*=.012
11	27.50	57.00	33.05 ± 2.34	36.30 ± 2.61	40.75 ± 3.90	AB *U*=4.00 *p*=.012 BC *U*=4.00 *p*=.076
14	26.20	70.00	30.4 ± 1.86	32.00 ± 2.18	37.65 ± 2.42	AB *U*=6.00 *p*=.172 BC *U*<.01 *p*=.009
Teste Friedman	--	--	$\chi^2(3)=14.04$	$\chi^2(3)=14.04$	$\chi^2(3)=13.653$	
p-value			*p*=.003	*p*=.003	*p*=.003	
Ensaio com estrume de bovino leiteiro			BCL n=5	BE n=5	BCE n=5	
4	29.40	70.00	48.40 ± 2.13	38.05 ± 2.50	28.80 ± 2.59	AB *U*<.01 *p*=.009 BC *U*<.01 *p*=.009
8	30.50	68.00	42.75 ± 2.46	32.55 ± 2.13	29.65 ± 2.31	AB *U*<.01 *p*=.009 BC *U*=4.00 *p*=.076
11	28.20	59.00	26.00 ± 3.41	23.40 ± 2.19	23.65 ± 1.7	AB *U*=5.00 *p*=.116 BC *U*=12.00 *p*=.914
14	31.30	73.00	24.55 ± 1.99	24.50 ± 1.58	25.85 ± 2.04	AB *U*=11.50 *p*=.834 BC *U*=6.50 *p*=.209
Teste Friedman	--	--	$\chi^2(3)=12.60$	$\chi^2(3)=13.56$	$\chi^2(3)=10.92$	
p-value			*p*=.006	*p*=.004	*p*=.012	

GCL = grupo controlo de larvas - ensaio de frango (substrato com Gainville mais água) e larvas inoculadas aos 0 dias
GE = substrato com estrume de frangos e larvas inoculadas aos 4 dias;
GCE = grupo controlo do *frass* - ensaio de frango - substrato similar ao grupo experimental, sem inoculação de larvas

SCL = grupo controlo de larvas - ensaio de suíno (substrato com Gainville mais água) e larvas inoculadas aos 0 dias
SE = substrato com estrume de suíno e inoculadas aos 4 dias;
SCE = grupo controlo do *frass* - ensaio de suíno - substrato similar ao grupo experimental, sem inoculação de larvas

BCL = grupo controlo de larvas - ensaio de bovino (substrato com Gainville mais água) e larvas inoculadas aos 0 dias
BE = substrato com estrume de bovino e inoculado com larvas de 4 dias;
BCE = grupo controlo do *frass* - ensaio de bovino - substrato similar ao grupo experimental, sem inoculação de larvas

A – Grupos controlo das larvas (GCL, SCL, BCL);
B – Grupos experimentais (GE, SE, BE);
C – Grupos de controlo do *frass* (GCE, SCE, BCE);
Probabilidade de erro tipo I (α =.050) em ambos os testes

Quando foi comparada a temperatura entre os grupos experimentais nos diferentes dias de medição (4, 8, 11, 14) dos três ensaios (GE, SE e BE) foi possível determinar que no dia 4 não existiu diferença significativa entre os grupos (Kruskal Wallis p>.05, Tabela 15 do Apêndice II – Análise estatística). No dia 8 todos os grupos experimentais apresentaram diferença significativa entre si, sendo que o SE teve a maior temperatura comparativamente ao GE (U<.01; p=.009, Tabela 17 do Apêndice II – Análise estatística) e ao BE (U<.01; p=.009, Tabela 18 do Apêndice II – Análise estatística), seguido pelo BE, com a temperatura superior ao GE (U=1.00; p=.016, Tabela 16 do Apêndice II – Análise estatística) e o GE com a menor temperatura. Nos dias 11 (U<.01; p=.009) e 14 dos ensaios (U<.01; p=.009) a temperatura do SE foi significativamente superior ao GE (Tabela 17 do Apêndice II – Análise estatística).

No que diz respeito à comparação da temperatura entre os grupos experimentais com os respetivos controlos de larvas (GCL, SCL e BCL) e controlo de *frass* (GCE, SCE e BCE), em geral diferenças significativas (U <0.01) foram observadas nos períodos de biodigestão de 4 e 8 dias. Aos 4 dias de incubação, os grupos substratos controlo de larvas (preparados com Gainville) foram entre 10 e 13 ºC mais alto do que os substratos preparados com estrume de frango, suínos e bovinos (GE, SE e BE), os quais foram entre 6 e 11 ºC mais alto do que os grupos controlo do *frass* (substrato preparado com estrume, mas sem larvas). Aos 8 dias, nessas mesmas comparações, as diferenças foram entre 10 e 18 ºC e entre 1 e 6 ºC, respetivamente. Aos 11 dias, os resultados foram similares entre si, com exceção da comparação entre os grupos SE e SCE com diferenças de 4 ºC.

No caso do grupo controlo *frass*, substrato com estrume e sem larvas não houve aumento de temperatura importante. Contudo o substrato preparado com estrume de suíno mostrou picos de temperatura elevados aos 8 e 11 dias.

A representação gráfica da evolução da temperatura dos grupos experimentais dos três ensaios (GE, SE e BE) é apresentada no Gráfico 2.

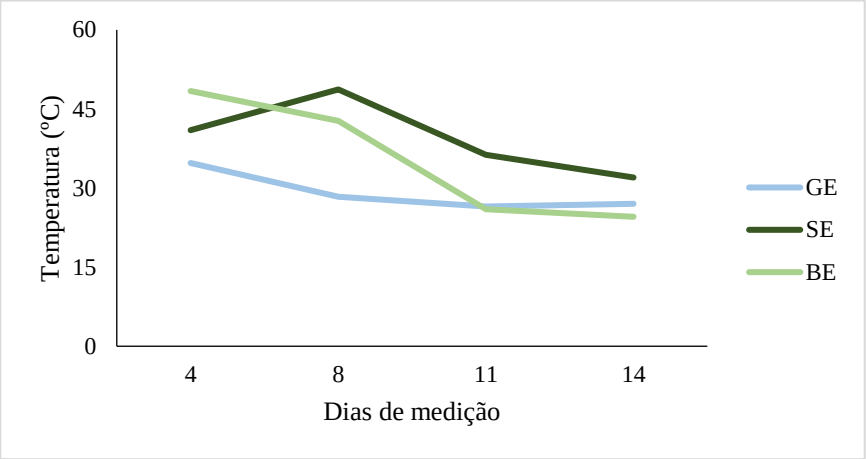


Gráfico 2 – Evolução da temperatura por grupo experimental (frango - GE, suíno - SE, bovino - BE)

Os três grupos experimentais apresentaram evoluções de temperatura distintas. O GE e o BE diminuíram a temperatura do dia 4 ao dia 11. No entanto, no GE observou-se uma descida de temperatura gradual e no BE houve um maior declínio entre o dia 8 e o 11. Para o 14º dia houve uma estabilização da temperatura, sendo que no GE houve um ligeiro aumento, e no BE uma ligeira diminuição.

O SE apresentou um padrão diferenciado dos anteriores. Do dia 4 para o dia 8 houve um aumento da temperatura, apresentando uma descida acentuada no dia 11 e uma diminuição mais ligeira no dia 14.

4.1.2. Peso

Ao longo do ensaio foi avaliado o peso de 20 larvas nas unidades de biodigestão dos grupos experimentais e controlo de larvas dos três ensaios (frango de engorda, suíno e bovino leiteiro) em diferentes momentos (dias 4, 8, 11 e 14). Este valor foi depois dividido de forma a apresentar o peso de uma larva (mg) como são apresentados na Tabela 7:

Tabela 7 – Médias e desvio padrão do peso das larvas Mosca Soldado Negra *(Hermetia Illucens)* obtidas aos 4, 8, 11 e 14 dias de biodigestão das larvas dos substratos com resíduos orgânicos (estrumes de frango, suíno e bovino).

Dias de pesagem	Peso (mg) M±DP		Teste Mann-Whitney
Ensaio – estrume de frangos	GCL n=5	GE n=5	
4	67.07 ± 7.42	68.29 ± 4.50	*U*=10.00 *p*=.600
8	103.03 ± 9.57	102.37 ± 6.01	*U*=11.00 *p*=.754
11	98.76 ± 14.67	96.59 ± 7.38	*U*=12.00 *p*=.917
14	88.84 ± 14.45	91,58 ± 5.91	*U*=8.00 *p*=.347
Teste Friedman	$\chi^2(3)=14.04$	$\chi^2(3)=12.84$	--
p-value	*p*=.003	*p*=.005	
Ensaio – estrume de suínos	SCL n=5	SE n=5	
4	54.48 ± 7.69	48.22 ± 14.72	*U*=11.00 *p*=.754
8	54.68 ± 3.59	88.44 ± 4.83	*U*<.01 *p*=.009
11	50.06 ± 3.55	77.58 ± 4.31	*U*<.01 *p*=.009
14	48.47 ± 4.41	67.06 ± 4.13	*U*<.01 *p*=.009
Teste Friedman	$\chi^2(3)=7.80$	$\chi^2(3)=14.04$	--
p-value	*p*=.050	*p*=.003	
Ensaio – estrume de bovinos	BCL n=5	BE n=5	
4	59.01 ± 6.47	59.76 ± 10.45	*U*=10.00 *p*=.600
8	79.73 ± 4.15	100.93 ± 22.96	*U*=11.00 *p*=.059
11	69.00 ± 5.98	89.13 ± 16.69	*U*=3.00 *p*=.047
14	63.96 ± 2.79	79.11 ± 7.46	*U*<.01 *p*=.009
Teste Friedman	$\chi^2(3)=10.68$	$\chi^2(3)=12.12$	--
p-value	*p*=.014	*p*=.007	

GCL = grupo controlo de larvas - ensaio de frango (substrato com Gainville mais água) e larvas inoculadas aos 0 dias
GE = substrato com estrume de frangos e larvas inoculadas aos 4 dias;
GCE = grupo controlo do *frass* - ensaio de frango - substrato similar ao grupo experimental, sem inoculação de larvas

SCL = grupo controlo de larvas - ensaio de suíno (substrato com Gainville mais água) e larvas inoculadas aos 0 dias
SE = substrato com estrume de suíno e inoculadas aos 4 dias;
SCE = grupo controlo do *frass* - ensaio de suíno - substrato similar ao grupo experimental, sem inoculação de larvas

BCL = grupo controlo de larvas - ensaio de bovino (substrato com Gainville mais água) e larvas inoculadas aos 0 dias
BE = substrato com estrume de bovino e inoculado com larvas de 4 dias;
BCE = grupo controlo do *frass* - ensaio de bovino - substrato similar ao grupo experimental, sem inoculação de larvas
Probabilidade de erro tipo I (α =.050) em ambos os testes

Relativamente à evolução da peso das larvas dentro de cada grupo, o teste de Friedman determinou que todos os grupos, apresentaram diferenças significativas entre os dias 4 e 14 (GCL: $\chi^2(3)=14.04$; *p*=.003; GE: $\chi^2(3)=12.84$; *p*=.005; SCL: $\chi^2(3)=7.80$; *p*=.05; SE $\chi^2(3)=14.04$; *p*=.003; BCL: $\chi^2(3)=10.68$; *p*=.014; BE $\chi^2(3)=12.12$; *p*=.007). No entanto, quando comparados os pesos par a par (a medição do 4.º dia com o 8.º, do 8.º com o 11.º e do 11.º com o 14.º) os testes de Wilcoxon indicaram que estas diferenças não eram significativas para nenhum dos grupos (*p*>.01, Tabela 14 do Apêndice II – Análise estatística).

No que diz respeito à comparação do peso dos grupos experimentais (GE, SE e BE) com os respetivos controlos de larvas (GCL, SCL e BCL) foi possível determinar que: no ensaio com estrume de frango não houve diferença entre os valores de peso do GE e do GCL (Mann-Whitney $p>.05$); no ensaio com estrume de suíno, o peso do SE foi significativamente superior ao peso do SCL 38.15, 35.47 e 27.72% nos dias 8 ($U=.00$; $p=.009$), 11 ($U=.00$; $p=.009$) e 14 ($U=.00$; $p=.009$) respetivamente e no ensaio com estrume de bovino, o peso do BE foi significativamente superior ao peso do BCL 22.58 e 19.15% nos dias 11 ($U=3.00$; $p=.047$) e 14 ($U=.00$; $p=.009$) respetivamente.

Quando foi comparado o peso entre os grupos experimentais nos diferentes dias de medição (4, 8, 11, 14) dos três ensaios (GE, SE e BE), no dia 4 dos o peso do GE foi superior ao SE ($U=1.00$; $p=.016$ Tabela 22 do Apêndice II – Análise estatística) 29.39%. Nos dias 8 e 11 não houve diferença significativa entre os grupos (Kruskal Wallis $p>.05$, Tabela 20 do Apêndice II – Análise estatística).

No dia 14 de biodigestão o SE foi significativamente inferior ao GE 26.74% ($U<.01$; $p=.009$, Tabela 22 do Apêndice II – Análise estatística) e ao BE 15.23% ($U=1.00$; $p=.016$, Tabela 23 do Apêndice II – Análise estatística).

A representação gráfica da evolução do peso dos grupos experimentais dos três ensaios (GE, SE e BE) encontra-se no Gráfico 3**.**

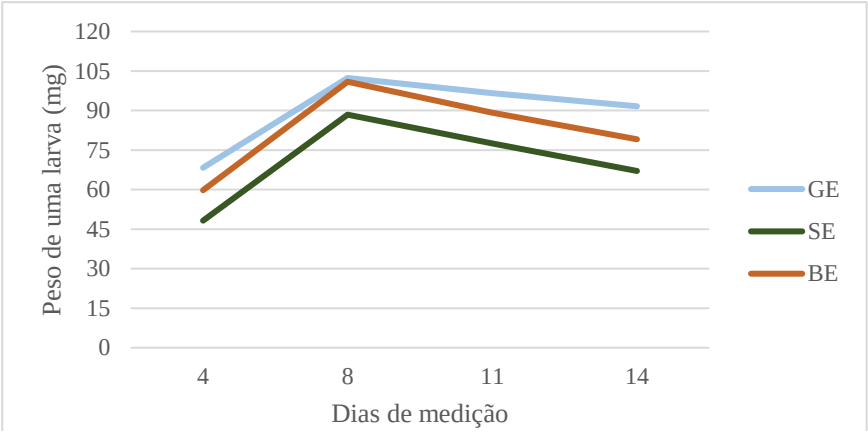


Gráfico 3 - Evolução do peso das larvas por grupo experimental (frango - GE, suíno - SE, bovino - BE)

Os grupos experimentais apresentaram uma evolução de peso das larvas semelhante. Houve um pico de peso no dia 8, diminuindo gradualmente até ao dia 14. No entanto, o GE apresentou uma descida de peso menos acentuado do que o SE e o BE.

