

**UFRRJ**

INSTITUTO DE TECNOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS

**DISSERTAÇÃO**

***Hermetia illucens* L. (Diptera, Stratiomyidae) como fonte sustentável de  
quitina: extração e caracterização**

**Joyce Cheve de Sá**

2024



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DE ALIMENTOS**

***HERMETIA ILLUCENS L. (DIPTERA, STRATIOMYIDAE) COMO  
FONTE SUSTENTÁVEL DE QUITINA: EXTRAÇÃO E  
CARACTERIZAÇÃO***

**JOYCE CHEVE DE SÁ**

*Sob a orientação do professor*  
**Dr. José Lucena Barbosa Junior**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos.

Seropédica, RJ  
Maio de 2024

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S111h Sá, Joyce Cheve de, 1993-  
Hermetia illucens L. (Diptera, Stratiomyidae) como  
fonte sustentável de quitina: extração e caracterização  
/ Joyce Cheve de Sá. - Seropédica, 2024.  
94 f.: il.

Orientador: José Lucena Barbosa Junior.  
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciência  
e Tecnologia de Alimentos, 2024.

1. Sustentabilidade. 2. polissacarídeo. 3. inseto  
comestível. 4. química verde. 5. Black Soldier Fly. I.  
Barbosa Junior, José Lucena, 1975-, orient. II  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de  
Alimentos III. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS



TERMO Nº 346/2024 - PPGCTA (12.28.01.00.00.00.41)

Nº do Protocolo: 23083.024286/2024-27

Seropédica-RJ, 17 de maio de 2024.

**JOYCE CHEVE DE SÁ**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de Concentração em Ciência de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 17/05/2024

José Lucena Barbosa Junior, (Dr) UFRRJ (orientador)  
Vinícius Pimentel Silva, (Dr) UFRRJ  
Carolina Oliveira de Souza, (Dra) UFBA

*Documento não acessível publicamente*

*(Assinado digitalmente em 17/05/2024 20:36)*  
JOSE LUCENA BARBOSA JUNIOR  
COORDENADOR CURS/POS-GRADUACAO - TITULAR  
PPGCTA (12.28.01.00.00.00.41)  
Matrícula: ###550#9

*(Assinado digitalmente em 18/05/2024 10:54)*  
VINICIUS PIMENTEL SILVA  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptNAP (12.28.01.00.00.00.62)  
Matrícula: ###996#0

*(Assinado digitalmente em 19/05/2024 08:06)*  
CAROLINA OLIVEIRA DE SOUZA  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ###.###.035-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **346**, ano: **2024**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **17/05/2024** e o código de verificação: **6432da8c6e**

*À minha mãe Maria Auxiliadora, ao meu pai Reginaldo (in memoriam) e à minha querida  
avó Eugênia (in memoriam).  
Meu agradecimento pelos ensinamentos, amor e apoio incondicional.*

*Ao Ronan,  
com todo meu amor, admiração e carinho.*

*A vocês, dedico.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus pelo amor e cuidado em cada fase da minha vida e por me permitir chegar até aqui.

Ao meu orientador Lucena Barbosa, por todo o auxílio, receptividade e confiança ao longo desses dois anos. Pelos conselhos, correções e incentivo.

Aos professores que ao longo dessa trajetória contribuíram com a minha formação e com o meu trabalho. Em especial à professora Maria Ivone Barbosa, cuja ajuda foi essencial durante vários momentos de dificuldade ao longo do mestrado. Aos professores Davy Chavéz, Renato Bigansolli, e Vinicius Pimentel, pela orientação e valiosa contribuição no meu trabalho.

As professoras Louise Emy Kurozawa e Nádia Rosa pela disponibilidade de participação na banca de Qualificação e pelas valiosas contribuições que possibilitaram melhorias neste trabalho. Também aos que se colocaram prontamente à disposição para participar da defesa da dissertação.

À Vanessa Biancardi, pela recepção, ajuda, ensinamentos, apoio e orientação. Pelas incontáveis conversas e por sempre incentivar e acreditar. O mundo precisa de mais pessoas como você!

À Vanessa Sales, pelas orientações e ajuda com as análises e artigos, mesmo nos prazos apertados.

À Dayane Viana, pela amizade, apoio e incentivo. Pelas conversas e risadas durante as longas viagens para a Rural.

As alunas de iniciação científica, Maria Clara Fonte e Letícia de Souza. Pela ajuda, confiança e por acreditarem mesmo quando tudo estava dando errado.

Aos técnicos Ivanilda e Vinicius, pela ajuda nas análises química.

A equipe do LabNutri do Departamento de Nutrição Animal e Pastagens do Instituto De Zootecnia. Obrigada a todos pela disponibilidade e pela ajuda nas análises.

Ao programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFRRJ, pela receptividade e pela oportunidade da realização do mestrado.

Ao departamento de Engenharia de Materiais da Escola de Engenharia de Lorena (EEL/USP) e ao Centro de Tecnologia Mineral (CETEM-UFRJ) pelo apoio nas análises.

À Lets Fly pela doação da matéria-prima e pelo suporte financeiro.

À Capes, pela concessão da bolsa de Mestrado. Ao CNPq e à FAPERJ pelo suporte financeiro.

À Tainá, pela amizade, sorrisos, conversas e apoio durante muitos dias difíceis.

Ao Ronan, pelo incentivo, apoio e exemplo. Obrigada pelo companheirismo, amor e por me ajudar a não desistir.

À minha mãe, obrigada por tudo. Sem você, nada disso seria possível.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“A persistência é o caminho do êxito.”  
(Charles Chaplin)

## RESUMO

SÁ, Joyce Cheve de. ***Hermetia illucens* L. (diptera, stratiomyidae) como fonte sustentável de quitina: extração e caracterização.** 2024. 94p Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia. Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

Diante do atual cenário de insegurança alimentar, a *Hermetia illucens* L. (Diptera: Stratiomyidae), conhecida como Black Soldier Fly (BSF), ganha a atenção global como fonte emergente e sustentável para a alimentação humana e animal. A BSF converte eficientemente variadas biomassas orgânicas e a transforma em biomassa rica em quitina. O polissacarídeo quitina tem ampla aplicação no setor alimentício, na elaboração de filmes, revestimentos, ação antimicrobiana, emulsificante e estabilizante. Para a extração da quitina são necessárias etapas de desmineralização e desproteínização, comumente realizadas com solventes hostis ao meio ambiente (HCl e NaOH). Portanto, foi investigado um processo para a obtenção da quitina da exúvia da pupa *Hermetia illucens* através de processos de desmineralização mais sustentáveis e econômicos. Nesse contexto, o ácido clorídrico foi substituído por um ácido orgânico (ácido acético), em concentrações reduzidas de 0,6 M, temperatura ambiente (25 °C) e tempo de reação de 2 h. Adicionalmente, para o processo de extração da quitina, outras etapas foram implementadas, tais como a desengorduramento utilizando hexano a 60 °C por 6 horas e a desproteínização empregando NaOH 1,25 M a 90 °C por 2,5 horas. As quitinas obtidas foram submetidas a uma análise comparativa com a quitina comercial de crustáceos em termos de sua composição centesimal (umidade, lipídios, cinzas, proteína, fibra em detergente ácido (FDA), lignina em detergente ácido (LDA), eficiência de extração, infravermelha por transformada de Fourier (FTIR), difração de raio-X, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e análise térmica gravimétrica (TGA). Os resultados indicaram que o ácido acético resultou em quitina da exúvia da pupa da BSF com teor de cinzas de 1,04%, valor significativamente igual ( $p \leq 0.05$ ) à quitina obtida com ácido clorídrico (0,79 %) e à quitina comercial de crustáceos (1,12%). Esses resultados proporcionaram eficiência de desmineralização de 94,45% para o ácido acético e 99,02% para o HCl. Os processos de desengorduramento e desproteínização resultaram em quitinas provenientes da BSF com teores de lipídios e proteínas sem diferença significativa ( $p \leq 0.05$ ) em comparação com a quitina comercial. A eficiência de desengorduramento alcançou 96,60%, enquanto a eficiência de desproteínização foi de 37,36% e 37,57% para a BSF\_chitin\_AA e BSF\_chitin\_HCl, respectivamente. A quitina da BSF obtida com ácido acético apresentou menor perda na cristalinidade em comparação com a obtida utilizando HCl durante o processo de extração. Além disso, o ácido acético conferiu uma maior estabilidade térmica à quitina da BSF em comparação com a quitina obtida com HCl e a quitina comercial de crustáceos. Ambas as amostras foram caracterizadas como  $\alpha$ -quitina, exibindo estrutura molecular e composição química típicas da quitina comercial. A morfologia das quitinas da BSF apresentou uma configuração hexagonal, ao contrário da quitina comercial de crustáceos, que exibiu uma estrutura rugosa. No entanto, não foram observadas diferenças significativas entre as estruturas morfológicas da quitina da BSF obtida com ácido acético e HCl. Assim, os solventes orgânicos produzem quitina com qualidade comparável àquela obtida mediante o emprego de solventes minerais, abrindo novas perspectiva para o uso de solventes mais sustentáveis no processo de desmineralização das exúvias da pupa da BSF.

**Palavras-chave:** Sustentabilidade, polissacarídeo, inseto comestível, química verde, Black Soldier Fly.



## ABSTRACT

SÁ, Joyce Cheve de. *Hermetia illucens* L (Diptera, Stratiomyidae) as a sustainable source of chitin: extraction and characterization. 2024. 94p Masters dissertation (Master of Food Science and Technology). Institute of Technology. Department of Food Technology, University Federal Rural of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

Faced with the current scenario of food insecurity, *Hermetia illucens* L. (Diptera: Stratiomyidae), known as Black Soldier Fly (BSF), gains global attention as an emerging and sustainable source for human and animal food. BSF efficiently converts various organic biomasses and transforms them into chitin-rich biomass. The polysaccharide chitin has wide application in the food sector, in the production of films, coatings, antimicrobial, emulsifying and stabilizing action. To extract chitin, demineralization and deproteinization steps are necessary, commonly carried out with solvents that are hostile to the environment (HCl and NaOH). Therefore, a process was investigated to obtain chitin from the exuvia of the *Hermetia illucens* pupa through more sustainable and economical demineralization processes. In this context, hydrochloric acid was replaced by an organic acid (acetic acid), in reduced concentrations of 0.6 M, room temperature (25 °C) and reaction time of 2 h. Additionally, for the chitin extraction process, other steps were implemented, such as degreasing using hexane at 60 °C for 6 hours and deproteinization using 1.25 M NaOH at 90 °C for 2.5 hours. The obtained chitins were subjected to a comparative analysis with commercial crustacean chitin in terms of their proximate composition (moisture, lipids, ash, protein, acid detergent fiber (ADF), acid detergent lignin (LDA), extraction efficiency, Fourier transform infrared (FTIR), X-ray diffraction, scanning electron microscopy (SEM) and thermal gravimetric analysis (TGA). The results indicated that acetic acid resulted in chitin from BSF pupa exuvia with ash content. of 1.04%, a value significantly equal ( $p \leq 0.05$ ) to chitin obtained with hydrochloric acid (0.79%) and to commercial chitin from crustaceans (1.12%). for acetic acid and 99.02% for HCl. The delipidification and deproteinization processes resulted in chitins from BSF with lipid and protein contents without significant difference ( $p \leq 0.05$ ) compared to commercial chitin. reached 96.60%, while the deproteinization efficiency was 37.36% and 37.57% for BSF\_chitin\_AA and BSF\_chitin\_HCl, respectively. The BSF chitin obtained with acetic acid showed less loss in crystallinity compared to that obtained using HCl during the extraction process. Furthermore, acetic acid imparted greater thermal stability to BSF chitin compared to chitin obtained with HCl and commercial chitin from crustaceans. Both samples were characterized as  $\alpha$ -chitin, exhibiting molecular structure and chemical composition typical of commercial chitin. The morphology of BSF chitins presented a hexagonal configuration, unlike commercial crustacean chitin, which exhibited a rough structure. However, no significant differences were observed between the morphological structures of BSF chitin obtained with acetic acid and HCl. Thus, organic solvents produce chitin with a quality comparable to that obtained through the use of mineral solvents, opening new perspectives for the use of more sustainable solvents in the demineralization process of BSF pupal exuviae.

**Keywords:** Sustainability, polysaccharide, edible insect, Black Soldier Fly.

## LISTA DE FIGURAS

### INTRODUÇÃO GERAL

**Figura 1.1** - Estrutura química da celulose e da quitina. 7

### CAPÍTULO I

**Figura 2 1** - Etapas de extração da quitina da *Hermetia illucens* .....20

**Figura 2 2** - Ciclo de vida da *Hermetia illucens*.....31

### CAPÍTULO II

**Figure 3 1:** General scheme for the extraction of chitin from BSF pupal exuviae..... 58

**Figure 3 2:** Thermal gravimetric analysis of BSF exuviae flour (EF) (1), chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with acetic acid (BSF\_chitin\_AA) (2), chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with HCl (BSF\_chitin\_HCl) (3), and commercial chitin (4)..... 63

**Figure 3 3:**Fourier transform infrared spectra of BSF exuviae flour (EF) (1), chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with acetic acid (BSF\_chitin\_AA) (2), chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with HCl (BSF\_chitin\_HCl) (3), and commercial chitin (4)..... 64

**Figure 3 4:** X-ray diffraction of BSF exuviae flour (1), chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with acetic acid (BSF\_chitin\_AA) (2), chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with HCl (BSF\_chitin\_HCl) (3), and commercial chitin (4). ..... 66

**Figure 3 5:** Scanning electron microscopy images. (1) BSF pupal exuviae flour, (2) commercial chitin, (3) chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with HCl, (4) chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with acetic acid. ...67

### APÊNDICE B

**Figura B1** - Gráficos de superfície de resposta ..... 76

### APÊNDICE D

**Figura D1** - Resumo gráfico do capítulo II sobre a extração da quitina da *Hermetia illucens*78

### APÊNDICE E

**Figura E1** - Representação geral do processo de extração da quitina da exúvia da pupa da *Hermetia illucens*..... 79

## LISTA DE TABELAS

### INTRODUÇÃO GERAL

<b>Tabela 1 1</b> - Dados nutricionais de diferentes fases da BSF em base seca.....	6
<b>Tabela 1 2</b> - Composição de minerais da BSF.....	6

### CAPÍTULO I

<b>Tabela 2 1</b> - Diferentes métodos de extração e seus efeitos na qualidade da quitina obtida a partir da <i>Hermetia illucens</i> . ....	22
<b>Tabela 2 2</b> - Composição de quitina, matéria seca, proteína, lipídeos e cinzas das diferentes fases de crescimento de <i>Hermetia illucens</i> .....	32
<b>Tabela 2 3</b> - Solventes, parâmetros e eficiência da desengorduramento de diferentes fases da <i>Hermetia illucens</i> .....	34
<b>Tabela 2 4</b> Solventes, parâmetros e eficiência da desmineralização de diferentes fases da <i>Hermetia illucens</i> .....	36
<b>Tabela 2 5</b> - Solutos, parâmetros e eficiência da desproteíntização de diferentes fases da <i>Hermetia illucens</i> .....	39
<b>Tabela 2 6</b> -Solventes e parâmetros utilizados para a despigmentação da quitina da <i>Hermetia illucens</i> .....	42
<b>Tabela 2 7</b> - Extrações biológicas, físicas e não convencionais da quitina das diversas fases da <i>Hermetia illucens</i> .....	43

### CAPÍTULO II

<b>Table 3 1:</b> Proximate composition (g/100 g) of flours derived from the BSF pupal exuviae at different treatment steps, chitins from BSF pupal exuviae, and chitin of comercial chitin. ....	62
<b>Table 3 2:</b> Efficiency of defatting, demineralization, deproteinization, and the chitin extraction yield regarding the methodologies performed by the demineralization with acetic acid (BSF_chitin_AA) and HCl (BSF_chitin_HCl).....	62
<b>Table 3 3:</b> Fourier transform infrared bands from BSF pupal exuviae flour (EF), chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with acetic acid (BSF_chitin_AA), chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with HCl (BSF_chitin_HCl), and commercial chitin. ....	65
<b>Table 3 4:</b> Crystallinity index of BSF pupal exuviae flour (EF), chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with acetic acid (BSF_chitin_AA), chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with HCl (BSF_chitin_HCl), and commercial chitin. ....	67

### APÊNDICE B

<b>Tabela 1</b> - Fatores e níveis que serão utilizados para o composto central rotacional (DCCR) .....	74
<b>Tabela 2</b> - Desenho experimental composto central rotacional (DCCR) com os parâmetros e os resultados de DDM .....	74
<b>Tabela 3</b> - Resultados de regressão obtidos a partir da análise dos dados experimentais .....	75
<b>Tabela 4</b> - Análise de variância (ANOVA) para o modelo quadrático do grau de desmineralização .....	75

### APÊNDICE C

<b>Tabela 1</b> - Composição centesimal da quitina da exúvia da pupa da <i>Hermetia illucens</i> extraída enzimaticamente em comparação com a quitina comercial .....	77
---	----

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL, OBJETIVOS E REFERENCIAL TEÓRICO</b>	<b>12</b>
1 Introdução .....	1
2 Objetivos.....	3
2.1 Objetivo Geral .....	3
2.2 Objetivos Específicos .....	3
2 Revisão bibliográfica .....	3
2.3 Sistemas agroalimentares.....	3
2.4 Insetos comestíveis .....	3
2.5 Composição.....	5
2.6 Quitina .....	7
3 Referências .....	9
<b>CAPÍTULO I: AVANÇOS NA EXTRAÇÃO DE QUITINA DA <i>HERMETIA ILLUCENS</i> (DIPTERA: STRATIOMYIDAE)</b>	<b>18</b>
1 Introdução.....	19
2 Extração de quitina da <i>Hermetia illucens</i> .....	20
2.1 Fontes de quitina da <i>Hermetia illucens</i> .....	31
2.2 Pré-tratamentos .....	32
2.3 Extração dos lipídios (Desengorduramento) .....	33
2.4 Extração dos minerais (Desmineralização) .....	35
2.5 Extração das proteínas (Desproteínização).....	38
2.6 Extração dos pigmentos (Despigmentação) .....	41
2.7 Outras extrações .....	43
3 Derivados de quitina.....	45
4 Potencial uso da quitina de insetos em alimentos .....	46
5 Conclusões.....	47
6 Referências .....	48
<b>CAPÍTULO II: ACETIC ACID AS A SUSTAINABLE ALTERNATIVE TO DEMINERALIZATION DURING THE EXTRACTION OF CHITIN FROM PUPAL EXUVIAE OF <i>HERMETIA ILLUCENS</i> (DIPTERA: STRATIOMYIDAE)</b>	<b>55</b>
1 Introduction .....	56
2 Materials and methods.....	57
2.1 Materials .....	57
2.2 BSF exuviae preparation .....	57
2.3 Chitin extraction .....	57
2.3.1 Defatting .....	58
2.3.2 Demineralization .....	58
2.3.3 Deproteinization .....	59
2.4 Proximate composition .....	59
2.5 Thermal gravimetric analysis (TGA) .....	60
2.6 Fourier transform infrared (FTIR) analysis .....	60
2.7 X-ray diffraction (XRD).....	60
2.8 Scanning electron microscopy (SEM).....	60
2.9 Statistical analysis .....	60
3 Results and discussion.....	60
3.1 Proximate composition and extraction efficiency .....	60
3.2 Thermal gravimetric analysis .....	63

3.3 Fourier transform infrared (FTIR) analysis .....	64
3.4 X-ray diffraction (XRD).....	66
3.5 Scanning electron microscopy (SEM).....	67
4 Conclusions .....	68
5 References .....	68

<b>CONCLUSÃO GERAL .....</b>	<b>72</b>
------------------------------	-----------

## **APÊNDICES**

A– Resumo publicado .....	73
B – Desenho experimental para a desmineralização com o ácido acético .....	74
C – Desproteínização enzimática .....	77
D – Resumo gráfico do capítulo I.....	798
E – Resumo gráfico do capítulo II.....	789

## ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

Esta dissertação foi dividida em Introdução e dois capítulos. Na introdução, composta pelos tópicos de introdução geral, objetivos e revisão bibliográfica foram abordados os conceitos gerais e auxiliares para a compreensão da proposta desta dissertação.

No capítulo I é apresentado o artigo de revisão, com a apresentação dos métodos já utilizados para a extração da quitina da *Hermetia illucens*, assim como novas perspectivas de estudos e aplicações da quitina para a área de alimentos.

No capítulo II é apresentada a etapa experimental, onde realizou-se a extração da quitina da exúvia da pupa da *Hermetia illucens* através das etapas de desengorduramento com Hexano, desmineralização com ácido acético e HCl e desproteíntização com NaOH. A partir das quitinas obtidas, foram realizadas análises de composição centesimal para cálculo da eficiência de extração e a pureza do material obtido. Além disso, as exúvias da pupa, as quitinas da BSF e a quitina comercial de crustáceos foram caracterizadas através da análise termogravimétrica (TGA), espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR), difração de raios X e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Alguns resultados prévios obtidos neste capítulo foram apresentados em um congresso conforme detalhado no Apêndice A desta dissertação.

No Apêndice B é apresentado o delineamento Composto Central Rotacional realizado para a desmineralização com o ácido acético, e o apêndice C com a desproteíntização enzimática.

Nos Apêndices D e E são apresentados os resumos gráficos dos capítulos I e II, respectivamente.

# **INTRODUÇÃO GERAL, OBJETIVOS E REFERENCIAL TEÓRICO**

## 1 INTRODUÇÃO

Em 2022, a insegurança alimentar atingiu o recorde mundial de 258 milhões de pessoas com necessidades de assistência urgente. Segundo o relatório anual da FSIN and Global Network Against Food Crises, (2023) houve um aumento de quase 65 milhões de pessoas em relação ao ano anterior, o qual pode ser atribuído tanto pelo aumento da população quanto ao agravamento da situação de insegurança alimentar aguda. Os fatores que contribuem para a falta de segurança alimentar são os extremos climáticos, choques econômicos e, principalmente, os conflitos territoriais. Tais fatores expõem a fragilidade dos sistemas alimentares e a necessidade de novas alternativas de sistemas agroalimentares sustentáveis. Diante desse cenário, os insetos ganham atenção como fonte emergente e sustentável de proteínas (Van Huis e Oonincx, 2017).

Os insetos são fontes de proteínas, carboidratos, gorduras e minerais, sendo seu consumo definido como entomofagia, que apresenta relatos históricos por diversas culturas. Apesar do seu potencial uso na alimentação humana, no ocidente a entomofagia tradicional, que é o consumo de insetos inteiros, proporciona reações negativas aos consumidores (Caparros Megido *et al.*, 2016). Porém, estudos mostram maior disposição de consumo de insetos quando esses são processados e utilizados como ingredientes alimentícios (Hartmann e Siegrist, 2016). Portanto, pesquisas atuais têm sido direcionadas para a caracterização e transformação desses animais em potenciais ingredientes para a indústria de alimentação humana e animal.