A partir do 8 dia até o 11º dia, as larvas mostram que houve redução no peso na ordem de 19%.

4.2.Composição centesimal, peso final e índice de bioconversão das larvas

A composição centesimal, peso final e índice de bioconversão das larvas obtidas nos grupos experimentais e grupos de controlo das larvas encontra-se representada na Tabela 8.

Tabela 8 – Média (M) e desvio padrão (DP) da composição centesimal das larvas obtido nos grupos experimentais (GE, SE e BE) após a biodigestão dos substratos compostos por estrume e ração GrainVille e das larvas obtidas nos grupos de controlo de larvas (GCL, SCL, BCL) após a biodigestão do substrato composto apenas de ração Gainville

Espécie	Frango		Suíno		Bovino		
Grupo	GCL n=5	GE n=5	SCL n=5	SE n=5	BCL n=5	BE n=5	Kruskal Wallis (GE,SE,BE)
	M ± DP						
MS (%)	28.50 ± .93	25.58 ± 1.92	33.58 ± .67	24.24 ± .53	30.50 ± 2.40	28.82 ± 1.87	$\chi^2(2)=8.52$ $p=.014$
Mann-Whitney	*U*=1.50 *p*=.021		*U*<.01 *p*=.009		*U*=7.00 *p*=.251		
HT (%)	71.50 ± .93	74.42 ± 1.92	66.42 ± .67	75.76 ± .53	69.50 ± 2.40	71.18 ± 1.87	$\chi^2(2)=8.52$ $p=.014$
Mann-Whitney	*U*=1.50 *p*=.021		*U*<.01 *p*=.009		*U*=7.00 *p*=.251		
Cinzas (%)	13.21 ± .97	36.16 ± .87	29.07 ± .85	14.36 ± .44	12.12 ± .85	29.45 ± .71	$\chi^2(2)=10.66$ $p=.005$
Mann-Whitney	*U*<.01 *p*=.009		*U*<.01 *p*=.009		*U*<.01 *p*=.009		
PB (% de MS)	46.82± 0.66	33.90± 2.27	35.73 ± 1.03	48.11 ± 0.84	48.90± 1.35	37.47 ± 3.00	$\chi^2(2)=12.50$ $p=.002$
Mann-Whitney	*U*<.01 *p*=.009		*U*<.01 *p*=.009		*U*<.01 *p*=.009		
GB (% de MS)	18.49 ± 2.09	2.96 ± 1.19	3.27 ± .61	17.31 ± 1.02	20.92 ± 2.30	9.15 ± 3.18	$\chi^2(2)=10.52$ $p=.005$
Mann-Whitney	*U*<.01 *p*=.009		*U*<.01 *p*=.009		*U*<.01 *p*=.009		
Peso final Kg	1.58 ± .08	2.56 ± .27	1.40 ± .12	2.20 ± .16	1.34 ± .19	1.20 ± .10	$\chi^2(2)=11.260$ $p=.004$
Mann-Whitney	*U*<.01 *p*=.053		*U*<.01 *p*=.009		*U*=7.50 *p*=.278		
IBC (%)	11.5 ± .5	18.8 ± 2.0	10.4 ± .9	16.2 ± 1.1	9.9 ± .1.2	9.2 ± .8	$\chi^2(2)=11.601$ p=.003
Mann-Whitney	*U*<.01 *p*=.009		*U*<.01 *p*=.009		U=8.50 *p*=.399		

GCL = grupo controlo de larvas - ensaio de frango (substrato com Gainville mais água) e larvas inoculadas aos 0 dias
GE = substrato com estrume de frangos e larvas inoculadas aos 4 dias;

SCL = grupo controlo de larvas - ensaio de suíno (substrato com Gainville mais água) e larvas inoculadas aos 0 dias
SE = substrato com estrume de suíno e inoculadas aos 4 dias;

BCL = grupo controlo de larvas - ensaio de bovino (substrato com Gainville mais água) e larvas inoculadas aos 0 dias
BE = substrato com estrume de bovino e inoculado com larvas de 4 dias;

Probabilidade de erro tipo I (α =.050) em ambos os testes
M – média; DP – desvio padrão; MS – matéria seca; HT – humidade total; PB – proteína bruta; GB – gordura bruta; IBC – índice de bioconversão; Kg – quilograma
Probabilidade de erro tipo I (α =.050) em ambos os testes

4.2.1. Matéria seca (MS)

A matéria seca nos ensaios com estrumes de frango e de suíno apresentaram diferenças significativas relativamente aos grupos de controlo (U=1.50; p=.021 para a frango e U<.01; p=.009 para o suíno). Sendo que, nestes ensaios a MS foi superior no controlo das larvas. O estrume de bovino não apresentou diferença significativas entre os grupos.

Quando comparando as espécies, a única diferença significativa na matéria seca ocorreu com o estrume de suíno e de bovino (U<.01; p=.009, Tabela 22 do Apêndice II – Análise estatística). Nesta análise o ensaio com estrume de frango não apresentou diferença significativa com os anteriores.

4.2.2. Proteína bruta (PB)

Na comparação entre os grupos experimentais e os respetivos controlos, os ensaios com estrume de frango e de bovino apresentaram uma diminuição da proteína bruta relativamente aos respetivos controlos das larvas. Pelo contrário, o ensaio com estrume de suíno apresentou um aumento da PB relativamente ao controlo das larvas (U<.01; p=.009 para todos os ensaios).

Na comparação entre as espécies, os grupos experimentais do ensaio de estrume de frango e de bovino não apresentaram diferenças significativas entre si (Mann-Whitney p>.017, Tabela 20 do Apêndice II – Análise estatística). No entanto, as larvas obtidas através do estrume de suíno tiveram um valor de PB superior aos valores obtidos no estrume de frango (U<.01; p=.009, Tabela 21 do Apêndice II – Análise estatística) e bovino (U<.01; p=.009, Tabela 22 do Apêndice II – Análise estatística).

4.2.3. Gordura bruta (GB)

Tanto o ensaio com estrume de frango como o ensaio com estrume de bovino obtiveram larvas com valores de gordura bruta inferiores no grupo experimental relativamente aos respetivos grupos de controlo (U<.01; p=.009, para ambos). Esta situação não se verifica no ensaio com estrume de suíno, onde se obtiveram valores de gordura bruta superiores no grupo experimental quando comparado com o controlo das larvas (U<.01; p=.009).

O ensaio com estrume de frango obteve larvas com o menor valor de gordura bruta (U=1.00; p=.016, comparando com o estrume de bovino – Tabela 20 do Apêndice II – Análise

estatística e $U<.01$; $p=.009$, comparado com o estrume de suíno – Tabela 21 do Apêndice II – Análise estatística).

As larvas com maior percentagem de gordura em matéria seca foram as do ensaio de suíno ($U<.01$; $p=.009$, tanto comparando com o estrume de frango – Tabela 21 do Apêndice II – Análise estatística como de bovino – Tabela 22 do Apêndice II – Análise estatística).

4.2.4. Peso final das larvas

O peso total das larvas obtida nos ensaios com substrato composto por estrume de suínos ($U<.01$; $p=.009$) ou estrume de aves GCL ($U<.01$; $p=.009$) foi significativamente superior em 0,98 g ou 0,8 g (ou 38,28 e 36,3%, respetivamente), comparativamente aos grupos com de substratos com Gainville GCL e SCL. No ensaio com estrume de bovino não houve diferenças entre o grupo experimental e o controlo.

Em relação à diferença entre os ensaios, o BE obteve menos 1,36±0,04 Kg e menos 1±0,06 Kg do que o GE ($U<.01$; $p=.009$, Tabela 20 do Apêndice II – Análise estatística) e o SE ($U<.01$; $p=.009$, Tabela 22 do Apêndice II – Análise estatística) respetivamente.

4.2.5. Índice de bioconversão (IBC)

No que diz respeito à diferença do IBC entre os grupos experimentais e os grupos controlo, pode observar-se que nos ensaios com estrume de frango e de suíno, os grupos experimentais (GE e SE) apresentaram índices significativamente superiores aos respetivos controlos ($U<.01$; $p=.009$ para ambos os ensaios). No entanto no ensaio com estrume de bovino não se verificou diferença significativa entre os grupos.

Relativamente às diferenças entre os estrumes, os ensaios com estrume de frango e de suíno não apresentaram diferença significativa entre si (Mann-Whitney $p>.017$, Tabela 21 do Apêndice II – Análise estatística), tendo valores de conversão de 18,8 e 16,2% respetivamente. O ensaio com menor IBC foi o ensaio com estrume de bovino ($U<.01$; $p=.009$ relativamente ao GE –Tabela 20 do Apêndice II – Análise estatística e ao SE – Tabela 22 do Apêndice II – Análise estatística) com uma conversão de 9,2%.

4.3.Composição centesimal do *frass*

A composição centesimal do *frass* obtido nos grupos experimentais e do substrato obtido nos grupos de controlo do *frass* encontra-se representada na Tabela 9.

Tabela 9 - Média e desvio padrão da composição centesimal do *frass* obtido nos grupos experimentais (GE, SE e BE) após a biodigestão pelas larvas de mosca soldado negra (*Hermetia illucens*) e do substrato obtido nos grupos de controlo do *frass* (GCE, SCE, BCE) sem biodigestão pelas larvas

Espécie	Frango		Suíno		Bovino		
Grupo	GCE n=2	GE n=5	SCE n=5	SE n=5	BCE n=5	BE n=5	Kruskal Wallis (GE,SE,BE)
	M ± DP						
MS (%)	36.40 ± 2.97	51.66 ± 2.40	28.52 ± 2.08	56.14 ± 3.58	39.26 ± 7.26	51.92 ± 4.08	$\chi^2(2)=3.28$ $p=.194$
Mann-Whitney	*U*<.01 *p*=.053		*U*<.01 *p*=.009		*U*=2.00 *p*=.028		
HT (%)	63.60 ± 2.97	48.34 ± 2.40	71.48 ± 2.08	43.86 ± 3.58	60.74 ± 7.26	48.08 ± 4.08	$\chi^2(2)=3.28$ $p=.194$
Mann-Whitney	*U*<.01 *p*=.053		*U*<.01 *p*=.009		*U*=2.00 *p*=.028		
Cinzas (%)	43.59± 1.03	50.94 ± 1.23	10.11 ± 1.97	15.66 ± .55	36.13 ± 3.67	29.63± 6.33	$\chi^2(2)=12.50$ $p=.002$
Mann-Whitney	*U*<.01 *p*=.009		*U*<.01 *p*=.009		*U*=3.00 *p*=.047		
N (% de MS)	1.87 ± .18	1.56 ± .07	2.84 ± .35	2.64 ± .05	2.02 ± .23	2.48 ± .09	$\chi^2(2)=12.5$ $p=.002$
Mann-Whitney	*U*<.01 *p*=.053		*U*=5.00 *p*=.117		*U*<.01 *p*=.009		
PB (% de MS)	11.77 ± .98	9.76 ± .43	17.71 ± 2.17	16.48 ± .31	12.61 ± 1.49	15.56 ± .56	$\chi^2(2)=12.0$ $p=.002$
Mann-Whitney	*U*<.01 *p*=.053		*U*=5.00 *p*=.117		*U*<.01 *p*=.009		
P (% de MS)	1.659 ± .018	1.712 ± .032	0.569 ± .044	0.767 ± .028	0.778 ± .372	1.624 ± .120	$\chi^2(2)=10.5$ $p=.005$
Mann-Whitney	*U*<.01 *p*=.053		*U*<.01 *p*=.009		*U*<.01 *p*=.009		
K (% de MS)	2.528 ± .012	2.758 ± .122	1.882 ± .488	3.117 ± .105	1.267 ± .160	1.833 ± .189	$\chi^2(2)=12.5$ $p=.002$
Mann-Whitney	*U*<.01 *p*=.053		*U*<.01 *p*=.009		*U*<.01 *p*=.009		
Zn (µg/g produto)	247.0 ± 29.7	368.4 ± 27.3	13.2 ± 2.3	26.1 ± .6	21.4 ± 3.5	33.9 ± 2.1	$\chi^2(2)=12.5$ $p=.002$
Mann-Whitney	*U*<.01 *p*=.053		*U*<.01 *p*=.009		*U*<.01 *p*=.009		

GE = substrato com estrume de frangos e larvas inoculadas aos 4 dias;
GCE = grupo controlo do *frass* - ensaio de frango - substrato similar ao grupo experimental, sem inoculação de larvas

SE = substrato com estrume de suíno e inoculadas aos 4 dias;
SCE = grupo controlo do *frass* - ensaio de suíno - substrato similar ao grupo experimental, sem inoculação de larvas

BE = substrato com estrume de bovino e inoculado com larvas de 4 dias;
BCE = grupo controlo do *frass* - ensaio de bovino - substrato similar ao grupo experimental, sem inoculação de larvas

Probabilidade de erro tipo I (α =.050) em ambos os testes
M – média; DP – desvio padrão; MS – matéria seca; HT – humidade total; N – azoto; PB – proteína bruta; P – fósforo; K – potássio; Zn – zinco; µg – micrograma; g – grama

4.3.1. Humidade (HT)

Ao comparar os grupos experimentais e os respetivos controlos, é possível observar que o grupo SE obteve um *frass* com menor humidade total do que o grupo SCE (U<.01; p=.009). Para além disso, o grupo BE obteve um *frass* também com menor humidade total do que o BCE (U=2.00; p=.028).

No entanto, não foram encontradas diferenças significativas na humidade total obtida no *frass* entre grupos experimentais (Kruskal Wallis p>.05, Tabela 15 do Apêndice II – Análise estatística).

4.3.2. Azoto (N)

Na comparação entre os grupos experimentais e os respetivos controlos, apenas o BE obteve um *frass* com significativamente mais azoto em matéria seca que o substrato obtido no BCE (U<.01; p=.009).