Entre os insetos com características adequadas para o consumo humano, a *Hermetia illucens* L. (Diptera, Stratiomyidae), conhecida na literatura internacional como Black Soldier Fly (BSF) ou Mosca Soldado Negro (MSN). Essa espécie despertou o interesse da comunidade científica e do meio empresarial, por degradar até 60% de variados resíduos orgânicos, e pela bioconversão desses resíduos em uma biomassa com proteína, gordura, quitina e minerais. Além dos aspectos positivos na eficiência da bioconversão, a BSF apresenta menor produção de gases de efeito estufa (GEE) quando comparada a culturas tradicionais, como suínos e bovinos (Boakye-Yiadom, Ilari e Duca, 2022; Parodi *et al.*, 2020). Diante disso, a BSF pode ser uma alternativa atraente e inovadora para o gerenciamento de resíduos orgânicos e promissora fonte de alimentos, se encaixando no conceito de economia circular (Čičková *et al.*, 2015; Shelomi, 2020).

O uso da *Hermetia illucens* é permitido pela EU (European Union, 2017) e pela Anvisa (Brasil, 2020) para a elaboração de rações de animais domésticos. Para alimentação humana os insetos entram na categoria de novos alimentos pela EU (European Union, 2015), sendo a BSF considerada como um dos insetos com maior potencial para fins alimentícios (EFSA Scientific Committee, 2015) Diante disso, a farinha proteica é hoje o produto de maior interesse na produção das larvas da BSF. Entretanto, durante a criação das larvas da BSF há a geração de subprodutos ricos em quitina, que pode ser extraído e utilizado como subproduto inovador e de alto valor agregado (Guarnieri *et al.*, 2022; Hahn, Roth, *et al.*, 2020; Triunfo *et al.*, 2022). A quantidade de quitina varia conforme o ciclo de vida da BSF, representando em torno de 9,5% na fase larval, 31,1% para as exúvias da muda, 23,8% nas exúvias da pupa e 5,6% na fase adulta (Soetemans, Uyttebroek e Bastiaens, 2020).

Embora o mercado de quitina já esteja estabelecido utilizando os resíduos de crustáceos, existem problemas na oferta desse material, devido suas produções sazonais (Tan, Lee e Chen, 2020) e na logística de abastecimento de áreas distantes das zonas costeiras (Gillett, 2008). Devido a sua sustentabilidade, adaptação e resistência, há grande interesse pelos insetos como fontes alternativas e sustentáveis de quitina (Antonov *et al.*, 2019; Kaya *et al.*, 2015; Khayrova, Lopatin e Varlamov, 2020; Liu *et al.*, 2012; Majtán *et al.*, 2007). Esse



interesse consiste na comercialização e na identificação de quitina e seus derivados com diferentes propriedades e aplicações.

A quitina e seus derivados apresentam diversas propriedades tecnológicas, com potencial aplicação devido à sua biodegradabilidade, biocompatibilidade e não toxicidade (Finke, 2006). Para o setor de alimentos, esse polissacarídeo apresenta efeito prebiótico (Meshulam-Pascoviche *et al.*, 2022) antimicrobiano e antioxidante (Friedman e Juneja, 2010; Kemboi, V. *et al.*, 2022). Também podem ser utilizados para clarificação de mostos, na preparação de filmes para remoção de contaminantes, no controle da turbidez causada pela precipitação de proteínas e na fabricação de sensores e nanosensores para a quantificação de contaminantes (Lárez Velásquez, 2023).

Na indústria farmacêutica e na medicina, esses polímeros apresentam resistência a infecções intravenosas (Okawa *et al.*, 2003), diminuição da gravidade da pancreatite aguda grave (Mei *et al.*, 2021), redução dos níveis de colesterol LDL no sangue (Choi *et al.*, 2012) e controle na liberação de drogas (N. Mengatto, M. Helbling e A. Luna, 2012). Na agricultura, esses polissacarídeos podem ser usados como fungicidas, agentes de revestimento de sementes, bioestimulantes, correções de solo e outros (Fan *et al.*, 2023). Podem ser aplicados em outras áreas como de biotecnologia, ciência de materiais, têxteis, cosméticos, tratamento de água e para a sorção de metais (Rinaudo, 2006; Złotko *et al.*, 2021).

Apesar dos diversos benefícios e aplicações para a quitina e seus derivados, a quitina natural é considerada fibra indigerível e sua presença pode diminuir a digestibilidade da proteína do inseto (Finke, 2007), ocasionar o retardamento da digestão de lipídeos, reduzir a bioacessibilidade de carotenoides e desencadear reações alérgicas (Kouřimská e Adámková, 2016; Zhou, Dai, Liu, Tan, Bai, Rojas, Orlando J., *et al.*, 2021). Por isso, durante o processamento dos insetos, é adequado que o exoesqueleto seja separado, a quitina extraída e destinada para aplicação adequada.

Na literatura existem poucos dados sobre a extração e caracterização da quitina da *Hermetia illucens*. O método mais comum para extração comercial de quitina são os métodos químicos que envolvem duas etapas, a desmineralização com o HCl e a desproteínização com o NaOH. A eficiência da extração da quitina da *Hermetia illucens* por esses métodos tradicionais foi relatada por alguns estudos (Khayrova, Lopatin e Varlamov, 2020; Purkayastha e Sarkar, 2020; Złotko *et al.*, 2021), apresentando qualidade similar à quitina comercial de crustáceos. Porém, esses métodos utilizam solventes não sustentáveis, que além de causarem danos ao meio ambiente e à saúde humana, limitam o uso dos minerais e proteínas extraídos durante o processo (Knidri, El *et al.*, 2018). Um tratamento químico agressivo, também pode levar à hidrólise descoordenada das cadeias dos polissacarídeos, bem como causar a desacetilação parcial da quitina (Younes *et al.*, 2012).

Outras abordagens têm sido investigadas como alternativa ao processo químico na etapa de desmineralização e desproteínização, como o uso de ácidos orgânicos. O ácido acético apresenta resultados parecidos com o HCl para a extração de minerais em crustáceos (Ameh *et al.*, 2014; Gbenebor *et al.*, 2018; Mahmoud, Ghaly e Arab, 2007; Pakizeh, Moradi e Ghassemi, 2021). Porém, poucos estudos apresentam resultados da desmineralização da quitina da BSF com o uso de ácidos orgânicos (Hahn *et al.*, 2022; Tan, Chin e Chen, 2021).

Apesar de alguns estudos já terem explorado o uso do ácido acético na extração de quitina da *Hermetia illucens*, até o momento não foram encontradas investigações que avaliem sua aplicação em temperatura ambiente e em baixas concentrações. Este estudo é parte integrante de um grupo de pesquisa do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRRJ, cujo foco está na análise do potencial da *Hermetia illucens* para aplicação alimentícia. Com o intuito de promover o aproveitamento e valorização do exoesqueleto da BSF, este trabalho tem como objetivo comparar a eficiência

de extração e as características químicas e estruturais da quitina das exúvias da pupa da *Hermetia illucens* obtida através da desmineralização com ácido clorídrico e ácido acético. Além disso, pretende-se comparar as propriedades químicas e estruturais da quitina obtida das exúvias da pupa da BSF com a quitina comercial proveniente de crustáceos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Comparar a eficiência de extração, bem como as características químicas e estruturais da quitina da exúvia da pupa de *Hermetia illucens* obtida através da desmineralização com o ácido acético e o ácido clorídrico, ambos em temperatura ambiente e em baixas concentrações.

### 2.2 Objetivos Específicos

De forma a atingir o objetivo geral, os objetivos específicos são:

- I. Revisão sobre os métodos já utilizados para a extração da quitina de *Hermetia illucens* e as perspectivas para aplicação da quitina em alimentos;
- II. Extração da quitina da exúvia da pupa de *Hermetia illucens* em baixa concentração (0,6 M), temperatura ambiente (25 °C) e por um curto período (2 h);
- III. Substituição do ácido mineral (ácido clorídrico) por um ácido orgânico (ácido acético) e a comparação da eficiência de desmineralização da exúvia da pupa de *Hermetia illucens*;
- IV. Caracterização da quitina da exúvia da pupa de *Hermetia illucens* obtida por desmineralização com ácido acético e HCl, comparada à quitina comercial, por meio de composição centesimal, análise termogravimétrica (TGA), espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR), difração de raios X e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

## 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 3.1 Sistemas agroalimentares

Segundo as Nações Unidas, em 2020, a população atingiu cerca de 8 bilhões, com projeções indicando aumento para 11 bilhões até o final do século XXI (United Nations, 2021). Esse aumento populacional, combinado com fatores como extremos climáticos, choques econômicos e os conflitos territoriais, agravam a situação de insegurança alimentar aguda. Isso expõe a fragilidade dos sistemas alimentares e a necessidade de novas alternativas agroalimentares (FSIN and Global Network Against Food Crises, 2023).

Diante dos impactos ambientais atribuídos ao atual sistema de produção de alimentos, torna-se imprescindível o estabelecimento de sistemas agroalimentares sustentáveis. Tais sistemas visam garantir a segurança alimentar e nutricional, preservando simultaneamente as bases econômicas, sociais e ambientais para a segurança alimentar e nutricional das gerações futuras (HLPE, 2014). Nesse contexto, os insetos têm emergido como fonte sustentável e promissora de alimento. Suas vantagens incluem baixa emissão de gases de efeito estufa, baixo consumo de alimentos, menor demanda por água e ocupação de terra insignificante em comparação com as culturas agrícolas tradicionais (Wade e Hoelle, 2020).

### 3.2 Insetos comestíveis

Os insetos representam mais de 90% das diferentes formas de vida animal na Terra, com o número total de espécies estimado em 6 a 10 milhões (HLPE, 2014). Pertencentes ao grupo dos artrópodes, os insetos caracterizam-se por possuírem exoesqueleto quitinoso, corpo dividido em três partes distintas (cabeça, tórax e abdômen), três pares de patas articuladas,

olhos compostos e duas antenas (DeLong, 1960). Os insetos podem ser encontrados em quase todos os ambientes, e desempenham papel fundamental no equilíbrio ambiental do planeta, atuando na polinização, controle de pragas e produção de matéria prima (mel, seda e corante natural Carmim de Cochonilha). Além dessas contribuições, os insetos destacam-se por sua eficiência notável na conversão de matéria orgânica em proteína animal e gordura. Por essa razão, têm sido considerados como fonte de alimentação potencial tanto para seres humanos quanto para outros animais (Halloran *et al.*, 2016; Ordoñez-Araque e Egas-Montenegro, 2021).

A alimentação através de insetos é conhecida como entomofagia e é uma prática milenar que resguarda aspectos culturais de continentes como África, Ásia, Austrália, Oceania e América Latina (Halloran *et al.*, 2016). Essa prática é uma solução para diversas questões ambientais e de saúde humana, incluindo mudanças climáticas, desnutrição, insegurança alimentar e degradação ambiental resultante do atual sistema agroalimentar (Dickie, Miyamoto e (Tilly) Collins, 2019). Entre as duas mil espécies de insetos comestíveis documentados na literatura, os mais comumente consumidos são as Blattodea (baratas), Coleoptera (besouros), Diptera (moscas), Hemiptera (verdadeiros insetos), Hymenoptera (formigas, abelhas e vespas), Isoptera (cupins), Lepidoptera (lagartas, borboletas e mariposas), Odonata (libélulas e libelinhas), Orthoptera (grilos, e gafanhotos) e Mantodea (mantis) (HLPE, 2014; Ordoñez-Araque, Quishpillo-Miranda e Ramos-Guerrero, 2022).