Em relação à comparação entre o *frass* obtido nos ensaios com estrume das diferentes espécies, o azoto obtido diferiu em todos os grupos experimentais. O ensaio com estrume de frango obteve um *frass* com menos azoto em MS que o *frass* obtido ensaio com estrume de suíno (U<.01; p=.009, Tabela 17 do Apêndice II – Análise estatística) e de bovino (U<.01; p=.009, Tabela 16 do Apêndice II – Análise estatística) respetivamente.

O *frass* obtido no ensaio de suíno teve mais azoto em MS que o *frass* obtido no ensaio de bovino (U<.01; p=.009, Tabela 18 do Apêndice II – Análise estatística).

4.3.3. Proteína bruta (PB)

Em relação à diferença entre o grupo experimental e o controlo do *frass*, apenas o ensaio com estrume de bovino apresentou diferenças significativas. O *frass* obtido no BE obteve mais proteína bruta em MS que o substrato do BCE (U<.01; p=.009).

Já no que diz respeito à diferença entre espécies, todos os grupos experimentais obtiveram valores de proteína bruta no *frass* com diferença significativa. Sendo que o *frass* obtido através do GE teve os valores menores de PB em relação ao *frass* obtido no SE (U<.01; p=.009, Tabela 17 do Apêndice II – Análise estatística) e no BE (U<.01; p=.009, Tabela 16 do Apêndice II – Análise estatística). O *frass* com maior percentagem de proteína em matéria seca foi o obtido através do SE (U=1.00; p=.016, Tabela 18 do Apêndice II – Análise estatística).

4.3.4. Fósforo (P)

Tanto o ensaio de suíno como o de bovino demonstraram aumentos significativos dos valores de fósforo no grupo experimental em relação aos respetivos grupos de controlo (U<.01; p=.009; N=10 para ambos os ensaios).

Relativamente à diferença entre espécies, o *frass* obtido através do estrume de suíno apresentou os valores mais baixos de fósforo (U<.01; p=.009 tanto em relação ao estrume de frango – Tabela 17 do Apêndice II – Análise estatística como ao estrume de bovino - Tabela 18 do Apêndice II – Análise estatística). No entanto não houve diferença significativa entre o estrume de frango e o de bovino.

4.3.5. Potássio (K)

O *frass* dos ensaios com estrume de suíno e de bovino obtiveram valores de potássio significativamente superiores aos seus respetivos controlos (U<.01; p=.009 para ambos os ensaios).

Relativamente à comparação entre as espécies, os valores de K diferiram significativamente entre si. O *frass* com o menor valor de K foi o obtido através do estrume de bovino (U<.01; p=.009; N=10 tanto na comparação com o estrume de frango – Tabela 16 do Apêndice II – Análise estatística como no de suíno – Tabela 18 do Apêndice II – Análise estatística). E o maior valor foi o obtido através do estrume de suíno (U<.01; p=.009 tanto na comparação com o estrume de frango – Tabela 17 do Apêndice II – Análise estatística como no de bovino – Tabela 18 do Apêndice II – Análise estatística).

4.3.6. Zinco (Zn)

Relativamente à diferença entre os grupos do experimentais e os grupos de controlo os ensaios com estrume de suíno e de bovino apresentaram valores significativamente superiores nos grupos experimentais (U<.01; p=.009 para ambos os ensaios).

No ensaio com estrume de frango não se observaram diferenças significativas entre o grupo de controlo e o grupo experimental.

Em relação à diferença entre espécies, todos os grupos experimentais apresentaram diferenças estatisticamente significativas, sendo que o ensaio com estrume de frango apresentou o maior valor de zinco, comparativamente aos ensaios com estrume de suíno (U<.01; p=.009,

Tabela 17 do Apêndice II – Análise estatística) e de bovino (*U*<.01; *p*=.009, Tabela 16 do Apêndice II – Análise estatística).

4.4.Relação entre variáveis

Os índices de correlações entre as diferentes variáveis (matéria orgânica inicial do *frass*, azoto do *frass*, índice de bioconversão total, peso final das larvas, e gordura bruta das larvas) estão apresentadas na Tabela 10.

Tabela 10 – Relação entre a Matéria orgânica inicial do *frass*, o Azoto do *frass* e o Índice de bioconversão total, o Peso final das larvas, a Gordura bruta das larvas juntando os grupos experimentais

Variáveis	$MO_{inicial}$	N_{frass}
$Peso_{final}$	*r*=-.926 *p*<.001	*r*=-.595 *p*=.019
IBC_{total}	*r*=-.925 *p*<.001	*r*=-.603 *p*=.017
GB_{larvas}	*r*=.410 *p*= .129	*r*=.843 *p*<.001

$MO_{inicial}$ – matéria orgânica inicial; N_{frass} – azoto do *frass*; PB_{frass} – proteína do *frass*; IBC – índice de bioconversão; GB_{larvas} – gordura bruta das larvas;
Probabilidade de erro tipo I (α =.050)

Os dados de matéria orgânica inicial encontrados nos substratos mostraram uma correlação muito forte com o peso final das larvas (*r*=-.926; *p*<.001) e com o índice de bioconversão (*r*=-.925; *p*<.001). Quanto menor foi a $MO_{inicial}$ maior foi o peso final das larvas obtidas, assim como o índice de bioconversão. Sendo que a mistura com estrume de frango apresentava a menor percentagem de $MO_{inicial}$ e a mistura com estrume de bovino apresentava a maior percentagem de $MO_{inicial}$. Para além disso, a $MO_{inicial}$ não apresentou uma correlação com a gordura bruta das larvas.

O azoto obtido no *frass* teve uma relação forte com o peso final das larvas (*r*=-.595; p=.019) e com o índice de bioconversão (*r*=-.603; *p*=.017). O peso das larvas assim como o IBC foram maiores quanto menor foi o N do *frass* obtido. O *frass* com menor teor de N foi o obtido a partir de estrume de frango, e o maior teor de N foi obtido no *frass* obtido a partir da mistura com estrume de bovino.

O azoto do *frass* apresentou ainda uma relação muito forte com a gordura bruta das larvas (*r*=.843; *p*=.000). Ao contrário do reportado para o IBC e para o peso, a percentagem de gordura bruta em matéria seca das larvas foi maior quanto maior foi o N.

4.5.Caracterização descritiva do *frass*

Posteriormente serão demonstrados os resultados qualitativos dos ensaios no que diz respeito à presença de mosca doméstica e fungos, à textura das unidades de biodigestão e à evolução do odor durante os ensaios.

4.5.1. Presença de fungos nas unidades de biodigestão

Em todos os ensaios foi relatada a presença de fungos em diferentes fases do ensaio. No ensaio com estrume de galinha o grupo de controlo das larvas foram observados fungos durante todo ensaio, sendo que no dia 14 a quantidade de fungos tinha diminuído. No entanto estes não se observaram no grupo experimental e no grupo de controlo do *frass*. No ensaio com estrume de suíno o grupo SCL tinha bastante bolor de coloração branca, e os grupos SE e SCE apresentavam pequenos pontos de coloração branca no dia 0 do ensaio, antes da inoculação das larvas. No entanto foi possível observar uma diminuição da presença de fungos nos grupos SE e SCL no dia 11 e 14. No ensaio de bovino o grupo BCE apresentava bastante bolor, nos grupos BE e BCL não foi reportado o mesmo.

No entanto observou-se que nas unidades que tinham larvas de BSF (grupo experimental e grupo controlo de larvas) à medida que a biodigestão decorria a quantidade de fungos diminuía. Sendo que no final dos ensaios estas unidades já não apresentavam fungos visíveis. Na Figura 9 é possível observar a evolução da quantidade de fungo visível do dia 0 ao dia 8, no ensaio com estrume de suíno.

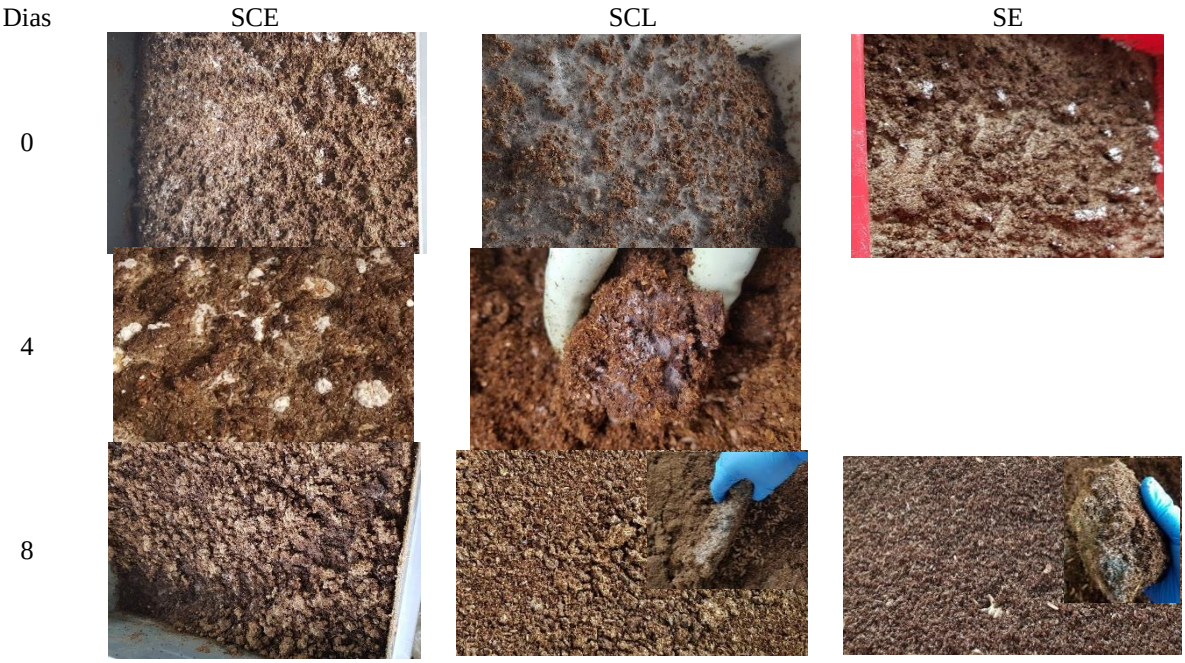


Figura 9 - Presença de fungos e diferentes consistências das unidades de biorremediação nos diferentes dias do ensaio de suíno. SCL = grupo controlo de larvas - ensaio de suíno (substrato com Gainville mais água) e larvas inoculadas aos 0 dias; SE = substrato com estrume de suíno e inoculadas aos 4 dias; SCE = grupo controlo do frass - ensaio de suíno - substrato similar ao grupo experimental, sem inoculação de larvas
Fotografias originais da autora

4.5.2. Presença de mosca doméstica

Nos ensaios com estrume de galinha e suíno foi relatada a presença de várias formas do ciclo da mosca doméstica.

A unidade de maternidade utilizada para inocular as BSFL no ensaio com estrume de galinha continha larvas de mosca doméstica em pequena quantidade.

No 8º dia deste ensaio foi possível observar que todas as unidades experimentais apresentavam larvas e pupas de mosca doméstica, incluindo GCE. No entanto no GE foi possível observar as BSFL a alimentarem-se de pupas de mosca doméstica (Figura 10).

Nos dias 8 e 14 do ensaio com estrume de suíno também possível observar larvas de mosca doméstica no SCE e adultos na proximidade. No entanto não foram encontradas estas larvas nos grupos SE e SCL.



Figura 10 – Presença de larvas de mosca doméstica (a) no controlo do frass, larva de mosca soldado negra a ingerir pupas de mosca doméstica no grupo experimental (b) e pupa de mosca doméstica encontrada durante a pesagem das larvas (c) no 8º dia de ensaio com estrume de frango. Fotografias originais da autora.

4.5.3. Odor e textura final

Foi possível detetar que os três grupos experimentais (GE, SE e BE) apresentaram um odor terroso e textura solta. Nos grupos controlo do *frass* (com estrume e sem larvas) o odor tornou-se mais intenso e o substrato encontrava-se húmido e aglomerado. Sendo que no ensaio de suíno foi possível observar a maior diferença. O *frass* obtido através da bioconversão de estrume de suíno foi o mais solto e com odor mais terroso.

5. Discussão

O presente estudo pretendeu avaliar se o estrume de três espécies pecuárias (frango, suíno e bovino) permitiria um bom desenvolvimento das larvas de mosca soldado negra e formaria um *frass* de boa qualidade e posteriormente entender qual o melhor estrume para este processo. Com este estudo pretendia-se também perceber se as larvas de mosca soldado negra seriam uma boa ferramenta para bioconversão de efluentes pecuários.

A evolução da temperatura do substrato, após a inoculação e que resulta do calor gerado no metabolismo pela biodigestão das larvas, pode afetar o desenvolvimento e sobrevivência da BSFL (Miranda *et al*., 2020).

Neste trabalho, as temperaturas do substrato em biodigestão atingiram valores entre 48,70 e 53,10 ºC nos grupos cujos substratos foram preparados com estrume de animais ou com alimento Gainville. Valores entre 32.5 e 50.2 ºC foram reportados por Ushakova *et al*., (2018). Em geral, o grau de aquecimento depende do substrato que está a ser digerido pelas larvas. Altos teores de açúcares e fibras no substrato são associados a temperaturas mais altas durante o ciclo e também a maior bioconversão, dentro de certos limites. Concomitantemente, a conversão bacteriana passa por uma fase termofílica que pode também contribuir para o aumento da temperatura do substrato no período de bioconversão (Ushakova *et al*., 2018).

As pré-pupas não se alimentam, mas mantém a capacidade de movimentação. A temperatura do substrato diminui exatamente no momento da transformação larvar em pré-pupa. Assim, o momento em que as larvas deixam de se alimentar, mas ainda mantêm a mobilidade é a altura em que ocorre a diminuição da temperatura do substrato da alimentação. Pode sugerir-se que, neste ou no período anterior, quando os componentes acessíveis do substrato são maioritariamente consumidos, as larvas, que são polifagos, podem desempenhar o papel de um bacteriófago e alimentar-se do substrato de colonização das bactérias, que efetuam compostagem microbiana (Erickson *et al*., 2004; Cecilia Lalander *et al*., 2013; Ushakova *et al*., 2018).

Considerando que as temperaturas altas de substrato são indicativas de atividade biológica, os substratos preparados com Gainville e larva proporcionam maior atividade do que os substratos preparados com estrume e larvas, que por sua vez mostra maior atividade do que o substrato preparado com estrume, mas sem larvas (controle do *frass*). Aqueles substratos (com Gainville ou estrume) no qual foram inoculadas larvas apresentaram aos 4 dias de incubação

temperaturas bastante elevadas e acima da temperatura ambiental. E um importante decréscimo aos 11 dias.

No caso do grupo controlo *frass*, substrato com estrume e sem larvas não houve aumento de temperatura importante. Contudo o substrato preparado com estrume de suíno mostrou picos de temperatura elevados aos 8 e 11 dias indicando uma atividade biológica tardia comparativamente aos substratos com larvas deste ensaio.

Relativamente à evolução da temperatura (nos dias 4, 8, 11 e 14 – Tabela 6), em todos os ensaios foi possível observar que os grupos experimentais (GE, SE e BE), tiveram uma temperatura inferior no dia 4 quando comparado com o controlo das larvas (GCL, SCL e BCL). Todos os grupos de controlo das larvas apresentavam fungos visíveis na altura da inoculação, provavelmente oriundos do alimento composto (Figura 9). Ushakova *et al*. (2018) descreveram que o aumento da temperatura do substrato no processo da sua bioconversão BSFL ocorre devido à combinação da decomposição do substrato por microrganismos presentes no mesmo para além da atividade das larvas. Assim, este fungo pode ter contribuído para o aumento da temperatura tendo sido observado que os locais com maior quantidade de fungo eram também os locais com maior agregação de larvas e consequentemente focos de calor. No entanto, no final dos ensaios a quantidade de fungo encontrada nas unidades de biodigestão (com larvas) foi inferior à encontrada nos primeiros dias, devido ao facto das larvas terem a capacidade de degradar o mesmo.

Na comparação da evolução da temperatura dos grupos experimentais dos três ensaios foi possível observar uma variação significativa da temperatura entre os dias 4 e 14 (Tabela 6), sendo que foi possível observar uma descida mais acentuada do dia 8 para o dia 11 no SE e no BE (Gráfico 2). Isto porque a temperatura é mais alta no início da biodigestão, quando as larvas estão a alimentar-se mais ativamente. À medida que as estas vão entrando no 5º e 6º instar da sua evolução, começam a migrar para zonas menos húmidas e cessam a sua alimentação (S. Diener, Zurbrugg, *et al*., 2011; Makkar *et al*., 2014; Zurbrügg *et al*., 2018) e por isso a temperatura do substrato onde se encontram também diminui.

Relativamente à evolução do peso (nos dias 4, 8, 11 e 14 – Tabela 7), quanto à diferença entre os grupos experimentais (GE, SE e BE) e os grupos de controlo das larvas (GCL, SCL e BCL), foi possível observar que o SE apresentou peso 35.47% superior ao controlo das larvas no dia 11 e 27.74% superior no dia 14. Em relação ao peso final, após a separação do *frass*, foi também possível observar que tanto o GE como o SE apresentaram valores superiores

aos respetivos controlos (Tabela 8). O GE com um aumento de 53.9% e o SE com um aumento de 36.36%. Este aumento poderá dever-se à presença de bactérias benéficas para a digestão das larvas no estrume (El-Dakar *et al*., 2021).

Foi também possível observar que a evolução do peso foi semelhante nos três grupos experimentais, isto é, o peso aumentou até ao dia 8 e depois diminuiu (Gráfico 3). Este fenómeno deve-se ao facto de as larvas expelirem o seu conteúdo intestinal no final do 5º instar, fazendo-as diminuir o seu peso quando terminam a sua fase de alimentação (Makkar *et al.*, 2014).

No que diz respeito à comparação dos grupos experimentais, quanto à evolução do peso (Tabela 7), foi possível observar que o GE apresentou um peso significativamente superior ao SE nos dias 4 e 14. No dia 4, o GE teve um peso 29.40% superior ao SE e no dia 14 o aumento foi de 26.77%. Quanto ao peso final (Tabela 8) foi também possível observar que o peso do GE e do SE foram superiores ao BE (53,13 e 45.45% respetivamente). Estes resultados vão de acordo com a literatura, que demonstra que as larvas alimentadas com estrume de aves de capoeira obtiveram um peso superior aos restantes substratos utilizados (El-Dakar *et al*., 2021; Gold *et al*., 2018; Miranda *et al.*, 2019)..

O índice de bioconversão também foi superior nas larvas criadas em estrume de frango (GE) e suíno (SE) quando comparadas aos respetivos controlos das larvas, criadas no alimento composto Gainville. Para além disso foi possível observar uma maior bioconversão no GE (18.8%) comparativamente aos restantes grupos experimentais (SE e BE). Sendo que o estrume com menor índice de bioconversão foi o de bovino (9.2%).

Estes resultados são compatíveis com os estudos de Miranda *et al.* (2019) que demonstraram uma conversão de estrume em biomassa larvar superior em estrume de aves comparativamente ao estrume de suínos e bovinos leiteiros e de Rehman *et al*. (2017) que demonstraram um menor índice de bioconversão em estrume de bovinos leiteiros. Esta diferença poderá ser atribuída ao facto do estrume de aves de capoeira ser tipicamente mais elevado em nutrientes e mais baixo em fibra do que o estrume de bovinos de leite que contém componentes como a celulose e a lenhina, fazendo com que as larvas tenham maior dificuldade a degradar o substrato (Beskin *et al*., 2018; El-Dakar *et al.*, 2021; C. Lalander *et al*., 2019; Rehman *et al*., 2017).

No que diz respeito à composição centesimal das larvas (Tabela 8), relativamente à proteína bruta, foi possível observar que no GE, SE e BE a percentagem de proteína em matéria

seca foi de 33.90±2.27%, 48.11±0.84% e 37.47±3.00% respetivamente. Estes valores estão de acordo com os resultados reportados por Gold *et al*., (2018), que observaram teores proteicos em matéria seca de 32 a 58%. No entanto El-Dakar *et al*., (2021) observou que não existiu diferença significativa do teor proteico entre as larvas criadas em estrume de aves e em estrume de mamíferos. Enquanto, neste estudo foi possível observar que as larvas criadas em estrume de suíno obtiveram mais 14.21 e 10.64% de proteína em matéria seca que as larvas criadas em estrume de frango e bovino, respetivamente, tendo sido possível observar uma maior percentagem de proteína em matéria seca, no ensaio de suíno. Foi ainda possível observar que as larvas criadas em estrume de suíno (SE) apresentaram mais 12.38% de proteína que o respetivo controlo das larvas (SCL).

Relativamente ao teor de gordura, foi possível observar que as larvas criadas em estrume de suíno (SE – 17.31 ± 1.02% em MS) apresentaram mais 14.04% de gordura que o respetivo controlo de larvas (SCL – 3.27 ± .61% em MS). As larvas do SE tiveram ainda uma percentagem superior de gordura em matéria seca que as larvas criadas nos restantes grupos experimentais (GE – 2.96 ± 1.19 e BE – 9.15 ± 3.18% de MS).

Estes resultados vão de acordo com El-Dakar et al., (2021), que referiu que o teor de gordura em matéria seca em larvas criadas em estrume de mamíferos foi de 22,97 ± 3,72%. E com C. Lalander et al., (2016) que reportou um teor de gordura em larvas criadas em estrume de aves de 6% em MS.

No que diz respeito à composição centesimal do *frass* (Tabela 9), tendo em conta que todos os substratos iniciaram o ensaio com uma humidade de 65%, foi possível observar uma redução de cerca de 18% em todos os grupos experimentais (GE, SE e BE). Foi ainda possível observar que no ensaio com estrume de suíno e bovino o *frass* dos grupos experimentais (SE e BE respetivamente) apresentaram menos cerca de 20% de humidade do que os grupos controlo do *frass*. Esta diminuição pode ocorrer devido à aeração causada pela movimentação das larvas. Não foi possível observar uma redução da matéria seca visto que a redução de humidade foi superior (Cheng *et al*., 2017).

Todos os grupos experimentais apresentaram valores de humidade inferiores ao reportados na literatura. Neste estudo o *frass* do GE, SE e BE tiveram 48.34±2.40, 43.86±3.58 e 48.08±4.08% de humidade, respetivamente. Lopes *et al*., (2020) obtiveram *frass* com teor de humidade de 70% após a bioconversão de resíduos de aquicultura e Guo *et al*. (2021)

reportaram que o *frass* continha um teor de humidade de 62%, ambos provavelmente inadequados para serem separados das larvas por peneiração devido ao alto teor de humidade.

A diminuição do teor de humidade dos substratos está relacionada com a diminuição dos odores ofensivos do estrume, assim como à facilidade de peneiração, etapa essencial de obtenção do *frass*. O ensaio com estrume de suíno teve a menor humidade e foi onde se observou uma redução mais acentuada do odor assim como a maior facilidade de peneiração. A redução do odor ocorre devido a uma redução de ácidos gordos voláteis e fenóis (Beskin *et al*., 2018; Miranda *et al*., 2019; Wang *et al*., 2021), sendo que Beskin *et al*. (2018) demonstraram uma redução de 100% dos ácidos gordos no estrume de suíno e bovino. A redução dos ácidos gordos voláteis está relacionada com a redução de humidade do substrato (Brinton, 1998). No que diz respeito à facilidade de peneiração, quando o teor de humidade é elevado, as partículas de resíduo tendem a agregar-se facilmente e aumentar de tamanho, dificultando a peneiração (Cheng *et al*., 2017).

Relativamente à qualidade do *frass*, o azoto presente no mesmo é um dos principais indicadores de qualidade (Liu *et al*., 2019). Neste estudo, não houve diferença significativa entre o composto digerido pelas larvas e o não digerido nos ensaios com estrume de frango e de suíno. No ensaio com estrume de bovino a percentagem de azoto em matéria seca foi superior no grupo experimental (BE), que continha as larvas, comparativamente às ao grupo de controlo do *frass* (BCE), sem larvas. Estes resultados não vão de acordo com a literatura. Rehman *et al*. (2017) descreveram uma diminuição eficiente do azoto em estrume de bovino. Para além disso Miranda et al. (2019) demonstraram valores de 4.8% em MS de N em estrume de aves. Liu *et al*., (2019) reportaram que o teor de N teve um pico antes de diminuir. Este autor também reportou que a diminuição do azoto está ligada ao crescimento e sobrevivência das BSFL fazendo uma passagem do substrato para as larvas. Como a compostagem no estrume de bovino é mais difícil devido ao teor de lenhina e celulose, este fator pode contribuir pelo atraso no desenvolvimento das larvas e por isso valores superiores de N.

No que diz respeito ao fósforo, foi possível observar que no ensaio com estrume de bovino o *frass* continha 1.624±0.120% de fósforo em MS, e o *frass* do ensaio com estrume de frango continha 1.712±0.032% em MS. Este valores diferem da literatura visto que Rehman *et al*., (2017) e Miranda *et al.*, (2019) reportaram valores na ordem de 0.7% em estrume de bovino e 2.4% em estrume de aves respetivamente. Também foi possível observar que nos ensaios com estrume de suíno e de bovino houve um aumento de cerca de 40% dos grupos experimentais

para os respetivos grupos controlo. Esta evolução foi também reportada por C. H. Lalander *et al.*, (2015), sendo que estes autores demonstraram um aumento de 31% da concentração de fósforo.

Os monogástricos e os ruminantes apresentam diferentes capacidades de retenção do fósforo. Esta diferença ocorre devido à ausência da enzima fitase no trato digestivo dos monogástricos. A fitase é responsável por degradar fitatos, nomeadamente ácido fítico que é o complexo orgânico para acumulação do fósforo na maior parte das plantas. Por este motivo em diversas dietas de monogástricos é acrescentada a fitase como aditivo alimentar de forma a disponibilizar o fósforo dos alimentos a estes animais (Campestrini *et al*., 2005). Não nos foi possível conhecer a composição das dietas dos animais que produziram os estrumes respetivos. No entanto, provavelmente os diferentes teores de fósforo nos diferentes estrumes, podem ter origem na fonte de fosforo das dietas destes animais. O estrume de frango apresenta a maior concentração de fósforo, provavelmente porque são os animais, dentro dos grupos estudados, com maior necessidade de suplementação deste mineral.

No que diz respeito ao potássio, no ensaio de frango não se observaram diferenças significativas entre o *frass* (GE) e o substrato não digerido (GCE). No entanto no ensaio com estrume de suíno e bovino foi possível observar um aumento do potássio nos grupos experimentais. Este aumento vai de acordo com Liu et al., (2019) quer demonstraram um aumento durante a bioconversão de estrumes. Este ocorre, possivelmente devido à diminuição do peso e degradação de matéria orgânica (T. Liu et al., 2019)**.**

No que diz respeito à comparação entre variáveis, a matéria orgânica inicial e o azoto do *frass* foram fatores influenciadores do peso e índice de bioconversão. Quanto maior a matéria orgânica inicial e o azoto do *frass*, menor o peso das larvas e por consequência o IBC. Estes resultados foram também descritos por Banks *et al*., (2014) que demonstraram que as larvas criadas em substratos com maior teor proteico se desenvolveram mais rápido mas apresentavam pesos finais menores. Este fenómeno ocorre porque as larvas acumulam a proteína necessária para o seu desenvolvimento com menor energia consumida, resultando em larvas de menor dimensão (Banks et al., 2014; C. Lalander et al., 2019).

Foi também possível confirmar que a presença de BSF diminui a prevalência de mosca doméstica. Verificou-se que nas unidades que continham larvas e pupas de mosca doméstica, após a biodigestão pelas larvas de BSF, houve uma eliminação da mosca doméstica em quase toda a sua totalidade (Figura 10). Enquanto no controlo de *frass*, em que não havia BSFL, as

larvas de mosca doméstica prevaleceram. Liu *et al*. (2008) e Makkar *et al*. (2014) também observaram este fenómeno em bioconversão de estrumes de aves e suinos respetivamente. Este processo reduz o número de larvas de mosca doméstica no ambiente em que a mosca soldado negra estiver inserida (Bondari & Sheppard, 1987; Makkar *et al*., 2014).

5.1.Limitações do ensaio

Os ensaios e os seus desenhos experimentais que decorreram no âmbito deste estudo tiveram algumas limitações, que não nos permitiram avançar nalgumas conclusões. Entre elas, podemos listar:

- Não foram pesadas as caixas no final do ensaio o que fez com que não fosse possível avaliar a perda de massa;

- Não foram calculados o carbono e a matéria orgânica final, fazendo com que não fosse possível calcular o a diminuição de matéria orgânica;

- Não foi possível manter as mesmas condições ambientais em todos os ensaios;

- Não nos foi possível conhecer as dietas fornecidas aos animais de onde foram recolhidos os efluentes;

- Não nos foi possível analisar todas as variáveis nos estrumes de origem.