Em comparação com fontes tradicionais de proteína, os insetos demonstram impactos ambientais significativamente menores em várias métricas, como potencial de aquecimento global, uso de água, uso da terra, eutrofização de água doce, eutrofização marinha e acidificação terrestre. Além disso, ao considerar tanto o impacto ambiental quanto o valor nutricional, os insetos apresentam vantagens sobre as culturas tradicionais e outras alternativas alimentares inovadoras, como carne cultivada, ovalbumina (produzida com o fungo *Trichoderma reesei*), microalga (*Chlorella vulgaris*), alga marinha (*Saccharina latissima*) e micoproteína (Mazac, Järviö e Tuomisto, 2023).

Os insetos convertem eficientemente materiais orgânicos em massa corporal rica em proteína, ácidos graxos mono e poli-insaturados, vitaminas e minerais. Para a *Acheta domesticus* a bioconversão variou conforme a composição da dieta, apresentando valores de 0,9 a 1,7 (Van Huis, 2013). A porcentagem de peso comestível, que para frango e suínos é de 55% do peso vivo (Flachowsky, 2002), para bovinos é de 40% (Smil, 2002) e insetos pode chegar a 80% (Nakagaki e Defoliart, 1991).

Apesar dos benefícios da entomofagia, essa dieta é vista como opção de emergência no caso de escassez de alimentos, feita por pessoas de poucos recursos ou que desejam um alimento de sabor exótico. Além disso, seu consumo é limitado por razões éticas, religiosas, sociais, culturais e psicológicas. Por isso, um dos principais desafios na promoção da entomofagia, como dieta humana sustentável, é tornar os insetos atraentes e saborosos aos olhos dos consumidores, especialmente pessoas de culturas ocidentais (Meyer-Rochow *et al.*, 2021).

Em 2023, o valor do mercado global de insetos comestíveis foi estimado em US\$ 1,41, sendo esperado um crescimento de US\$ 1,80 bilhão em 2024 e de US\$ 10,4 bilhões até 2032 (Tejas Chaudhary, 2024). No Brasil, a produção de insetos com propósito nutricional vem aumentando anualmente, porém destinada somente para a alimentação animal, devido às limitações da legislação vigente. Atualmente, os insetos permitidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) são a Barata Cinérea (*Nauphoeta cinerea*), Grilo Preto (*Gryllus assimilis*), Mosca Soldado Negra (*Hermetia illucens*), Tenébrio Comum (*Tenebrio molitor*) e Tenébrio Gigante (*Zophobas morio*) (Brasil, 2020). Apesar da atual limitação para a produção de alimentos à base de insetos, espera-se para os próximos anos

uma regulamentação e expansão desse setor, o que causará impactos notáveis na pesquisa e no consumo desses animais.

A *Hermetia illucens* L, é um dos cinco gêneros da subfamília *Hermetiinae* da ordem *Diptera*. Essa espécie despertou duplo interesse da comunidade científica, pela sua sustentabilidade na degradação de variados resíduos orgânicos (Čičková *et al.*, 2015) e pela bioconversão desses resíduos em proteína de alta qualidade. Por isso, é considerado um inseto promissor para a alimentação humana e animal.

Apesar do primeiro registro da presença da *Hermetia illucens* ser na América, no final do século IX, de acordo com estudos genéticos é provável que a introdução da espécie tenha ocorrido nas regiões zoogeográfica da Paleártica Ocidental e Afrotropical (Stähls *et al.*, 2020).

A BSF produz quantidade economicamente atrativa de larvas, que pode ser influenciado pelas condições da sua criação, como sua dieta e temperatura (Harnden e Tomberlin, 2016). Suas larvas se alimentam de diversas fontes de matéria orgânica em decomposição, convertendo esses resíduos em um rico fertilizante. Além disso, as larvas têm o potencial de diminuir a contaminação microbiológica (Lalander *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2008) e a contaminação por metais pesados nos substratos (Bulak *et al.*, 2018).

O ciclo de vida da *Hermetia illucens* varia entre os tipos de populações (selvagens e domesticadas), os fatores abióticos (temperatura, umidade, intensidade da luz) e bióticos (qualidade e quantidade de alimentos disponíveis), interferindo direta e indiretamente na duração do ciclo de vida e no seu desempenho biológico (Barragan-Fonseca *et al.*, 2019; Caruso *et al.*, 2013; Tomberlin, Adler e Myers, 2009).

Em geral, essa espécie tem um ciclo de vida de aproximadamente 20 a 22 dias, com seu ciclo de vida dividido em cinco estágios: ovo, larva, pré-pupa, pupa e mosca adulta. O ciclo se inicia com a postura dos ovos em uma fonte de alimento. A fase larval se inicia após 4 dias da postura dos ovos, vai até o estágio da pré-pupa. Nessa fase, a cápsula cefálica é destacada do corpo, com peças bucais, que são utilizadas para a alimentação e como auxiliares na locomoção. O estágio pré-pupal é alcançado em torno de duas semanas e, posteriormente, chega a fase de pupação, onde a larva fica imóvel, apresentando uma cutícula rígida e rica em sais de cálcio, resultando em uma pupa marrom escura. Após 10 a 14 dias as moscas adultas saem dos casulos, acasalam e fazem a postura dos ovos. Os adultos não têm sistema digestivo ou ferrão, não representam ameaça para outros organismos e não têm afinidade com o corpo humano e alimentos frescos. Portanto, também não servem como vetores de transmissão de doenças (Barragan-Fonseca *et al.*, 2019; Caruso *et al.*, 2013; Tomberlin, Adler e Myers, 2009).

Durante a criação das larvas da BSF são gerados três subprodutos, as exúvias da muda, as exúvias pupais e as moscas adultas mortas. O primeiro resíduo é decorrente das descamações derivadas das etapas de moldagem das larvas, a exúvia da pupa é um invólucro vazio deixado pelas moscas após sua metamorfose e as moscas adultas derivam das espécies mortas após o acasalamento e postura dos ovos. Esses resíduos são na maioria das vezes descartados durante o processo de criação das larvas da BSF, porém esses materiais possuem alto teor de quitina em sua composição, e podem ser utilizadas como matéria-prima para a extração do polissacarídeo quitina (Guarnieri *et al.*, 2022; Hahn, Roth, *et al.*, 2020; Triunfo *et al.*, 2022).

### 3.3 Composição

As larvas da *Hermetia illucens* não são apenas adequadas para converter material orgânico, mas também transformam esses substratos em biomassa valiosa de macro e micronutrientes. Os macronutrientes presentes são as proteínas, gorduras e carboidratos, sendo esse presente na forma de quitina. A composição nutricional é alterada por fatores como a dieta, fase de crescimento, meio de criação e processamento (Hlongwane, Slotow e

Munyai, 2020). Conforme Tabela 1.1, a BSF na fase larval apresenta a maior fração de lipídeos (23%), os adultos o maior teor de proteínas (49,0%) e o casulo o maior teor de minerais (16%), quitina (25,5%) e fibras (53,3%) (Triunfo *et al.*, 2022).

**Tabela 1 1** - Composição nutricional da fase larval, adulta e das exúvias da pupa da BSF em base seca.

Nutrientes (g/100kg)	Fases		
	Larva	Exúvias da pupa	Adulto
Massa seca	22,0±0,8	94,0±0,7	93,0±0,9
Proteína bruta	38,7±1,5	30,0±2,8	49,0±0,4
Extrato Etéreo	23,0±0,3	5,0±0,1	19,7±0,9
Fibra detergente ácido FDA*	12,4±1,7	25,5±0,5	12,8±1,0
Lignina detergente ácido LDA*	9,5±2,2	28,0±1,2	10,8±2,4
Cinza	12,5±0,1	16,0±0,2	8,1±0,5
Quitina (FDA-LDA)**	12,4±1,7	25,0±0,5	12,8±1,0
Outros	13,4±0,8	23,5±1,3	10,4±0,3

Fonte: Elaboração própria a partir de dados do TRIUNFO *et al.*, 2022;

\*Metodologia FDA e LDA de acordo com Van Soest e Robertson, (1977);

\*\*Quitina segundo Hahn *et al.*, (2018).

Geralmente os lipídios de insetos incluem esteróis, vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K), ceras, monoglicerídeos, diglicerídeos, triglicerídeos e fosfolipídios (Rahman, Byanju e Lamsal, 2023b). São armazenados principalmente em corpos gordurosos onde são degradados, armazenados, transformados e transportados para locais de utilização (M.Th. Beenackers, Van der Horst e Van Marrewijk, 1985). Em comparação com outros insetos, as larvas da BSF contêm elevada quantidade de gordura, que pode ser utilizada como fonte de energia na alimentação ou na produção de biodiesel. A composição de seus ácidos graxos é afetada pela dieta e pelo peso larval, porém essa variação é limitada (Li *et al.*, 2011) e apresenta até 76% de ácidos graxos saturados, 32% de ácidos graxos monoinsaturados e até 23% de ácidos graxos poli-insaturados (Ewald *et al.*, 2020).

Os minerais presentes na *Hermetia illucens* são cálcio (Ca), cobre (Cu), ferro (Fe), magnésio (Mg), manganês (Mn), fósforo (P), potássio (K), sódio (Na) e zinco (Zn), conforme a Tabela 1.2. A proporção desses minerais varia de acordo com o conteúdo da dieta (Finke, 2013; Lu *et al.*, 2022) e a fase de vida da espécie (Smets *et al.*, 2020).

**Tabela 1 2** - Composição de macrominerais e microminerais da larva, pré-pupa e da pupa da BSF.

Mínerais	Larva	Pré-pupa	Pupa
<b>Macrominerais (g/100g)</b>			
Cálcio (Ca)	3,565	4,515	4,0404
Potássio (K)	0,915	0,436	0,611
Fósforo (P)	0,704	0,600	0,631
Magnésio (Mg)	0,335	0,349	0,365
Sódio (Na)	0,156	0,155	0,172
<b>Microminerais (mg/100g)</b>			
Manganês (Mn)	33,5	36,3	37,6
Ferro (Fe)	14,0	4,1	6,5
Zinco (Zn)	9,0	9,2	6,9
Cobre (Cu)	0,7	1,0	1,1

Fonte - Elaboração própria a partir de dados do Smets *et al.* (2020).

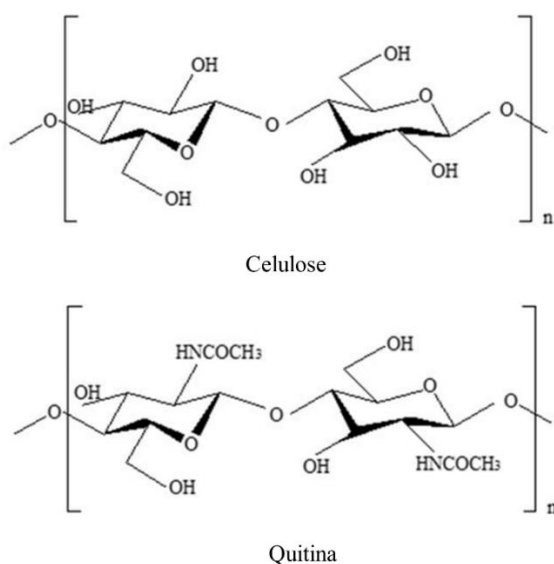
A bioacumulação é um desafio para a segurança da produção de alimentos e rações a base de insetos, pois apesar da BSF não bioacumular pesticidas, drogas ou micotoxinas, elas podem adquirir da dieta alguns elementos tóxicos e nocivos, como bário, mercúrio, molibdênio (Lu *et al.*, 2022) e cádmio (Shelomi, 2020). Diferentes valores de vitaminas foram detectados nas larvas da BSF, que variam conforme os substratos utilizados para a sua alimentação (Shumo *et al.*, 2019).