Conclusão

No presente trabalho foi possível demonstrar que as larvas não só se adaptam bem em estrumes de espécies pecuárias, como ficaram como resultam em larvas de melhor qualidade quando cresceram nestes substratos. As larvas criadas em estrume de frango e de suíno apresentaram um índice de bioconversão superior aos respetivos controlos. Foi também possível observar que as larvas produzidas em estrume de suíno apresentaram um teor superior de proteína bruta e de gordura bruta em matéria seca superior ao respetivo controlo de larvas.

No que diz respeito à comparação entre os três tipos de estrume as larvas criadas num substrato com estrume de suíno apresentaram maior percentagem de gordura e proteína em matéria seca (17.31 e 48.11% respetivamente). No entanto as larvas resultantes do ensaio com estrume de frangos apresentavam um IBC superior (18.8%) ao obtido em estrume de suíno (16.2%). No que diz respeito à qualidade do *frass*, esta também foi superior ao substrato sem ação das larvas. Nos grupos experimentais (com larvas e estrume) o *frass* obtido apresentou uma diminuição da humidade comparativamente aos grupos de controlo do *frass* (apenas estrume sem larvas) e à humidade inicial. Esta diminuição de humidade resultou num composto sem odores nocivos e com um aspeto solto. No ensaio com estrume de suíno esta diminuição foi mais proeminente, visto que, foi onde se verificou a maior diminuição de humidade e por isso foi também o substrato com maior alteração de odor e textura, tornando-se solto e com um odor neutro. Estes fatores contribuem para uma facilidade na aplicação do *frass* no solo. No que diz respeito à composição centesimal, foi possível observar um aumento do azoto no *frass* dos ensaios com estrume de frango e bovino, assim como um aumento de fósforo e potássio em todos os grupos experimentais.

Foi ainda possível observar a diminuição da presença de larvas de mosca doméstica quando as BSFL estavam presentes. Assim foi possível confirmar que a bioconversão de estrumes com BSFL é uma alternativa benéfica para o seu tratamento visto que poderia oferecer uma solução para as desvantagens da compostagem tradicional e ainda fornecer uma alternativa para os combustíveis fosseis e plásticos.

Foi possível concluir que as larvas de BSF podem fornecer uma ferramenta importante para o tratamento e bioconversão de efluentes pecuários ao mesmo tempo que geram biomassa larvar de enorme valor biológico assim como um fertilizante orgânico de extrema qualidade, possível de retornar aos solos, fechando por completo um ciclo de produção, promovendo uma maior circularidade na produção pecuária.

Outras analises poderão ser executadas como complemento a este trabalho de forma a validar a utilização da biomassa larvar resultante da bioconversão de estrume, em alimentação animal de forma segura.

Referencias bibliográficas

Al-Qazzaz, M. F. A., Ismail, D., Akit, H., & Idris, L. H. (2016). Effect of using insect larvae meal as a complete protein source on quality and productivity characteristics of laying hens. *Revista Brasileira de Zootecnia*, *45*(9), 518–523. https://doi.org/10.1590/S1806-92902016000900003

AOAC. (2000). O*fficial methods of analysis Association of Official Analytical Chemists, International* (17th ed.). AOAC

Awasthi, M. K., Liu, T., Awasthi, S. K., Duan, Y., Pandey, A., & Zhang, Z. (2020). Manure pretreatments with black soldier fly Hermetia illucens L. (Diptera: Stratiomyidae): A study to reduce pathogen content. *Science of The Total Environment*, *737*, 139842. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139842

Banks, I. J., Gibson, W. T., & Cameron, M. M. (2014). Growth rates of black soldier fly larvae fed on fresh human faeces and their implication for improving sanitation. *Tropical Medicine and International Health*, *19*(1), 14–22. https://doi.org/10.1111/tmi.12228

Beesigamukama, D., Mochoge, B., Korir, N., Musyoka, M. W., Fiaboe, K. K. M., Nakimbugwe, D., Khamis, F. M., Subramanian, S., Dubois, T., Ekesi, S., & Tanga, C. M. (2020). Nitrogen fertilizer equivalence of black soldier fly *frass* fertilizer and synchrony of nitrogen mineralization for maize production. *Agronomy*, *10*(9), 1395. https://doi.org/10.3390/agronomy10091395

Bernet, N., & Béline, F. (2009). Challenges and innovations on biological treatment of livestock effluents. *Bioresource Technology*, *100*(22), 5431–5436. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.003

Beskin, K. V., Holcomb, C. D., Cammack, J. A., Crippen, T. L., Knap, A. H., Sweet, S. T., & Tomberlin, J. K. (2018). Larvar digestion of different manure types by the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) impacts associated volatile emissions. *Waste Management*, *74*, 213–220. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.01.019

Bondari, K., & Sheppard, D. C. (1987). Soldier fly, Hermetia illucens L., larvae as feed for channel catfish, Ictalurus punctatus (Rafinesque), and blue tilapia, Oreochromis aureus (Steindachner). *Aquaculture Research*, *18*(3), 209–220. https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.1987.tb00141.x

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

Brinton, W. F. (1998). Volatile organic acids in compost: Production and odorant aspects. *Compost Science and Utilization*, *6*(1), 75–82. https://doi.org/10.1080/1065657X.1998.10701912

Cai, M., Ma, S., Hu, R., Tomberlin, J. K., Yu, C., Huang, Y., Zhan, S., Li, W., Zheng, L., Yu, Z., & Zhang, J. (2018). Systematic characterization and proposed pathway of tetracycline degradation in solid waste treatment by Hermetia illucens with intestinal microbiota. *Environmental Pollution*, *242*, 634–642. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.06.105

Campestrini, E., Mozer da Silva, V. T., & Appelt, M. D. (2005). Utilização de enzimas na alimentação animal. *Revista Eletrônica Nutritime*, *2*(6), 259–272. http://nutritime.com.br/arquivos_internos/artigosBK/027V2N6P259_272_NOV2005.pdf

Cheng, J. Y. K., Chiu, S. L. H., & Lo, I. M. C. (2017). Effects of moisture content of food waste on residue separation, larvar growth and larvar survival in black soldier fly bioconversion. *Waste Management*, *67*, 315–323. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.05.046

Čičková, H., Newton, G. L., Lacy, R. C., & Kozánek, M. (2015). The use of fly larvae for organic waste treatment. *Waste Management*, *35*, 68–80. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.09.026

Čičková, H., Pastor, B., Kozánek, M., Martínez-Sánchez, A., Rojo, S., & Takáč, P. (2012). Biodegradation of pig manure by the housefly, musca domestica: A viable ecological strategy for pig manure management. *PLoS ONE*, *7*(3), e32798. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032798

Cohen, A. C. (2015). Insect Diets: Science and technology (2nd ed.). CRC Press.

Costa, J. M., Murta, D. de M., & Magalhães, T. O. N. L. de. (2018). Manual de boas práticas na produção, processamento e utilização de insetos na alimentação animal. Direção-Geral de Alimentação e Veterinária. https://docs.wixstatic.com/ugd/84b720_a27ee62e7fee4d43a2e1488e49c64bf1.pdf

Craig Sheppard, D., Larry Newton, G., Thompson, S. A., & Savage, S. (1994). A value added

manure management system using the black soldier fly. *Bioresource Technology*, *50*(3), 275–279. https://doi.org/10.1016/0960-8524(94)90102-3

da Silva, G. D. P. P., & Hesselberg, T. (2020). A review of the use of black soldier fly larvae, hermetia illucens (Diptera: Stratiomyidae), to compost organic waste in tropical regions. *Neotropical Entomology*, *49*(2), 151–162. https://doi.org/10.1007/s13744-019-00719-z

De Smet, J., Wynants, E., Cos, P., & Van Campenhout, L. (2018). Microbial community dynamics during rearing of black soldier fly larvae (Hermetia illucens) and impact on exploitation potential. *Applied and Environmental Microbiology*, *84*(9). https://doi.org/10.1128/AEM.02722-17

Diener, S., Studt Solano, N. M., Roa Gutiérrez, F., Zurbrügg, C., & Tockner, K. (2011). Biological treatment of municipal organic waste using black soldier fly larvae. *Waste and Biomass Valorization*, *2*(4), 357–363. https://doi.org/10.1007/s12649-011-9079-1

Diener, S., Zurbrugg, C., Roa Gutiérrez, F., Nguyen, H. D., Morel, A., Koottatep, T., & Tockner, K. (2011, 13 a 14 fevereiro). Black soldier fly larvae for organic waste treatment: prospects and constraints. M Alamgir, QH Bari, IM Rafizul, SMT Islam, G Sarkar & MK Howlader (Eds.), *Proceedings of the WasteSafe 2011 – 2 nd International Conference on Solid Waste Management in the Developing Countries 13-15 February 2011, Khulna, Bangladesh*. https://www.eawag.ch/fileadmin/Domain1/Abteilungen/sandec/publikationen/SWM/BSF/Black_soldier_fly_larvae_for_organic_waste_treatment.pdf

EFSA. (2015). Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. *EFSA Journal*, *13*(10), 4257. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4257

El-Dakar, M. A., Ramzy, R. R., Plath, M., & Ji, H. (2021). Evaluating the impact of bird manure vs. mammal manure on Hermetia illucens larvae. *Journal of Cleaner Production*, *278*, 123570. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.123570

Elsayed, M., Ran, Y., Ai, P., Azab, M., Mansour, A., Jin, K., Zhang, Y., & Abomohra, A. E. F. (2020). Innovative integrated approach of biofuel production from agricultural wastes by anaerobic digestion and black soldier fly larvae. *Journal of Cleaner Production*, *263*. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121495

Erickson, M. C., Islam, M., Sheppard, C., Liao, J., & Doyle, M. P. (2004). Reduction of

Escherichia coli O157:H7 and Salmonella enterica serovar enteritidis in chicken manure by larvae of the black soldier fly. *Journal of Food Protection*, *67*(4), 685–690. https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.4.685

Fernandes, F., & Silva, S. M. C. P. da. (1999). *Manual prático para a compostagem*. http://www.finep.gov.br/images/apoio-e-financiamento/historico-de-programas/prosab/Livro_Compostagem.pdf

Food and Argriculture Organization of the United Nations. (2013). Edible insects. Future prospects for food and feed security. In *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (Vol. 171).

Furman, D. P., Young, R. D., & Catts, P. E. (1959). Hermetia illucens (Linnaeus) as a Factor in the Natural Control of Musca domestica Linnaeus. *Journal of Economic Entomology*, *52*(5), 917–921. https://doi.org/10.1093/jee/52.5.917

Gold, M., Tomberlin, J. K., Diener, S., Zurbrügg, C., & Mathys, A. (2018). Decomposition of biowaste macronutrients, microbes, and chemicals in black soldier fly larvar treatment: A review. *Waste Management*, *82*, 302–318. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.10.022

Gray, V. (2019). *Black soldier fly products: generic description and analysis of the production process for chitosan, proteins and lipid from black soldier fly larvae*. Smashwords Editions

Grossi, G., Goglio, P., Vitali, A., & Williams, A. G. (2019). Livestock and climate change: impact of livestock on climate and mitigation strategies. *Animal Frontiers*, *9*(1), 69–76. https://doi.org/10.1093/af/vfy034

Guo, H., Jiang, C., Zhang, Z., Lu, W., & Wang, H. (2021). Material flow analysis and life cycle assessment of food waste bioconversion by black soldier fly larvae (Hermetia illucens L.). *Science of the Total Environment*, *750*, 141656. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141656

Hardouin, J., & Mahoux, G. (2004). Zootechnie d'insectes. Elevage et utilisation au bénéfice de l'homme et de certains animaux. *Tropicultura*, *22*, 95–96. http://www.bib.fsagx.ac.be/bedim/production/

Harnden, L. M., & Tomberlin, J. K. (2016). Effects of temperature and diet on black soldier fly, Hermetia illucens (L.) (Diptera: Stratiomyidae), development. *Forensic Science*

International, *266*, 109–116. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.05.007

Kim, W., Bae, S., Park, K., Lee, S., Choi, Y., Han, S., & Koh, Y. (2011). Biochemical characterization of digestive enzymes in the black soldier fly, Hermetia illucens (Diptera: Stratiomyidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, *14*(1), 11–14. https://doi.org/10.1016/j.aspen.2010.11.003

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*, 1578. https://doi.org/10.3390/agronomy10101578

Lalander, C., Diener, S., Zurbrügg, C., & Vinnerås, B. (2019). Effects of feedstock on larvar development and process efficiency in waste treatment with black soldier fly (Hermetia illucens). *Journal of Cleaner Production*, *208*, 211–219. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.10.017

Lalander, C. H., Fidjeland, J., Diener, S., Eriksson, S., & Vinnerås, B. (2015). High waste-to-biomass conversion and efficient Salmonella spp. reduction using black soldier fly for waste recycling. *Agronomy for Sustainable Development*, *35*(1), 261–271. https://doi.org/10.1007/s13593-014-0235-4

Lalander, C., Senecal, J., Gros Calvo, M., Ahrens, L., Josefsson, S., Wiberg, K., & Vinnerås, B. (2016). Fate of pharmaceuticals and pesticides in fly larvae composting. *Science of the Total Environment*, *565*, 279–286. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.04.147

Lalander, Cecilia, Diener, S., Magri, M. E., Zurbrügg, C., Lindström, A., & Vinnerås, B. (2013). Faecal sludge management with the larvae of the black soldier fly (Hermetia illucens): From a hygiene aspect. *Science of the Total Environment*, *458–460*, 312–318. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.033

Lalander, Cecilia, Nordberg, Å., & Vinnerås, B. (2018). A comparison in product-value potential in four treatment strategies for food waste and faeces: assessing composting, fly larvae composting and anaerobic digestion. *GCB Bioenergy*, *10*(2), 84–91. https://doi.org/10.1111/gcbb.12470

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*(4), 1545–1548. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2010.11.016

Li, Q., Zheng, L., Qiu, N., Cai, H., Tomberlin, J. K., & Yu, Z. (2011). Bioconversion of dairy manure by black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) for biodiesel and sugar production. *Waste Management*, *31*(6), 1316–1320. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.01.005