A composição do exoesqueleto da *Hermetia illucens* varia conforme seu estágio de desenvolvimento, sendo composta principalmente por fibras de quitina, proteínas cuticulares, lipídios e melanina (Moussian, 2010). A quitina representa em torno de 7,8% na fase larval, 23,7% para as exúvias da muda, 10,9% na fase de pré-pupa, 10,7% na fase de pupa, 23,4% nas exúvias da pupa e 8,4% na fase adulta (Soetemans, Uyttebroek e Bastiaens, 2020). Quando introduzida através da alimentação para humanos e animais, a quitina atua como fibra insolúvel (Ordoñez-Araque, Quishpillo-Miranda e Ramos-Guerrero, 2022).

### 3.4 Quitina

A quitina é um polissacarídeo linear, não carregado, composto de numerosas unidades de N-acetil- $\beta$ -D-glucosamina (GlcNAc) ligadas por ligações glicosídicas  $\beta$ -1,4. No entanto, a quitina é encontrada na natureza como um heteropolímero de unidades de GlcNAc e glucosamina (GlcN) distribuídas aleatoriamente e em proporções que variam de acordo com sua origem. Especificamente, as unidades acetiladas GlcNAc e as desacetiladas GlcN são conhecidas como 1,4 N-acetil-2-amino-2-desoxi-D-glicose e 2-amino-2-desoxi-D-glicose, respectivamente (Merzendorfer, 2011).

A estrutura química da quitina é semelhante a celulose, exceto pela substituição do grupo 2-hidroxila por um grupo acetilamino em cada monômero (Figura 1.1). A presença do grupo acetilamino permite o aumento das ligações de hidrogênio entre as cadeias de quitina adjacentes, aumentando assim a força da estrutura fibrilar, que é composto por múltiplas cadeias de quitina (Sawada *et al.*, 2012).



**Figura 1.1** - Estrutura química da celulose e da quitina.

Fonte: adaptado de Zhou, Wang e Guo, (2021)

Alguns estudos classificam o polissacarídeo quitina com no máximo 60% de resíduos desacetilados de GlcN, mais que isso o polímero apresenta diferentes propriedades e é classificado como quitosana (Aiba, 1992). Especificamente, as unidades acetiladas GlcNAc e as desacetiladas GlcN são conhecidas quimicamente como 1,4 N-acetil-2-amino-2-desoxi-D-glicose e 2-amino-2-desoxi-D-glicose, respectivamente.

Com base nas orientações de suas microfibrilas, a quitina é dividida em três alomorfos diferentes,  $\alpha$ -  $\beta$ - e  $\gamma$ -quitina (Kramer e Koga, 1986). A  $\alpha$ -quitina é o alomorfo de quitina mais abundante sendo encontrado principalmente em exoesqueletos de artrópodes e composto por aproximadamente 20 polímeros de quitina individuais dispostos de maneira antiparalela (Kaya *et al.*, 2015; Mehlhorn, 2016). Tal arranjo permite não apenas um empacotamento compacto, mas também alta resistência à tração devido ao aumento significativo das ligações de hidrogênio intra e intermoleculares (Kang *et al.*, 1984; Merzendorfer, 2011).

Depois da celulose, a quitina é o polímero mais abundante na natureza. Pode ser encontrada como componente estrutural nas paredes celulares de fungos e leveduras, no exoesqueleto e nas estruturas internas de insetos, crustáceos e outros artrópodes, como os revestimentos cuticulares internos do canal alimentar, sistema traqueal, ductos genitais e ductos das várias glândulas dérmicas.

Embora a principal fonte de quitina comercial, atualmente, ser dos resíduos indústria de alimentos marinhos (lagostas, caranguejos e cascas de camarão), os insetos também podem servir como fonte confiável de quitina (Khayrova, Lopatin e Varlamov, 2019; Snelling, Seymour e Runciman, 2011; Zhong, Wei e Zhang, 2013). Os insetos apresentam vantagens na logística e no abastecimento contínuo, já que se adaptam em diferentes regiões e com diferentes variações sazonais (Tan, Lee e Chen, 2020), abastecendo áreas distantes das zonas costeiras em diversas épocas do ano (Gillett, 2008). Além disso, os insetos apresentam maior facilidade no processamento, devido ao menor teor de compostos inorgânicos (10%), enquanto os crustáceos têm entre 20 e 40%, facilitando a etapa de desmineralização (Liu *et al.*, 2012). O interesse em novas fontes de quitina vai além das vantagens de produção, mas na identificação de quitina e seus derivados com diferentes propriedades e aplicações.

#### 4 REFERÊNCIAS

AIBA, Sei ichi. Studies on chitosan: 4. Lysozymic hydrolysis of partially N-acetylated chitosans. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 14, n. 4, p. 225–228, 1992. DOI: 10.1016/S0141-8130(05)80032-7.

AMEH, Alewo Opuada et al. Kinetics of demineralization of shrimp shell using lactic acid. Leonardo **Electronic Journal of Practices and Technologies**, v. 13, n. 24, p. 13–22, 2014. Disponível em: <http://lejpt.academicdirect.org>. Acesso em: 23 fev. 2023.

ANTONOV, A et al. Production of chitin from dead *Hermetia Illucens*. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 315, n. 4, p. e042003, 2019. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/315/4/042003> . Acesso em: 5 maio 2022.

BARRAGAN-FONSECA, Karol B. et al. Effects of dietary protein and carbohydrate on life-history traits and body protein and fat contents of the black soldier fly *Hermetia illucens*. **Physiological Entomology**, v. 44, n. 2, p. 148–159, 2019. Disponível em: <https://resjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/phen.12285> . Acesso em: 3 jul. 2022.

BOAKYE-YIADOM, Kofi Armah; ILARI, Alessio; DUCA, Daniele. Greenhouse Gas Emissions and Life Cycle Assessment on the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L.). **Sustainability** 2022, Vol. 14, Page 10456, [s. 1.], v. 14, n. 16, p. 10456, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2071-1050/14/16/10456> . Acesso em: 5 abr. 2023.

BRASIL. INSTRUÇÃO NORMATIVA N° 110, DE 24 DE NOVEMBRO DE 2020. DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO, Brasília, DF, 2020.

BULAK, Piotr et al. *Hermetia illucens* as a new and promising species for use in entomoremediation. **Science of The Total Environment**, v. 633, p. 912–919, 2018. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969718310118>. Acesso em: 3 jul. 2022.

CAPARROS MEGIDO, Rudy et al. Consumer acceptance of insect-based alternative meat products in Western countries. **Food Quality and Preference**, v. 52, p. 237–243, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodqual.2016.05.004>.

CARUSO, Domenico et al. Technical handbook of domestication and production of Diptera Black Soldier Fly (BSF), *Hermetia illucens*, **Stratiomyidae**, 2013. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/321527856\\_Technical\\_handbook\\_of\\_domestication\\_and\\_production\\_of\\_Diptera\\_Black\\_Soldier\\_Fly\\_BSF\\_Hermetia\\_illucens\\_Stratiomyidae](https://www.researchgate.net/publication/321527856_Technical_handbook_of_domestication_and_production_of_Diptera_Black_Soldier_Fly_BSF_Hermetia_illucens_Stratiomyidae). Acesso em: 4 jul. 2022.

CHOI, Cheong Rak et al. Chitooligosaccharides decreases plasma lipid levels in healthy men. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 63, n. 1, p. 103–106, 2011. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/09637486.2011.602051> . Acesso em: 5 abr. 2023.

ČIČKOVÁ, Helena et al. The use of fly larvae for organic waste treatment. **Waste Management**, v. 35, p. 68–80, 2015. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X14004486> . Acesso em: 29 jun. 2022.



DELONG, D.M. Man in a world of insects. **Ohio Journal of Science**, v. 60, n. 4, p. 193–206, 1960.

DICKIE, Flora; MIYAMOTO, Monami; (TILLY) COLLINS, C. Matilda. The Potential of Insect Farming to Increase **Food Security**. In: **EDIBLE INSECTS**. 2019. Disponível em: <https://www.intechopen.com/online-first/the-potential-of-insect-farming-to-increase-food-security>. Acesso em: 20 nov. 2022.

EFSA SCIENTIFIC COMMITTEE. Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. **EFSA Journal**, v. 13, n. 10, 2015. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4257>. Acesso em: 18 abr. 2024.

EL KNIDRI, Hakima et al. Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 85, p. 377–386, 2018. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30172808>. Acesso em: 5 dez. 2023.

EUROPEAN UNION. Commission Regulation (EU) 2017/893 of 24 May 2017. **Official Journal of the European Union**, v. L 138/92, 2017. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/HTML/?uri=CELEX:32017R0893&qid=1713537748085>. Acesso em: 18 abr. 2024.

EUROPEAN UNION. Regulation (EU) 2015/2283 of the European Parliament and of the Council of 25 november 2015. **Official Journal of the European Union**, v. L 327/1, 2015. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/HTML/?uri=CELEX:32015R2283&qid=1713534514517>. Acesso em: 18 abr. 2024.

EWALD, Nils et al. Fatty acid composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) – Possibilities and limitations for modification through diet. **Waste Management**, v. 102, p. 40–47, 2020. Disponível em: Acesso em: 21 nov. 2022.

FAN, Zhaoqian et al. Activity of chitin/chitosan/chitosan oligosaccharide against plant pathogenic nematodes and potential modes of application in agriculture: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 306, 2023. Disponível em: Acesso em: 4 abr. 2023.

FINKE, Mark D. Complete Nutrient Content of Four Species of Feeder Insects. **Zoo Biology**, [s. l.], v. 32, n. 1, p. 27–36, 2013.

FINKE, Mark D. Estimate of chitin in raw whole insects. **Zoo Biology**, [s. l.], v. 26, n. 2, p. 105–115, 2007. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/zoo.20123>. Acesso em: 4 maio 2022.

FINKE, Mark D. Nutrient Content of Insects. **Encyclopedia of Entomology**, 2006. p. 1563–1575. Disponível em: [http://link.springer.com/10.1007/0-306-48380-7\\_2920](http://link.springer.com/10.1007/0-306-48380-7_2920). Acesso em: 20 jun. 2022.

FLACHOWSKY, G. Efficiency of Energy and Nutrient Use in the Production of Edible Protein of Animal Origin. **Journal of Applied Animal Research**, v. 22, n. 1, p. 1–24, 2002. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09712119.2002.9706374>. Acesso em: 17 jul. 2023.

FRIEDMAN, Mendel; JUNEJA, Vijay K. Review of antimicrobial and antioxidative activities of chitosans in food. **Journal of food protection**, v. 73, n. 9, p. 1737–61, 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20828484>. Acesso em: 4 abr. 2023.

FSIN AND GLOBAL NETWORK AGAINST FOOD CRISES. **Global Report on Food Crises 2023**. Rome. GRFC, 2023.

GBENEBOR, O. P. et al. Organic and mineral acid demineralizations: effects on crangon and Liocarcinus vernalis–sourced biopolymer yield and properties. **Journal of Taibah University for Science**, v. 12, n. 6, p. 837–845, 2018. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/16583655.2018.1525845>. Acesso em: 11 jan. 2023.

GILLETT, R. Global study of shrimp fisheries. **FAO Fisheries Technical Paper**. No. 475, Rome, 2008.

GUARNIERI, Anna et al. Antimicrobial properties of chitosan from different developmental stages of the bioconverter insect *Hermetia illucens*. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 8084, 2022. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-022-12150-3>. Acesso em: 15 fev. 2023.

HAHN, Thomas et al. Chitosan production with larval exoskeletons derived from the insect protein production. **Journal of Biotechnology**, v. 310, p. 62–67, 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168165619309514>. Acesso em: 10 jan. 2023.

HAHN, Thomas et al. Purification of Chitin from Pupal Exuviae of the Black Soldier Fly. **Waste and Biomass Valorization**, v. 13, n. 4, p. 1993–2008, 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s12649-021-01645-1>. Acesso em: 11 jan. 2023.

HALLORAN, Afton et al. Life cycle assessment of edible insects for food protein: A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 36, n. 4, p. 1–13, 2016.

HARNDEN, Laura M.; TOMBERLIN, Jeffery K. Effects of temperature and diet on black soldier fly, *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae), development. **Forensic Science International**, v. 266, n. 3, p. 109–116, 2016.

HARTMANN, Christina; SIEGRIST, Michael. Becoming an insectivore: Results of an experiment. **Food Quality and Preference**, v. 51, p. 118–122, 2016.

HLONGWANE, Zabentungwa T.; SLOTOW, Rob; MUNYAI, Thinandavha C. Nutritional Composition of Edible Insects Consumed in Africa: **A Systematic Review**. **Nutrients**, v. 12, n. 9, p. 2786, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/12/9/2786/htm>. Acesso em: 5 maio 2022.

HLPE. Food losses and waste in the context of sustainable food systems. **A report by the High Level Panel of Experts on Food Security and Nutrition of the Committee on World Food Security**. Rome, June, p. 1–117, 2014.

KANG, M. S. et al. Isolation of chitin synthetase from *Saccharomyces cerevisiae*. Purification of an enzyme by entrapment in the reaction product. **Journal of Biological Chemistry**, v. 259, n. 23, p. 14966–14972, 1984. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925817426986>. Acesso em: 19 nov. 2023.

KAYA, Murat et al. Comparison of chitin structures isolated from seven Orthoptera species. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 797–805, 2015. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813014006369>. Acesso em: 11 jul. 2022.

KEMBOI, Violah et al. Biocontrol Potential of Chitin and Chitosan Extracted from Black Soldier Fly Pupal Exuviae against Bacterial Wilt of Tomato. **Microorganisms**, v. 10, n. 1, p. 165, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-2607/10/1/165>. Acesso em: 18 fev. 2023.

KHAYROVA, Adelya; LOPATIN, Sergey; VARLAMOV, Valery. Black Soldier Fly *Hermetia illucens* as a Novel Source of Chitin and Chitosan. **International Journal of Sciences**, v. 8, n. 04, p. 81–86, 2019. Disponível em: <http://www.ijsciences.com/pub/article/2015>. Acesso em: 11 jul. 2022.

KHAYROVA, Adelya; LOPATIN, Sergei; VARLAMOV, Valery. Obtaining Chitin/Chitosan-Melanin Complexes from Black Soldier Fly *Hermetia Illucens*. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 809, n. 1, e012020, 2020. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/809/1/012020>. Acesso em: 22 fev. 2023.

KOUŘIMSKÁ, Lenka; ADÁMKOVÁ, Anna. Nutritional and sensory quality of edible insects. **NFS Journal**, v.4, p 22-26, 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352364616300013>. Acesso em: 13 fev. 2023

KRAMER, Karl J.; KOGA, Daizo. Insect chitin: Physical state, synthesis, degradation and metabolic regulation. **Insect Biochemistry**, v. 16, n. 6, p. 851–877, 1986. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0020179086900594>. Acesso em: 19 nov. 2023.

LALANDER, Cecilia H et al. High waste-to-biomass conversion and efficient *Salmonella* spp. reduction using black soldier fly for waste recycling. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, n. 1, p. 261–271, 2015.

LÁREZ VELÁSQUEZ, Cristóbal. Chitosan and its applications in oenology. **OENO One**, v. 57, n. 1, p. 121–132, 2023. Disponível em: <https://oeno-one.eu/article/view/7262>. Acesso em: 4 abr. 2023.

LI, Qing et al. From organic waste to biodiesel: Black soldier fly, *Hermetia illucens*, makes it feasible. **Fuel**, v. 90, n. 4, p. 1545–1548, 2011. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016236110006307>. Acesso em: 3 jul. 2022.

LIU, Qiaolin et al. Black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae reduce Escherichia coli in dairy manure. **Environmental Entomology**, v. 37, n. 6, p. 1525–1530, 2008.

LIU, Shaofang et al. Extraction and Characterization of Chitin from the Beetle *Holotrichia parallela* Motschulsky. **Molecules**, v. 17, n. 4, p. 4604–4611, 2012. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1420-3049/17/4/4604>. Acesso em: 10 jan. 2023.

LU, Shengyong et al. Nutritional Composition of Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens* L.) and Its Potential Uses as Alternative Protein Sources in Animal Diets: A Review. **Multidisciplinary Digital Publishing Institute**, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2075-4450/13/9/831/htm>. Acesso em: 21 nov. 2022.

MAHMOUD, N.S.; GHALY, A.E.; ARAB, F. Unconventional Approach for Demineralization of Deproteinized Crustacean Shells for Chitin Production. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 1–9, 2007. Disponível em: <http://www.thescipub.com/abstract/?doi=ajbbsp.2007.1.9>. Acesso em: 11 jan. 2023.

MAJTÁN, Juraj et al. Isolation and characterization of chitin from bumblebee (*Bombus terrestris*). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 40, n. 3, p. 237–241, 2007. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813006002352>. Acesso em: 10 jan. 2023.

MAZAC, Rachel; JÄRVIÖ, Natasha; TUOMISTO, Hanna L. Environmental and nutritional Life Cycle Assessment of novel foods in meals as transformative food for the future. **The Science of the total environment**, v. 876, p. 162796, 2023. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36914137>. Acesso em: 17 jul. 2023.

MEHLHORN, Heinz. Peritrophic Membranes. **Encyclopedia of Parasitology**. v. 30, p. 2131–2132, 2016. Disponível em: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-662-43978-4\\_2374](http://link.springer.com/10.1007/978-3-662-43978-4_2374). Acesso em: 12 jul. 2022.

MEI, Qi xiang et al. Pretreatment with chitosan oligosaccharides attenuate experimental severe acute pancreatitis via inhibiting oxidative stress and modulating intestinal homeostasis. **Acta Pharmacologica Sinica** 2021 42:6, v. 42, n. 6, p. 942–953, 2021. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41401-020-00581-5>. Acesso em: 5 abr. 2023.

MERZENDORFER, Hans. The cellular basis of chitin synthesis in fungi and insects: Common principles and differences. **European Journal of Cell Biology**, v. 90, n. 9, p. 759–769, 2011. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0171933511000872>. Acesso em: 11 jul. 2022.

MESHULAM-PASCOVICHE, Dafna et al. Big opportunities for tiny bugs: Processing effects on the techno-functionality and digestibility of edible insects. **Trends in Food Science & Technology**, v. 122, p. 265–274, 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224422000607>. Acesso em: 11 jul. 2022.

MEYER-ROCHOW, Victor Benno et al. Chemical Composition, Nutrient Quality and Acceptability of Edible Insects Are Affected by Species, Developmental Stage, Gender, Diet, and Processing Method. **Foods**, n. 5, p. 1036, 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224422000607>. Acesso em: 19 jul. 2022.

MOUSSIAN, Bernard. Recent advances in understanding mechanisms of insect cuticle differentiation. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 40, n. 5, p. 363–375, 2010. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0965174810000706>. Acesso em: 17 jan. 2024.

M.TH. BEENAKKERS, Ad; VAN DER HORST, Dick J.; VAN MARREWIK, Wil J.A. Insect lipids and lipoproteins, and their role in physiological processes. **Progress in Lipid Research**, v. 24, n. 1, p. 19–67, 1985. Disponível em: Acesso em: 10 jul. 2023.

N. MENGATTO, Luciano; M. HELBLING, Ignacio; A. LUNA, Julio. Recent Advances in Chitosan Films for Controlled Release of Drugs. **Recent Patents on Drug Delivery & Formulation**, v. 6, n. 2, p. 156–170, 2012. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1872-2113&volume=6&issue=2&page=156>. Acesso em: 5 abr. 2023.

NAKAGAKI, Barbara J.; DEFOLIART, Gene R. Comparison of Diets for Mass-Rearing *Acheta domesticus* (Orthoptera: Gryllidae) as a Novelty Food, and Comparison of Food Conversion Efficiency with Values Reported for Livestock. **Journal of Economic Entomology**, v. 84, n. 3, p. 891–896, 1991. Disponível em: <http://academic.oup.com/jee/article/84/3/891/2215639/Comparison-of-Diets-for-MassRearing-Acheta>. Acesso em: 17 jul. 2023.

OKAWA, Yoshio et al. Comparative Study of Protective Effects of Chitin, Chitosan, and N-Acetyl Chitohexaose against *Pseudomonas aeruginosa* and *Listeria monocytogenes* Infections in Mice. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 26, n. 6, p. 902–904, 2003. Disponível em: [http://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/26/6/26\\_6\\_902/\\_article](http://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/26/6/26_6_902/_article). Acesso em: 4 abr. 2023.

ORDOÑEZ-ARAQUE, Roberto; EGAS-MONTENEGRO, Erika. Edible insects: A food alternative for the sustainable development of the planet. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, v. 23, p. 100304, 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1878450X21000032>. Acesso em: 16 nov. 2022.

ORDOÑEZ-ARAQUE, Roberto; QUISHPILLO-MIRANDA, Nadine; RAMOS-GUERRERO, Luis. Edible Insects for Humans and Animals: Nutritional Composition and an Option for Mitigating Environmental Damage. **Insects**, v. 13, n. 10, p. 944, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2075-4450/13/10/944>. Acesso em: 16 nov. 2022.

PAKIZEH, Majid; MORADI, Ali; GHASSEMI, Toktam. Chemical extraction and modification of chitin and chitosan from shrimp shells. **European Polymer Journal**, v. 159, p. 110709, 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014305721004432>. Acesso em: 10 jan. 2023.

PARODI, Alejandro et al. Bioconversion efficiencies, greenhouse gas and ammonia emissions during black soldier fly rearing – A mass balance approach. **Journal of Cleaner Production**, v. 271, p. 122488, 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S095965262032535X>. Acesso em: 5 abr. 2023.

PURKAYASTHA, Debasree; SARKAR, Sudipta. Physicochemical Structure Analysis of Chitin Extracted from Pupa Exuviae and Dead Imago of Wild Black Soldier Fly (*Hermetia*

illucens). **Journal of Polymers and the Environment**, v. 28, n. 2, p. 445–457, 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10924-019-01620-x>. Acesso em: 21 fev. 2023.

RAHMAN, Md Mahfuzur; BYANJU, Bibek; LAMSAL, Buddhi P. Protein, lipid, and chitin fractions from insects: Method of extraction, functional properties, and potential applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1–17, 2023. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2023.2168620>. Acesso em: 22 abr. 2023.

RINAUDO, Marguerite. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science**, v. 31, n. 7, p. 603–632, 2006. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079670006000530>. Acesso em: 8 maio 2022.

SAWADA, Daisuke et al. Direct determination of the hydrogen bonding arrangement in anhydrous  $\beta$ -chitin by neutron fiber diffraction. **Biomacromolecules**, v. 13, n. 1, p. 288–291, 2012.