Lima Salomão, F., Dayani Farias, S., & Maria Couto Esturaro, L. (2018). Tratamento do resíduo ruminal bovino por processo de compostagem convencional. *Colloquium Exactarum*, *10*(4), 70–76. https://doi.org/10.5747/ce.2018.v10.n4.e258

Liu, C., Wang, C., & Yao, H. (2019). Comprehensive resource utilization of waste using the black soldier fly (Hermetia illucens (L.) (diptera: Stratiomyidae). *Animals*, *9*(6). https://doi.org/10.3390/ani9060349

Liu, Q., Tomberlin, J. K., Brady, J. A., Sanford, M. R., & Yu, Z. (2008). Black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae reduce Escherichia coli in dairy manure. *Environmental Entomology*, *37*(6), 1525–1530. https://doi.org/10.1603/0046-225X-37.6.1525

Liu, T., Awasthi, M. K., Chen, H., Duan, Y., Awasthi, S. K., & Zhang, Z. (2019). Performance of black soldier fly larvae (Diptera: Stratiomyidae) for manure composting and production of cleaner compost. *Journal of Environmental Management*, *251*, 109593. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109593

Lopes, I. G., Lalander, C., Vidotti, R. M., & Vinnerås, B. (2020). Using Hermetia illucens larvae to process biowaste from aquaculture production. *Journal of Cleaner Production*, *251*, 119753. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.119753

Lopes, I. G., Yong, J. W., & Lalander, C. (2022). *Frass* derived from black soldier fly larvae treatment of biodegradable wastes. A critical review and future perspectives. *Waste Management*, *142*, 65–76. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2022.02.007

Machado, M. A. A. S. (2019). *Utilização de larvas de mosca-soldado-negra (Hermetia illucens (L. 1758)) como substituto parcial da soja em regimes alimentares para frangos de carne* [Dissertação de mestrado, Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa]. Repositório do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa. http://hdl.handle.net/10400.5/18347

Majeti, N. ., & Kumar, R. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*, *46*(1), 1–27. https://doi.org/10.1016/S1381-5148(00)00038-9

Makkar, H. P. S., Tran, G., Heuzé, V., & Ankers, P. (2014). State-of-the-art on use of insects

as animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, *197*, 1–33. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008

Marôco, J. (2018). *Análise estatística com o SPSS Statistics* (7ª edição). ReportNumber

Menino, R., Felizes, F., Castelo-Branco, M. A., Fareleira, P., Moreira, O., Nunes, R., & Murta, D. (2021). Agricultural value of Black Soldier Fly larvae *frass* as organic fertilizer on ryegrass. *Heliyon*, *7*(1), e05855. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05855

Mertenat, A., Diener, S., & Zurbrügg, C. (2019). Black Soldier Fly biowaste treatment – Assessment of global warming potential. *Waste Management*, *84*, 173–181. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.11.040

Miranda, C. D., Cammack, J. A., & Tomberlin, J. K. (2019). Life-history traits of the black soldier fly, hermetia illucens (L.) (diptera: Stratiomyidae), reared on three manure types. *Animals*, *9*(5). https://doi.org/10.3390/ani9050281

Miranda, C. D., Cammack, J. A., & Tomberlin, J. K. (2020). Mass production of the black soldier fly, hermetia illucens (L.), (diptera: Stratiomyidae) reared on three manure types. *Animals*, *10*(7), 1–11. https://doi.org/10.3390/ani10071243

Myers, H. M., Tomberlin, J. K., Lambert, B. D., & Kattes, D. (2008). Development of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae fed dairy manure. *Environmental Entomology*, *37*(1), 11–15. https://doi.org/10.1603/0046-225X(2008)37[11:DOBSFD]2.0.CO;2

Newton, L., Sheppard, C., Watson, D. W., Burtle, G., Craig, S., Wes D, W., Gary, B., & Robert, D. (2005). Using the black soldier fly, Hermetia illucens, as a value-added tool for the management of swine manure. https://p2infohouse.org/ref/37/36122.pdf

Oliveira, V., de Oliveira, R., Amorim, M., Domingues, I., & Soares, A. (2009). Os medicamentos veterinários no meio ambiente: aplicações e implicações. *Revista Captar: Ciência e Ambiente Para Todos*, *1*(2), 183–192. https://doi.org/10.34624/CAPTAR.V1I2.14623

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. *Journal of Environmental Management*, *260*, 110066. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110066

Park, S.-I. I., Kim, J.-W. W., & Yoe, S. M. (2015). Purification and characterization of a novel antibacterial peptide from black soldier fly (Hermetia illucens) larvae. *Developmental and Comparative Immunology*, *52*(1), 98–106. https://doi.org/10.1016/j.dci.2015.04.018

Park, S. I., Chang, B. S., & Yoe, S. M. (2014). Detection of antimicrobial substances from larvae of the black soldier fly, Hermetia illucens (Diptera: Stratiomyidae). *Entomological Research*, *44*(2), 58–64. https://doi.org/10.1111/1748-5967.12050

Purschke, B., Scheibelberger, R., Axmann, S., Adler, A., & Jäger, H. (2017). Impact of substrate contamination with mycotoxins, heavy metals and pesticides on the growth performance and composition of black soldier fly larvae (Hermetia illucens) for use in the feed and food value chain. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, *34*(8), 1410–1420. https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1299946

Quilliam, R. S., Nuku-Adeku, C., Maquart, P., Little, D., Newton, R., & Murray, F. (2020). Integrating insect *frass* biofertilisers into sustainable peri-urban agro-food systems. *Journal of Insects as Food and Feed*, *6*(3), 315–322. https://doi.org/10.3920/JIFF2019.0049

Raksasat, R., Lim, J. W., Kiatkittipong, W., Kiatkittipong, K., Ho, Y. C., Lam, M. K., Font-Palma, C., Mohd Zaid, H. F., & Cheng, C. K. (2020). A review of organic waste enrichment for inducing palatability of black soldier fly larvae: Wastes to valuable resources. *Environmental Pollution*, 267, 15488. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115488

Rehman, K. ur, Rehman, A., Cai, M., Zheng, L., Xiao, X., Somroo, A. A., Wang, H., Li, W., Yu, Z., & 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. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.04.019

Rehman, K. ur, Ur Rehman, R., Somroo, A. A., Cai, M., Zheng, L., Xiao, X., Ur Rehman, A., Rehman, A., Tomberlin, J. K., Yu, Z., & Zhang, J. (2019). Enhanced bioconversion of dairy and chicken manure by the interaction of exogenous bacteria and black soldier fly larvae. *Journal of Environmental Management*, *237*, 75–83. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.02.048

Rockström, J., Steffen, W., Noone, K., Persson, Å., Chapin, F. S., Lambin, E. F., Lenton, T.

M., Scheffer, M., Folke, C., Schellnhuber, H. J., Nykvist, B., De Wit, C. A., Hughes, T., Van Der Leeuw, S., Rodhe, H., Sörlin, S., Snyder, P. K., Costanza, R., Svedin, U., … Foley, J. A. (2009). A safe operating space for humanity. *Nature*, *461*(7263), 472–475. https://doi.org/10.1038/461472a

Rozkošný, R. (1982). A Biosystematic study of the European Stratyomyidae (Diptera). (Vol. 2). W. Junk. https://link.springer.com/book/9789061931355

Diener, S., Zurbrügg, C., & Tockner, K. (2009). Conversion of organic material by black soldier fly larvae: Establishing optimal feeding rates. *Waste Management and Research*, *27*(6), 603–610. https://doi.org/10.1177/0734242X09103838

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. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.06.154

Singh, A., & Kumari, K. (2019). An inclusive approach for organic waste treatment and valorisation using black soldier fly larvae: A review. *Journal of Environmental Management*, *251*, 109569. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109569

Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M., & Haan, C. de. (2006). *Livestock's long shadow: Environmental issues and options*. Livestock, Environment an Developmnet. https://www.fao.org/3/a0701e/a0701e.pdf

Surendra, K. C., Olivier, R., Tomberlin, J. K., Jha, R., & Khanal, S. K. (2016). Bioconversion of organic wastes into biodiesel and animal feed via insect farming. *Renewable Energy*, *98*, 197–202. https://doi.org/10.1016/j.renene.2016.03.022

Tomberlin, J. K., Adler, P. H., & Myers, H. M. (2009). Development of the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) in relation to temperature. *Environmental Entomology*, *38*(3), 930–934. https://doi.org/10.1603/022.038.0347

Tomberlin, J. K., & Sheppard, D. C. (2001). Lekking behavior of the black soldier fly (diptera: stratiomyidae). *The Florida Entomologist*, *84*(4), 729. https://doi.org/10.2307/3496413

Tomberlin, J. K., & Sheppard, D. C. (2002). Factors influencing mating and oviposition of black soldier flies (Diptera: Stratiomyidae) in a colony. *Journal of Entomological Science*, *37*(4), 345–352. https://doi.org/10.18474/0749-8004-37.4.345

Tomberlin, J. K., Sheppard, D. C., & Joyce, J. A. (2002). Selected life-history traits of black soldier flies (Diptera: Stratiomyidae) reared on three artificial diets. *Annals of the Entomological Society of America*, *95*(3), 379–386. https://doi.org/10.1603/0013-8746(2002)095[0379:SLHTOB]2.0.CO;2

Ushakova, N. A., Bastrakov, A. I., Karagodin, V. P., & Pavlov, D. S. (2018). Specific features of organic waste bioconversion by Hermetia illucens Fly Larvae (Diptera: Stratiomyidae, Linnaeus, 1758). *Biology Bulletin Reviews*, *8*(6), 533–541. https://doi.org/10.1134/s2079086418060117

van Huis, A. (2013). Potential of insects as food and feed in assuring food security. *Annual Review of Entomology*, *58*(1), 563–583. https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153704

Wang, Q., Ren, X., Sun, Y., Zhao, J., Awasthi, M. K., Liu, T., Li, R., & Zhang, Z. (2021). Improvement of the composition and humification of different animal manures by black soldier fly bioconversion. *Journal of Cleaner Production*, *278*, 123397. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.123397

Wang, X., Wang, W., Gao, Q., Wang, X., Lei, C., & Zhu, F. (2018). Chrysomya megacephala larvae feeding favourably influences manure microbiome, heavy metal stability and greenhouse gas emissions. *Microbial Biotechnology*, *11*(3), 498–509. https://doi.org/10.1111/1751-7915.13253

Westerman, P. W., & Bicudo, J. R. (2005). Management considerations for organic waste use in agriculture. *Bioresource Technology*, *96*(2), 215–221. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.05.011

Win, S. S., Ebner, J. H., Brownell, S. A., Pagano, S. S., Cruz-Diloné, P., & Trabold, T. A. (2018). Anaerobic digestion of black solider fly larvae (BSFL) biomass as part of an integrated biorefinery. *Renewable Energy*, *127*, 705–712. https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.04.093

Wong, A. C. N., Vanhove, A. S., & Watnick, P. I. (2016). The interplay between intestinal bacteria and host metabolism in health and disease: Lessons from *Drosophila melanogaster*. *Disease Models & Mechanisms*, *9*(3), 271–281. https://doi.org/10.1242/dmm.023408

Xiao, X., Mazza, L., Yu, Y., Cai, M., Zheng, L., Tomberlin, J. K., Yu, J., van Huis, A., Yu, Z., Fasulo, S., & Zhang, J. (2018). Efficient co-conversion process of chicken manure into protein feed and organic fertilizer by Hermetia illucens L. (Diptera: Stratiomyidae) larvae and functional bacteria. *Journal of Environmental Management*, *217*, 668–676. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.03.122

Zheng, L., Li, Q., Zhang, J., & Yu, Z. (2012). 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. https://doi.org/10.1016/j.renene.2011.10.004

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. https://doi.org/10.26403/detritus/2018.22

Apêndices

Apêndice I – Poster apresentado no congresso da EAAP 2021



Apêndice II – Análise estatística

Tabela 11 – Teste Friedman e Wilcoxon para avaliar a diferença estatística dos diferentes momentos de medição de temperatura nos vários grupos nos diferentes animais

Estatísticas de teste[a]

Experimental	Galinha	N	5
		Qui-quadrado	9,960
		df	3
		Significância Sig.	,019
	Bovino	N	5
		Qui-quadrado	13,560
		df	3
		Significância Sig.	,004
	Suino	N	5
		Qui-quadrado	14,040
		df	3
		Significância Sig.	,003
Controlo larvas	Galinha	N	5
		Qui-quadrado	13,776
		df	3
		Significância Sig.	,003
	Bovino	N	5
		Qui-quadrado	12,600
		df	3
		Significância Sig.	,006
	Suino	N	5
		Qui-quadrado	14,040
		df	3
		Significância Sig.	,003
Controlo frass	Galinha	N	2
		Qui-quadrado	2,053
		df	3
		Significância Sig.	,562
	Bovino	N	5
		Qui-quadrado	10,920
		df	3
		Significância Sig.	,012
	Suino	N	5
		Qui-quadrado	13,653
		df	3
		Significância Sig.	,003

a. Teste Friedman

Estatísticas de teste[a]

Grupo	Animal		Tempdia8_frass - Tempdia4_frass	Tempdia11_frass - Tempdia8_frass	Tempdia14_frass - Tempdia11_frass
Experimental	Galinha	Z	-2,023[b]	-,674[b]	-,405[c]
		Significância Sig. (2 extremidades)	,043	,500	,686
	Bovino	Z	-2,023[b]	-2,023[b]	-,674[c]
		Significância Sig. (2 extremidades)	,043	,043	,500
	Suino	Z	-2,023[c]	-2,023[b]	-1,753[b]
		Significância Sig. (2 extremidades)	,043	,043	,080
Controlo larvas	Galinha	Z	-1,826[c]	-2,023[b]	-1,214[b]
		Significância Sig. (2 extremidades)	,068	,043	,225
	Bovino	Z	-1,761[b]	-2,032[b]	-,813[b]
		Significância Sig. (2 extremidades)	,078	,042	,416
	Suino	Z	-2,023[b]	-2,023[b]	-1,483[b]
		Significância Sig. (2 extremidades)	,043	,043	,138
Controlo frass	Galinha	Z	-,447[c]	-,447[c]	-1,000[b]
		Significância Sig. (2 extremidades)	,655	,655	,317
	Bovino	Z	-,674[c]	-2,023[b]	-1,483[c]
		Significância Sig. (2 extremidades)	,500	,043	,138
	Suino	Z	-2,023[c]	-1,826[b]	-1,483[b]
		Significância Sig. (2 extremidades)	,043	,068	,138

a. Teste de Classificações Assinadas por Wilcoxon

b. Com base em postos positivos.

c. Com base em postos negativos.

Tabela 12 - Teste Mann-Whitney para avaliar a diferença estatística da temperatura entre os grupos controlo das larvas e experimental nos diferentes animais

Estatísticas de teste[a]

Animal		Tempdia4_frass	Tempdia8_frass	Tempdia11_frass	Tempdia14_frass
Galinha	U de Mann-Whitney	,000	,000	4,000	9,500
	Wilcoxon W	15,000	15,000	19,000	24,500
	Z	-2,619	-2,619	-1,781	-,636
	Significância Sig. (2 extremidades)	,009	,009	,075	,525
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,008[b]	,008[b]	,095[b]	,548[b]
Bovino	U de Mann-Whitney	,000	,000	5,000	11,500
	Wilcoxon W	15,000	15,000	20,000	26,500
	Z	-2,619	-2,611	-1,571	-,210
	Significância Sig. (2 extremidades)	,009	,009	,116	,834
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,008[b]	,008[b]	,151[b]	,841[b]
Suino	U de Mann-Whitney	,000	1,500	4,000	6,000
	Wilcoxon W	15,000	16,500	19,000	21,000
	Z	-2,611	-2,305	-1,776	-1,366
	Significância Sig. (2 extremidades)	,009	,021	,076	,172
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,008[b]	,016[b]	,095[b]	,222[b]

a. Variável de Agrupamento: Grupo

b. Não corrigido para vínculos.

Tabela 13 - Teste Mann-Whitney para avaliar a diferença estatística da temperatura entre o grupos controlo do frass e experimental nos diferentes animais

Estatísticas de teste[a]

Animal		Tempdia4_frass	Tempdia8_frass	Tempdia11_frass	Tempdia14_frass
Galinha	U de Mann-Whitney	,000	4,000	3,000	2,500
	Wilcoxon W	3,000	7,000	18,000	5,500
	Z	-1,936	-,402	-,782	-,986
	Significância Sig. (2 extremidades)	,053	,688	,434	,324
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,095[b]	,857[b]	,571[b]	,381[b]
Bovino	U de Mann-Whitney	,000	4,000	12,000	6,500
	Wilcoxon W	15,000	19,000	27,000	21,500
	Z	-2,611	-1,776	-,108	-1,257
	Significância Sig. (2 extremidades)	,009	,076	,914	,209
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,008[b]	,095[b]	1,000[b]	,222[b]
Suino	U de Mann-Whitney	,000	,500	4,000	,000
	Wilcoxon W	15,000	15,500	19,000	15,000
	Z	-2,619	-2,522	-1,776	-2,611
	Significância Sig. (2 extremidades)	,009	,012	,076	,009
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,008[b]	,008[b]	,095[b]	,008[b]

a. Variável de Agrupamento: Grupo

b. Não corrigido para vínculos.

Tabela 14 – Teste Friedman e Wilcoxon para avaliar a diferença estatística dos diferentes momentos de medição do peso nos vários grupos nos diferentes animais

Estatísticas de teste[a]

Experimental	Galinha	N	5
		Qui-quadrado	12,840
		df	3
		Significância Sig.	,005
	Bovino	N	5
		Qui-quadrado	12,120
		df	3
		Significância Sig.	,007
	Suino	N	5
		Qui-quadrado	14,040
		df	3
		Significância Sig.	,003
Controlo larvas	Galinha	N	5
		Qui-quadrado	14,040
		df	3
		Significância Sig.	,003
	Bovino	N	5
		Qui-quadrado	10,680
		df	3
		Significância Sig.	,014
	Suino	N	5
		Qui-quadrado	7,800
		df	3
		Significância Sig.	,050

a. Teste Friedman

Estatísticas de teste[a]

Grupo	Animal		PESOdia4 - PESOdia8	PESOdia11 - PESOdia8	PESOdia14 - PESOdia11
Experimental	Galinha	Z	-2,023[b]	-1,483[b]	-1,214[b]
		Significância Sig. (2 extremidades)	,043	,138	,225
	Bovino	Z	-2,023[b]	-1,214[b]	-1,483[b]
		Significância Sig. (2 extremidades)	,043	,225	,138
	Suino	Z	-2,023[b]	-2,023[b]	-2,023[b]
		Significância Sig. (2 extremidades)	,043	,043	,043
Controlo larvas	Galinha	Z	-2,023[b]	-1,214[b]	-2,023[b]
		Significância Sig. (2 extremidades)	,043	,225	,043
	Bovino	Z	-2,023[b]	-2,023[b]	-1,753[b]
		Significância Sig. (2 extremidades)	,043	,043	,080
	Suino	Z	-,405[b]	-2,023[b]	-1,214[b]
		Significância Sig. (2 extremidades)	,686	,043	,225

a. Teste de Classificações Assinadas por Wilcoxon

b. Com base em postos positivos.

Tabela 15 - Teste Kruskal Wallis para avaliar a diferença estatística das variáveis do frass entre animais nos diferentes grupos

Estatísticas de teste[a,b]

Grupo		MS_frass	HT_frass	Cinzas_frass	N_frass	PB_frass	P_frass	K_frass	Zn_frass	Tempdia4_frass	Tempdia8_frass	Tempdia11_frass	Tempdia14_frass
Experimental	H de Kruskal-Wallis	3,283	3,283	12,500	12,500	12,020	10,500	12,500	12,500	5,004	12,042	10,312	11,416
	df	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	Significância Sig.	,194	,194	,002	,002	,002	,005	,002	,002	,082	,002	,006	,003
Controlo larvas	H de Kruskal-Wallis									12,545	3,101	9,051	9,680
	df									2	2	2	2
	Significância Sig.									,002	,212	,011	,008
Controlo frass	H de Kruskal-Wallis	8,077	8,077	9,423	7,462	7,462	4,808	6,838	9,423	2,436	8,592	9,456	8,131
	df	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	Significância Sig.	,018	,018	,009	,024	,024	,090	,033	,009	,296	,014	,009	,017

a. Teste Kruskal Wallis

b. Variável de Agrupamento: Animal

Tabela 16 - Teste Mann-Whitney para avaliar a diferença estatística das variáveis do frass entre os ensaios de frango e bovino nos diferentes grupos

Estatísticas de teste[a]

Grupo		MS_frass	HT_frass	Cinzas_frass	N_frass	PB_frass	P_frass	K_frass	Zn_frass	Tempdia4_frass	Tempdia8_frass	Tempdia11_frass	Tempdia14_frass
Experimental	U de Mann-Whitney	10,000	10,000	,000	,000	,000	5,000	,000	,000	5,500	1,000	6,000	2,500
	Wilcoxon W	25,000	25,000	15,000	15,000	15,000	20,000	15,000	15,000	20,500	16,000	21,000	17,500
	Z	-,522	-,522	-2,611	-2,611	-2,611	-1,567	-2,611	-2,611	-1,467	-2,410	-1,379	-2,102
	Significância Sig. (2 extremidades)	,602	,602	,009	,009	,009	,117	,009	,009	,142	,016	,168	,036
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,690[b]	,690[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,151[b]	,008[b]	,008[b]	,151[b]	,016[b]	,222[b]	,032[b]
Controlo larvas	U de Mann-Whitney									,000	4,000	4,000	5,000
	Wilcoxon W									15,000	19,000	19,000	20,000
	Z									-2,627	-1,776	-1,776	-1,571
	Significância Sig. (2 extremidades)									,009	,076	,076	,116
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]									,008[b]	,095[b]	,095[b]	,151[b]
Controlo frass	U de Mann-Whitney	5,000	5,000	,000	3,000	3,000	,000	,000	,000	2,000	2,000	,000	4,000
	Wilcoxon W	20,000	20,000	15,000	6,000	6,000	15,000	15,000	15,000	5,000	5,000	15,000	7,000
	Z	,000	,000	-1,936	-,775	-,775	-1,936	-1,936	-1,936	-1,162	-1,162	-1,954	-,387
	Significância Sig. (2 extremidades)	1,000	1,000	,053	,439	,439	,053	,053	,053	,245	,245	,051	,699
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	1,000[b]	1,000[b]	,095[b]	,571[b]	,571[b]	,095[b]	,095[b]	,095[b]	,381[b]	,381[b]	,095[b]	,857[b]

a. Variável de Agrupamento: Animal

b. Não corrigido para vínculos.

Tabela 17 - Teste Mann-Whitney para avaliar a diferença estatística das variáveis do frass entre os ensaios de frango e suíno nos diferentes grupos

Estatísticas de teste[a]

Grupo		MS_frass	HT_frass	Cinzas_frass	N_frass	PB_frass	P_frass	K_frass	Zn_frass	Tempdia4_frass	Tempdia8_frass	Tempdia11_frass	Tempdia14_frass
Experimental	U de Mann-Whitney	4,000	4,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	3,000	,000	,000	,000
	Wilcoxon W	19,000	19,000	15,000	15,000	15,000	15,000	15,000	15,000	18,000	15,000	15,000	15,000
	Z	-1,781	-1,781	-2,611	-2,611	-2,611	-2,611	-2,611	-2,611	-1,984	-2,619	-2,619	-2,619
	Significância Sig. (2 extremidades)	,075	,075	,009	,009	,009	,009	,009	,009	,047	,009	,009	,009
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,095[b]	,095[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,056[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]
Controlo larvas	U de Mann-Whitney									,000	7,500	3,500	1,500
	Wilcoxon W									15,000	22,500	18,500	16,500
	Z									-2,619	-1,048	-1,886	-2,305
	Significância Sig. (2 extremidades)									,009	,295	,059	,021
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]									,008[b]	,310[b]	,056[b]	,016[b]
Controlo frass	U de Mann-Whitney	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	1,000	,000	,000	,000
	Wilcoxon W	15,000	3,000	15,000	3,000	3,000	15,000	15,000	15,000	4,000	3,000	3,000	3,000
	Z	-1,936	-1,936	-1,936	-1,936	-1,936	-1,936	-1,936	-1,936	-1,563	-1,954	-1,936	-1,936
	Significância Sig. (2 extremidades)	,053	,053	,053	,053	,053	,053	,053	,053	,118	,051	,053	,053
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,095[b]	,095[b]	,095[b]	,095[b]	,095[b]	,095[b]	,095[b]	,095[b]	,190[b]	,095[b]	,095[b]	,095[b]

a. Variável de Agrupamento: Animal

b. Não corrigido para vínculos.

Tabela 18 - Teste Mann-Whitney para avaliar a diferença estatística das variáveis do frass entre os ensaios de suíno e bovino nos diferentes grupos

Estatísticas de teste[a]

Grupo		MS_frass	HT_frass	Cinzas_frass	N_frass	PB_frass	P_frass	K_frass	Zn_frass	Tempdia4_frass	Tempdia8_frass	Tempdia11_frass	Tempdia14_frass
Experimental	U de Mann-Whitney	7,000	7,000	,000	,000	1,000	,000	,000	,000	7,000	,000	,000	,000
	Wilcoxon W	22,000	22,000	15,000	15,000	16,000	15,000	15,000	15,000	22,000	15,000	15,000	15,000
	Z	-1,163	-1,163	-2,611	-2,611	-2,402	-2,611	-2,611	-2,611	-1,149	-2,611	-2,619	-2,611
	Significância Sig. (2 extremidades)	,245	,245	,009	,009	,016	,009	,009	,009	,251	,009	,009	,009
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,310[b]	,310[b]	,008[b]	,008[b]	,016[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,310[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]
Controlo larvas	U de Mann-Whitney									,000	10,000	,000	,000
	Wilcoxon W									15,000	25,000	15,000	15,000
	Z									-2,619	-,522	-2,611	-2,619
	Significância Sig. (2 extremidades)									,009	,602	,009	,009
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]									,008[b]	,690[b]	,008[b]	,008[b]
Controlo frass	U de Mann-Whitney	,000	,000	,000	1,000	1,000	10,000	4,000	,000	10,000	,000	,000	,000
	Wilcoxon W	15,000	15,000	15,000	16,000	16,000	25,000	19,000	15,000	25,000	15,000	15,000	15,000
	Z	-2,611	-2,611	-2,611	-2,402	-2,402	-,522	-1,776	-2,611	-,532	-2,619	-2,619	-2,611
	Significância Sig. (2 extremidades)	,009	,009	,009	,016	,016	,602	,076	,009	,595	,009	,009	,009
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,016[b]	,016[b]	,690[b]	,095[b]	,008[b]	,690[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]

a. Variável de Agrupamento: Animal

b. Não corrigido para vínculos.

Tabela 19 - Teste Mann-Whitney para avaliar a diferença estatística das variáveis do frass entre o grupos controlo do frass e experimental nos diferentes animais

Estatísticas de teste[a]

Animal		MS_frass	HT_frass	Cinzas_frass	N_frass	PB_frass	P_frass	K_frass	Cu_frass	Zn_frass
Galinha	U de Mann-Whitney	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000
	Wilcoxon W	3,000	15,000	3,000	15,000	15,000	3,000	3,000	3,000	3,000
	Z	-1,936	-1,936	-1,936	-1,936	-1,936	-1,936	-1,936	-1,936	-1,936
	Significância Sig. (2 extremidades)	,053	,053	,053	,053	,053	,053	,053	,053	,053
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,095[b]	,095[b]	,095[b]	,095[b]	,095[b]	,095[b]	,095[b]	,095[b]	,095[b]
Bovino	U de Mann-Whitney	2,000	2,000	3,000	,000	,000	,000	,000		,000
	Wilcoxon W	17,000	17,000	18,000	15,000	15,000	15,000	15,000		15,000
	Z	-2,193	-2,193	-1,984	-2,611	-2,611	-2,611	-2,611		-2,611
	Significância Sig. (2 extremidades)	,028	,028	,047	,009	,009	,009	,009		,009
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,032[b]	,032[b]	,056[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]		,008[b]
Suino	U de Mann-Whitney	,000	,000	,000	5,000	5,000	,000	,000		,000
	Wilcoxon W	15,000	15,000	15,000	20,000	20,000	15,000	15,000		15,000
	Z	-2,619	-2,619	-2,611	-1,567	-1,567	-2,611	-2,611		-2,611
	Significância Sig. (2 extremidades)	,009	,009	,009	,117	,117	,009	,009		,009
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,151[b]	,151[b]	,008[b]	,008[b]		,008[b]

a. Variável de Agrupamento: Grupo

b. Não corrigido para vínculos.