SHAHBANDEH, M. Edible insects: forecast global market value **Statista**. 2018. Disponível em: <https://www.statista.com/statistics/882321/edible-insects-market-size-global/>. Acesso em: 21 nov. 2022.

SHELOMI, Matan. Nutrient Composition of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*). **African Edible Insects as Alternative Source of Food, Oil, Protein and Bioactive Components**, p. 195–212, 2020. Disponível em: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-32952-5\\_13](http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-32952-5_13). Acesso em: 28 jun. 2022.

SHUMO, Marwa et al. The nutritive value of black soldier fly larvae reared on common organic waste streams in Kenya. **Scientific Reports** 2019 9:1, v. 9, n. 1, p. 1–13, 2019.

SMIL, Vaclav. Worldwide transformation of diets, burdens of meat production and opportunities for novel food proteins. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 30, n. 3, p. 305–311, 2002. Disponível em: Acesso em: 17 jul. 2023.

SNELLING, Edward P.; SEYMOUR, Roger S.; RUNCIMAN, Sue. Moulting of insect tracheae captured by light and electron-microscopy in the metathoracic femur of a third instar locust *Locusta migratoria*. **Journal of Insect Physiology**, v. 57, n. 9, p. 1312–1316, 2011. Disponível em: Acesso em: 11 jul. 2022.

SOETEMANS, Lise; UYTTEBROEK, Maarten; BASTIAENS, Leen. Characteristics of chitin extracted from black soldier fly in different life stages. **International journal of biological macromolecules**, v. 165, n. Pt B, p. 3206–3214, 2020. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33181213>. Acesso em: 9 abr. 2023.

SPRANGHERS, Thomas et al. Nutritional composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on different organic waste substrates. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 8, p. 2594–2600, 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.8081>. Acesso em: 21 nov. 2022.

STÅHLS, Gunilla et al. The puzzling mitochondrial phylogeography of the black soldier fly (*Hermetia illucens*), the commercially most important insect protein species. **BMC Evolutionary Biology**, v. 20, n. 1, p. 1–10, 2020.

TEJAS CHAUDHARY. **Edible Insects Market Size, Share, Analysis, Industry, Report**, 2024. Disponível em: <[https://www.marketresearchfuture.com/reports/edible-insects-market-4902?utm\\_term=&utm\\_campaign=&utm\\_source=adwords&utm\\_medium=ppc&hsa\\_acc=2893753364&hsa\\_cam=19912237177&hsa\\_grp=148712481999&hsa\\_ad=659589502539&hsa\\_src=g&hsa\\_tgt=dsa-2081392595431&hsa\\_kw=&hsa\\_mt=&hsa\\_net=adwords&hsa\\_ver=3&gad\\_source=1](https://www.marketresearchfuture.com/reports/edible-insects-market-4902?utm_term=&utm_campaign=&utm_source=adwords&utm_medium=ppc&hsa_acc=2893753364&hsa_cam=19912237177&hsa_grp=148712481999&hsa_ad=659589502539&hsa_src=g&hsa_tgt=dsa-2081392595431&hsa_kw=&hsa_mt=&hsa_net=adwords&hsa_ver=3&gad_source=1)>. Acesso em: 18 maio. 2024.

TAN, Yun Nian; CHIN, Yi Ling; CHEN, Wei Ning. Comparison of Sustainable Lipid and Protein Removal Methods for the Isolation of Insect Chitin from Black Soldier Fly Exoskeleton. **ACS Food Science & Technology**, v. 1, n. 4, p. 698–706, 2021. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acfoodscitech.0c00104>. Acesso em: 11 jan. 2023.

TAN, Yun Nian; LEE, Pei Pei; CHEN, Wei Ning. Dual Extraction of Crustacean and Fungal Chitosan from a Single *Mucor circinelloides* Fermentation. **Fermentation**, v. 6, n. 2, p. 40, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2311-5637/6/2/40>. Acesso em: 8 abr. 2023.

TAN, Hui Shan Grace; VAN DEN BERG, Eva; STIEGER, Markus. The influence of product preparation, familiarity and individual traits on the consumer acceptance of insects as food. **Food Quality and Preference**, v. 52, p. 222–231, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodqual.2016.05.003>.

TOMBERLIN, Jeffery K; ADLER, Peter H; MYERS, Heidi M. Development of the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) in relation to temperature. **Environmental entomology**, v. 38, n. 3, p. 930–4, 2009. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19508804>. Acesso em: 3 jul. 2022.

TRIUNFO, Micaela et al. Characterization of chitin and chitosan derived from *Hermetia illucens*, a further step in a circular economy process. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 6613, 2022. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-022-10423-5>. Acesso em: 14 out. 2022.

UNITED NATIONS. *Global Population Growth and Sustainable Development*. New York: 2021.

VAN HUIS, Arnold. Potential of insects as food and feed in assuring food security. **Annual review of entomology**, v. 58, p. 563–83, 2013. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23020616>. Acesso em: 10 jul. 2023.

VAN HUIS, Arnold; OONINCX, Dennis G. A. B. The environmental sustainability of insects as food and feed. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 37, n. 5, p. 43, 2017. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s13593-017-0452-8>. . Acesso em: 10 jul. 2023.

VAN SOEST, P. J., & ROBERTSON, J. B. What is Fibre and Fibre in Food? **Nutrition Reviews**, n. 35(3), p. 12–22, 1977. <https://doi.org/10.1111/J.1753-4887.1977.TB06532.X>

WADE, Mackenzie; HOELLE, Jeffrey. A review of edible insect industrialization: Scales of production and implications for sustainability. **IOP Publishing**, v. 15, e12301, 2019. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1748-9326/aba1c1>. Acesso em: 17 jul. 2023.

YOUNES, Islem et al. Chitin and chitosan preparation from shrimp shells using optimized enzymatic deproteinization. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 12, p. 2032–2039, 2012. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359511312003017>. Acesso em: 10 jan. 2023.

ZHONG, Hai ying; WEI, Cong; ZHANG, Ya lin. Gross morphology and ultrastructure of salivary glands of the mute cicada *Karenia caelatata* Distant (Hemiptera: Cicadoidea). **Micron**, v. 45, p. 83–91, 2013. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0968432812002521>. Acesso em: 11 jul. 2022.

ZHOU, Hualu et al. Chitin nanocrystals reduce lipid digestion and  $\beta$ -carotene bioaccessibility: An in-vitro INFOGEST gastrointestinal study. **Food Hydrocolloids**, v. 113, p. 106494, 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X2032868X>. Acesso em: 11 jul. 2022.

ZHOU, Dao; WANG, Hongyu; GUO, Shenglian. Preparation of Cellulose/Chitin Blend Materials and Influence of Their Properties on Sorption of Heavy Metals. **Sustainability**, v. 13, n. 11, p. 6460, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2071-1050/13/11/6460/htm>. Acesso em: 27 fev. 2024.

ZŁOTKO, Katarzyna et al. Isolation of chitin from black soldier fly (*Hermetia illucens*) and its usage to metal sorption. **Polymers**, v. 13, n. 5, p. 818, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/13/5/818/htm>. Acesso em: 22 fev. 2023.



# CAPÍTULO I: AVANÇOS NA EXTRAÇÃO DE QUITINA DA *HERMETIA ILLUCENS* (DIPTERA: STRATIOMYIDAE)

Capítulo será submetido à revista: *Trends in Food Science & Technology*

**Autores:** Joyce Cheve de Sá joycecheve@ufrj.br<sup>ab</sup>, Vanessa Sales de Oliveira vanessasdo@bol.com.br<sup>ab</sup>, Vanessa Ricas Biancardi nebiancardi@ufrj.br<sup>ab</sup>, Maria Clara Fonte Vieira de Araujo mariaclara.araujo@ufrj.br<sup>a</sup>, Vinícius Pimentel Silva pimentelzotec@gmail.com<sup>d</sup>, Maria Ivone Martins Jacintho Barbosa mbarbosa@ufrj.br<sup>ab</sup>, Antonio Renato Bigansolli<sup>c</sup>, José Lucena Barbosa Junior lucena@ufrj.br<sup>ab</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, km 7, s/n, Seropédica, RJ, Brasil.

<sup>b</sup> Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, Brasil.

<sup>c</sup> Departamento de Engenharia Química, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, km 7, s/n, Seropédica, RJ, Brasil.

<sup>d</sup> Departamento de Nutrição Animal e Pastagens, Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, km 7, s/n, Seropédica, RJ, Brasil.

## Resumo

**Antecedentes:** A *Hermetia illucens* L. (Diptera: Stratiomyidae), conhecida como Black Soldier Fly (BSF) é um inseto comestível com potencial para extração de quitina. Entre as diversas áreas de aplicações desse polissacarídeo, o setor de alimentos apresenta ampla oportunidade. Para tanto, se faz necessário melhor compreensão dos métodos de extração.

**Escopo e Abordagem:** Visando a utilização e a valorização do exoesqueleto da BSF, essa revisão apresenta os processos utilizados para a extração de quitina do exoesqueleto das diversas fases da *Hermetia illucens*, assim como suas eficiências. Além disso, são apresentadas novas perspectivas de extração de quitina da *Hermetia illucens*, assim como potencial uso em alimentos.

**Principais Resultados e Conclusões:** Os processos para extração de quitina da *Hermetia illucens* podem ser químicos, físicos e/ou biológicos, sendo os químicos mais aplicados. A eficiência de extração varia conforme a fase de vida da BSF e os protocolos de extrações utilizados, onde o exoesqueleto passa por pré-tratamentos, desengorduramento, desmineralização, desproteíntização e despigmentação. As condições de extrações da quitina afetam suas características químicas, físicas e estrutural, determinando sua aplicação de acordo com a pureza, grau de acetilação, cristalinidade e peso molecular. A quitina das diversas fases da *Hermetia illucens* e seus derivados possuem potencial para aplicações em alimentos. Porém, são necessários novos estudos para elucidar as condições adequadas para o isolamento da quitina de cada uma das fases da *Hermetia illucens*.

**Palavras-chave:** Polissacarídeo, inseto comestível, Black Soldier Fly, economia circular, quitosana, química verde

## 1. INTRODUÇÃO

Diante do atual cenário de insegurança alimentar (FSIN and Global Network Against Food Crises, 2023), os insetos comestíveis ganham atenção global como fonte emergente e sustentável para a alimentação humana e animal. Os insetos possuem a habilidade de converter biomassas orgânicas de descarte em derivados de valor agregado, contendo proteínas, gorduras, quitina e micronutrientes (Leni, Caligiani e Sforza, 2021). A indústria de produção de insetos cresce conforme o mercado avança e novas investigações científicas e perspectivas de utilização desses animais surgem, assim como o uso do exoesqueleto como fonte de quitina (Rahman, Byanju e Lamsal, 2023).

Quimicamente, a quitina é um polissacarídeo linear, não carregado, composto de numerosas unidades de N-acetil- $\beta$ -D-glucosamina (GlcNAc) unidas por ligações glicosídicas  $\beta$ -1,4 (Muzzarelli, 1977). Porém, em sua forma nativa, a quitina é encontrada como um heteropolímero de unidades de GlcNAc e glucosamina (GlcN) distribuídas aleatoriamente e em proporções que variam dependendo da sua origem (Zhu *et al.*, 2016). Além desses polímeros serem encontrados em insetos, crustáceos, e outros artrópodes, eles estão presentes em fungos e leveduras. Sua síntese pode ser realizada por diferentes tipos de células e envolve um número definido de reações enzimáticas que convertem diferentes açúcares em cadeias lineares de quitina. Nos insetos, essas células incluem células epidérmicas, traqueais e do intestino médio, onde a quitina é secretada no espaço extracelular, montadas em microfibrilas e organizadas nas paredes celulares, cutículas e matrizes peritróficas (Yu *et al.*, 2024). As estruturas cuticulares apresentam a função de barreira física e serve como um exoesqueleto para o suporte estrutural dos insetos. Sua composição varia conforme o estágio de desenvolvimento e a parte do corpo desses animais, sendo composta principalmente por quitina, proteínas cuticulares, lipídios e melanina (Khayrova *et al.*, 2021; Rahman *et al.*, 2023).