Tabela 20 - Teste Kruskal Wallis para avaliar a diferença estatística das variáveis das larvas entre animais

Estatísticas de teste[a,b]

Grupo		MS_larvas	HT_larvas	Cinzas_larvas	N_larvas	PB_larvas	GB_larvas	FB_larvas	PESOfinal_larvas	Taxa_bioconversão_total	Taxa_bioconversão_MS	PESOdia4	PESOdia8	PESOdia11	PESOdia14
Experimental	H de Kruskal-Wallis	8,520	8,520	12,500	10,500	10,500	12,020	7,460	11,260	11,601	8,780	8,074	5,790	5,840	10,640
	df	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	Significância Sig.	,014	,014	,002	,005	,005	,002	,024	,004	,003	,012	,018	,055	,054	,005
Controlo larvas	H de Kruskal-Wallis	10,693	10,693	9,380	11,580	11,580	10,500	9,980	5,797	6,059	10,500	5,840	12,500	12,500	12,500
	df	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	Significância Sig.	,005	,005	,009	,003	,003	,005	,007	,055	,048	,005	,054	,002	,002	,002

a. Teste Kruskal Wallis

b. Variável de Agrupamento: Animal

Tabela 21 - Teste Mann-Whitney para avaliar a diferença estatística das variáveis das larvas entre os ensaios de frango e bovino nos diferentes grupos

Estatísticas de teste[a]

Grupo		MS_larvas	HT_larvas	Cinzas_larvas	N_larvas	PB_larvas	GB_larvas	FB_larvas	PESOfinal_larvas	Taxa_bioconversão_total	Taxa_bioconversão_MS	PESOdia4	PESOdia8	PESOdia11	PESOdia14
Experimental	U de Mann-Whitney	2,500	2,500	,000	5,000	5,000	1,000	7,000	,000	,000	2,000	3,000	8,000	9,000	3,000
	Wilcoxon W	17,500	17,500	15,000	20,000	20,000	16,000	22,000	15,000	15,000	17,000	18,000	23,000	24,000	18,000
	Z	-2,095	-2,095	-2,611	-1,567	-1,567	-2,402	-1,149	-2,627	-2,619	-2,193	-1,991	-,940	-,731	-1,984
	Significância Sig. (2 extremidades)	,036	,036	,009	,117	,117	,016	,251	,009	,009	,028	,047	,347	,465	,047
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,032[b]	,032[b]	,008[b]	,151[b]	,151[b]	,016[b]	,310[b]	,008[b]	,008[b]	,032[b]	,056[b]	,421[b]	,548[b]	,056[b]
Controlo larvas	U de Mann-Whitney	4,500	4,500	5,000	2,000	2,000	5,000	7,000	4,000	4,000	5,000	4,000	,000	,000	,000
	Wilcoxon W	19,500	19,500	20,000	17,000	17,000	20,000	22,000	19,000	19,000	20,000	19,000	15,000	15,000	15,000
	Z	-1,676	-1,676	-1,567	-2,193	-2,193	-1,567	-1,149	-1,844	-1,781	-1,567	-1,776	-2,611	-2,611	-2,611
	Significância Sig. (2 extremidades)	,094	,094	,117	,028	,028	,117	,251	,065	,075	,117	,076	,009	,009	,009
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,095[b]	,095[b]	,151[b]	,032[b]	,032[b]	,151[b]	,310[b]	,095[b]	,095[b]	,151[b]	,095[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]

a. Variável de Agrupamento: Animal

b. Não corrigido para vínculos.

Tabela 22 - Teste Mann-Whitney para avaliar a diferença estatística das variáveis das larvas entre os ensaios de frango e suíno nos diferentes grupos

Estatísticas de teste[a]

Grupo		MS_larvas	HT_larvas	Cinzas_larvas	N_larvas	PB_larvas	GB_larvas	FB_larvas	PESOfinal_larvas	Taxa_bioconversão_total	Taxa_bioconversão_MS	PESOdia4	PESOdia8	PESOdia11	PESOdia14
Experimental	U de Mann-Whitney	7,000	7,000	,000	,000	,000	,000	3,000	3,000	2,000	7,000	1,000	,000	,000	,000
	Wilcoxon W	22,000	22,000	15,000	15,000	15,000	15,000	18,000	18,000	17,000	22,000	16,000	15,000	15,000	15,000
	Z	-1,149	-1,149	-2,611	-2,611	-2,611	-2,611	-1,984	-1,997	-2,193	-1,149	-2,410	-2,619	-2,611	-2,611
	Significância Sig. (2 extremidades)	,251	,251	,009	,009	,009	,009	,047	,046	,028	,251	,016	,009	,009	,009
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,310[b]	,310[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,056[b]	,056[b]	,032[b]	,310[b]	,016[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]
Controlo larvas	U de Mann-Whitney	,000	,000	2,000	,000	,000	,000	,000	2,000	1,000	,000	3,000	,000	,000	,000
	Wilcoxon W	15,000	15,000	17,000	15,000	15,000	15,000	15,000	17,000	16,000	15,000	18,000	15,000	15,000	15,000
	Z	-2,619	-2,619	-2,193	-2,611	-2,611	-2,611	-2,611	-2,278	-2,402	-2,611	-1,984	-2,611	-2,611	-2,611
	Significância Sig. (2 extremidades)	,009	,009	,028	,009	,009	,009	,009	,023	,016	,009	,047	,009	,009	,009
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,008[b]	,008[b]	,032[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,032[b]	,016[b]	,008[b]	,056[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]

a. Variável de Agrupamento: Animal

b. Não corrigido para vínculos.

Tabela 23 - Teste Mann-Whitney para avaliar a diferença estatística das variáveis das larvas entre os ensaios de suíno e bovino nos diferentes grupos

Estatísticas de teste[a]

Grupo		MS_larvas	HT_larvas	Cinzas_larvas	N_larvas	PB_larvas	GB_larvas	FB_larvas	PESOfinal_larvas	Taxa_bioconversão_total	Taxa_bioconversão_MS	PESOdia4	PESOdia8	PESOdia11	PESOdia14
Experimental	U de Mann-Whitney	,000	,000	,000	,000	,000	,000	1,000	,000	,000	,000	5,000	8,000	7,000	1,000
	Wilcoxon W	15,000	15,000	15,000	15,000	15,000	15,000	16,000	15,000	15,000	15,000	20,000	23,000	22,000	16,000
	Z	-2,611	-2,611	-2,611	-2,611	-2,611	-2,611	-2,402	-2,627	-2,619	-2,611	-1,567	-,943	-1,149	-2,402
	Significância Sig. (2 extremidades)	,009	,009	,009	,009	,009	,009	,016	,009	,009	,009	,117	,346	,251	,016
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,016[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,151[b]	,421[b]	,310[b]	,016[b]
Controlo larvas	U de Mann-Whitney	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	10,500	10,500	,000	6,000	,000	,000	,000
	Wilcoxon W	15,000	15,000	15,000	15,000	15,000	15,000	15,000	25,500	25,500	15,000	21,000	15,000	15,000	15,000
	Z	-2,619	-2,619	-2,611	-2,611	-2,611	-2,611	-2,611	-,438	-,424	-2,611	-1,358	-2,611	-2,611	-2,611
	Significância Sig. (2 extremidades)	,009	,009	,009	,009	,009	,009	,009	,661	,671	,009	,175	,009	,009	,009
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,690[b]	,690[b]	,008[b]	,222[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]

a. Variável de Agrupamento: Animal

b. Não corrigido para vínculos.

Tabela 24 - Teste Mann-Whitney para avaliar a diferença estatística das variáveis das larvas entre o grupos controlo das larvas e experimental nos diferentes animais

Estatísticas de teste[a]

Animal		MS_larvas	HT_larvas	Cinzas_larvas	PB_larvas	GB_larvas	PESOfinal_larvas	PESOdia4_20larvas	PESOdia8_20larvas	PESOdia11_20larvas	PESOdia14_20larvas
Galinha	U de Mann-Whitney	1,500	1,500	,000	,000	,000	,000	10,000	11,000	12,000	8,000
	Wilcoxon W	16,500	16,500	15,000	15,000	15,000	15,000	25,000	26,000	27,000	23,000
	Z	-2,305	-2,305	-2,611	-2,611	-2,611	-2,627	-,522	-,313	-,104	-,940
	Significância Sig. (2 extremidades)	,021	,021	,009	,009	,009	,009	,602	,754	,917	,347
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,016[b]	,016[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,690[b]	,841[b]	1,000[b]	,421[b]
Bovino	U de Mann-Whitney	7,000	7,000	,000	,000	,000	7,500	11,000	3,500	3,000	,000
	Wilcoxon W	22,000	22,000	15,000	15,000	15,000	22,500	26,000	18,500	18,000	15,000
	Z	-1,149	-1,149	-2,611	-2,611	-2,611	-1,085	-,313	-1,886	-1,984	-2,611
	Significância Sig. (2 extremidades)	,251	,251	,009	,009	,009	,278	,754	,059	,047	,009
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,310[b]	,310[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,310[b]	,841[b]	,056[b]	,056[b]	,008[b]
Suino	U de Mann-Whitney	,000	,000	,000	,000	,000	,000	11,000	,000	,000	,000
	Wilcoxon W	15,000	15,000	15,000	15,000	15,000	15,000	26,000	15,000	15,000	15,000
	Z	-2,619	-2,619	-2,611	-2,611	-2,611	-2,627	-,313	-2,611	-2,611	-2,611
	Significância Sig. (2 extremidades)	,009	,009	,009	,009	,009	,009	,754	,009	,009	,009
	Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]	,841[b]	,008[b]	,008[b]	,008[b]

a. Variável de Agrupamento: Grupo

b. Não corrigido para vínculos.

Tabela 25 – Correlações de Pearson para avaliar a correlação das variáveis nos grupos experimentais

Correlações

		MO_inicial_frass	MS_frass	HT_frass	N_frass	PB_frass	MS_larvas	N_larvas	PB_larvas	GB_larvas	PESOfinal_larvas	Taxa_bioconversão_total	Taxa_bioconversão_MS	PESOdia14
MO_inicial_frass	Correlação de Pearson	1	,029	-,029	,783**	,789**	,555*	,236	,230	,410	-,926**	-,925**	,555*	-,448
	Sig. (2 extremidades)		,919	,919	,001	,000	,032	,397	,410	,129	,000	,000	,032	,094
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
MS_frass	Correlação de Pearson	,029	1	-1,000**	,359	,368	-,332	,582*	,578*	,469	,146	,142	-,330	-,645**
	Sig. (2 extremidades)	,919		,000	,189	,177	,226	,023	,024	,078	,603	,615	,229	,009
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
HT_frass	Correlação de Pearson	-,029	-1,000**	1	-,359	-,368	,332	-,582*	-,578*	-,469	-,146	-,142	,330	,645**
	Sig. (2 extremidades)	,919	,000		,189	,177	,226	,023	,024	,078	,603	,615	,229	,009
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
N_frass	Correlação de Pearson	,783**	,359	-,359	1	1,000**	,041	,764**	,761**	,843**	-,595*	-,603*	,040	-,790**
	Sig. (2 extremidades)	,001	,189	,189		,000	,884	,001	,001	,000	,019	,017	,886	,000
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
PB_frass	Correlação de Pearson	,789**	,368	-,368	1,000**	1	,051	,759**	,756**	,838**	-,599*	-,607*	,050	-,792**
	Sig. (2 extremidades)	,000	,177	,177	,000		,857	,001	,001	,000	,018	,016	,859	,000
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
MS_larvas	Correlação de Pearson	,555*	-,332	,332	,041	,051	1	-,571*	-,574*	-,328	-,624*	-,621*	1,000**	,216
	Sig. (2 extremidades)	,032	,226	,226	,884	,857		,026	,025	,233	,013	,013	,000	,440
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
N_larvas	Correlação de Pearson	,236	,582*	-,582*	,764**	,759**	-,571*	1	1,000**	,937**	,003	-,006	-,571*	-,804**
	Sig. (2 extremidades)	,397	,023	,023	,001	,001	,026		,000	,000	,991	,983	,026	,000
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
PB_larvas	Correlação de Pearson	,230	,578*	-,578*	,761**	,756**	-,574*	1,000**	1	,937**	,009	,000	-,574*	-,801**
	Sig. (2 extremidades)	,410	,024	,024	,001	,001	,025	,000		,000	,975	,999	,025	,000
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
GB_larvas	Correlação de Pearson	,410	,469	-,469	,843**	,838**	-,328	,937**	,937**	1	-,129	-,138	-,328	-,781**
	Sig. (2 extremidades)	,129	,078	,078	,000	,000	,233	,000	,000		,648	,625	,233	,001
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
PESOfinal_larvas	Correlação de Pearson	-,926**	,146	-,146	-,595*	-,599*	-,624*	,003	,009	-,129	1	,999**	-,624*	,221
	Sig. (2 extremidades)	,000	,603	,603	,019	,018	,013	,991	,975	,648		,000	,013	,429
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
Taxa_bioconversão_total	Correlação de Pearson	-,925**	,142	-,142	-,603*	-,607*	-,621*	-,006	,000	-,138	,999**	1	-,621*	,226
	Sig. (2 extremidades)	,000	,615	,615	,017	,016	,013	,983	,999	,625	,000		,013	,417
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
Taxa_bioconversão_MS	Correlação de Pearson	,555*	-,330	,330	,040	,050	1,000**	-,571*	-,574*	-,328	-,624*	-,621*	1	,214
	Sig. (2 extremidades)	,032	,229	,229	,886	,859	,000	,026	,025	,233	,013	,013		,444
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
PESOdia14	Correlação de Pearson	-,448	-,645**	,645**	-,790**	-,792**	,216	-,804**	-,801**	-,781**	,221	,226	,214	1
	Sig. (2 extremidades)	,094	,009	,009	,000	,000	,440	,000	,000	,001	,429	,417	,444	
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15

**. A correlação é significativa no nível 0,01 (2 extremidades).

*. A correlação é significativa no nível 0,05 (2 extremidades).

Carolina Balbino dos Santos Ligeiro

Caracterização do desenvolvimento da fase larvar (5-19 dias) da mosca soldado negra (*Hermetia illucens*) inoculada em substratos preparados com estrume de aves, suínos e bovinos

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia
Faculdade de Medicina Veterinária