A quitina e seus derivados possuem valor econômico nas indústrias alimentícia, farmacêutica, têxtil e cosmética. A extração da quitina de insetos em suas diversas fases tem sido estudada como alternativa a quitina comercial obtida de crustáceos (Pedrazzani *et al.*, 2024; Rahman *et al.*, 2023). A *Hermetia illucens* L. (Diptera, Stratiomyidae), conhecida como Black Soldier Fly (BSF), é um dos insetos com potencial para a extração de quitina. Essa espécie despertou o interesse da comunidade científica, por ser capaz de biodegradar resíduos orgânicos em biomassas ricas em proteína, gordura, quitina e minerais (Eggink e Dalsgaard, 2023). Além dos aspectos positivos de sustentabilidade e bioconversão, a produção da quitina proveniente da BSF apresenta vantagens em relação a extração convencional devido ao fato de não ser afetada pelas variações sazonais da produção dos crustáceos. Na logística de abastecimento de áreas distantes do litoral (Abo Elsoud *et al.*, 2022). Bem como no processamento, já que os insetos contêm menos compostos inorgânicos quando comparado aos crustáceos, tradicionalmente utilizados (Ordoñez-Araque, Quishpillo-Miranda e Ramos-Guerrero, 2022; Pedrazzani *et al.*, 2024). Diante disso, a BSF é alternativa atraente, inovadora para o gerenciamento de resíduos orgânicos e promissora fonte de quitina, se encaixando no conceito de economia circular.

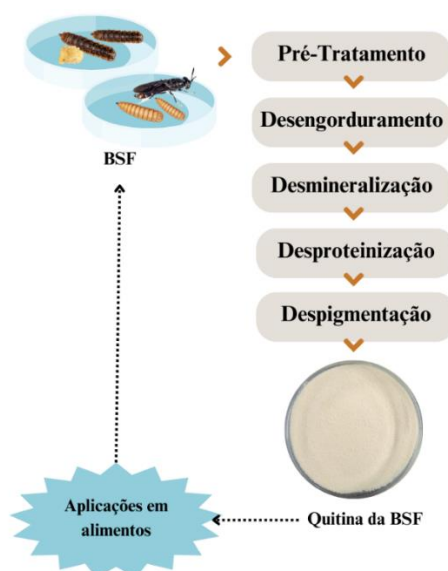
A quitina se encontra em um complexo quitina-melanina na *Hermetia illucens* (Khayrova A e Lopatin S, 2022), em quantidades que variam conforme seu crescimento e alimentação (Rampure, Velayudhannair e Marimuthu, 2023; Soetemans, Uyttbroek e Bastiaens, 2020). Apesar do potencial da utilização do exoesqueleto de diversas fases da BSF como fonte de quitina, os processos de extração ainda não foram estabelecidos ou otimizados como os de crustáceos. Estudos sobre o efeito dos métodos de extração de quitina da BSF sugeriram que as condições de extrações afetam diretamente nas características químicas e físicas da quitina, determinando sua aplicação de acordo com sua pureza, grau de acetilação, cristalinidade, peso molecular, estabilidade térmica e mecânica (Nouri *et al.*, 2016). Os métodos químicos foram

os mais investigados, principalmente para as etapas de desproteínização e desmineralização. Outros métodos, como os biológicos e físicos foram poucos explorados, mas apresentam potencial para a extração de quitina da *Hermetia illucens*.

Diante da importância da compreensão dos métodos de extração estudados para a quitina da BSF e para o desenvolvimento e exploração de novos métodos, essa revisão teve como objetivo fornecer os recentes progressos para a extração de quitina da *Hermetia illucens*. Ademais, apresentar os potenciais uso da quitina de insetos e seus derivados em alimentos.

## 2. EXTRAÇÃO DE QUITINA DA *HERMETIA ILLUCENS*

A extração de quitina da BSF pode ser realizada por métodos químicos, físicos e/ou biológicos (Tabela 1) com o objetivo de eliminar outros componentes presentes no exoesqueleto da BSF, tais como: lipídios, minerais, proteínas e as melaninas. Embora existam métodos biológicos e físicos para a extração de quitina da BSF, a principal metodologia aplicada é a química, que envolve etapas de pré-tratamento, desengorduramento, desmineralização, desproteínização e despigmentação (Figura 2.1).



**Figura 2 1** - Etapas de extração da quitina da *Hermetia illucens*

**Fonte** - Elaboração própria

A sequência dos processos de extração impacta no rendimento da quitina da BSF. A extração da fração lipídica, chamada de desengorduramento, ocorre no início do processo devido à repulsão hidrofóbica que a gordura ocasiona nas etapas subsequentes, interferindo na interação dos agentes químicos com a matéria-prima (Tan, Chin e Chen, 2021). Tan, Chin e Chen, (2021) relataram que a extração de proteínas (desproteínização) antes da retirada dos minerais (desmineralização) diminuiu o teor de quitina das exúvias da pupa, de 69,4% para 65,4% em massa. Isso ocorre devido à degradação da camada de proteína que reveste a matriz do material, expondo a quitina ao tratamento ácido e ocasionando sua hidrólise (Lagat *et al.*, 2021). Apesar disso, existem estudos onde as etapas de extrações ocorrem simultaneamente, como relatado por Khayrova, Lopatin e Varlamov, (2020), que utilizaram NaOH 50% (p/v) e obtiveram boa eficiência com a extração simultânea dos lipídios e das proteínas das exúvias da pupa e moscas adultas da BSF. Assim como nas extrações biológicas, onde as etapas de desmineralização e desproteínização também podem ser realizadas simultaneamente (Younes e Rinaudo, 2015).

O rendimento de extração de quitina também é impactado pelas diferentes fases de vida da BSF (Brigode *et al.*, 2020; Soetemans, Uyttebroek e Bastiaens, 2020; Wang *et al.*, 2020), pelos métodos aplicados (Caligiani *et al.*, 2018; Pedrazzani *et al.*, 2024) e pelas condições de extração utilizadas (Zhou *et al.*, 2019) (Tabela 2.1). Em crustáceos o rendimento de extração de quitina chega a 30% em massa (Lee *et al.*, 2022). Para as diversas fases do ciclo de vida de BSF, o rendimento de extração de quitina varia entre 2 e 59% em relação a massa inicial. A discrepância entre rendimentos pode ser relacionada com a ineficiência do método de extração aplicado, resultando em valores superestimados devido à presença de outros componentes como lipídios, minerais e proteína.

Alguns parâmetros físico-químicos e estrutural definem a qualidade e aplicação da quitina. Como observado na Tabela 2.1, também são diretamente afetados pelo método de extração e a fonte de quitina. O grau de acetilação é a proporção de unidades de glucosamina acetiladas e desacetiladas, diferenciando a quitina de sua forma desacetilada, a quitosana (Mohan *et al.*, 2020). Essa proporção influencia na solubilidade da quitina, na viscosidade, na cristalinidade e nas propriedades da solução, devido ao grupo de amino livre da molécula desacetilada. Para as diversas fases da *Hermetia illucens*, é possível encontrar diversos graus de desacetilação, com valores entre 25 e 95 %.

Outro parâmetro importante para a quitina é o índice de cristalinidade (CrI), que depende de sua natureza cristalina ou amorfa, propriedade significativa na determinação da área de aplicação. A quitina com baixo CrI é caracterizada como amorfa e possui propriedades absorventes, enquanto a alta cristalinidade pode proporcionar propriedades mecânicas relevante, como a alta resistência mecânica (Mohan *et al.*, 2020; Triunfo *et al.*, 2021). O índice de cristalinidade (CrI) da quitina da BSF para as larvas, pré-pupas, exúvias da pupa e moscas adultas foram respectivamente 33,09 %, 35,14 %, 68,44 % e 87,92 % (Wang *et al.*, 2020). Pedrazzani *et al.*, (2024), obtiveram que o uso de moagem mecanoquímica diminuiu o CrI da larva da BSF de 27,0 % para 14,4 %.

O peso molecular (Mw) afeta as propriedades físico-químicas e a atividade biológica da quitina. O peso molecular elevado reduz a solubilidade da molécula em água e aumenta a viscosidade, direcionando ou limitando o uso em algumas aplicações (Knidri, El *et al.*, 2018b). Para o peso molecular da quitina da mosca adulta, Khayrova, Lopatin e Varlamov, (2019) observaram o valor de 160 kDa, enquanto Triunfo *et al.*, (2022) descreveram valores de 62 kDa e 36 kDa, esse último quando aplicado uma etapa de despigmentação com o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Para outras fases, foram observados pesos moleculares menores, como para a exúvia da muda com 28 a 31 kDa, a larva com 21 a 92 kDa e a exúvia da pupa com 35 a 55 kDa (Hahn, Roth, *et al.*, 2020).

Para a quitina comercial de crustáceos MP Biomedicals (Irvine, California, USA), o grau de desacetilação é de 92%, a CrI de 79% e o peso molecular de 376 kDa (Triunfo *et al.*, 2022). Diversos protocolos de extração de variadas fases da BSF alcançaram valores parecidos para o grau de desacetilação e de cristalização da quitina comercial, mostrando o potencial da quitina da *Hermetia illucens* para a substituição parcial da quitina de crustáceos. A quitina da BSF e seus derivados podem apresentar características únicas em relação a quitina comercial de crustáceos, como baixo peso molecular (<150 kDa), que proporciona melhores propriedades antibacterianas (Triunfo *et al.*, 2022). Outro diferencial é o complexo quitina-melanina, que pode aumentar a atividade biológica da quitina, proporcionando ampla gama de aplicações como efeito fotoprotetor e antioxidante (Khayrova *et al.*, 2021).

A pureza da quitina obtida, ou seja, a eficiência da remoção dos compostos químicos indesejáveis, também é parâmetro que define a qualidade da quitina. De acordo com sua aplicação exige-se quitina purificada, como em aplicações alimentícias e médicas, onde as proteínas podem causar reações alérgicas (Delfino *et al.*, 2024).

**Tabela 2 1-** Diferentes métodos de extração e seus efeitos na qualidade da quitina obtida a partir da *Hermetia illucens*.

Matéria-prima (Fase da BSF)	Método de isolamento	Rendimento o <sup>a</sup> (%)	Teor de quitina (%)	Peso molecular (kDa)	Grau de acetilação (%)	Grau de desacetilação (%)	CrI (%)	Fonte
Larva	Método químico (HCl, NaOH, KMnO <sub>4</sub> )	NA	NA	NA	250,0	NA	35,0	Waško et al., (2016)
Mosca adulta	Método químico (HCl, NaOH)				179,0		24,9	
Pré-pupa	Método químico (NaOH, HCl)							Caligiani et al., (2018)
Pré-pupa	Método químico (fracionamento de Osborne)							
Pré-pupa	Método enzimático (Alcalase)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
Pré-pupa	Método enzimático (pepsina)							
Pré-pupa	Método enzimático (papaína)							
Pré-pupa	Método enzimático (pancreatina)							
Pré-pupa	Com exoesqueleto					63,25		
Pré-pupa	Sem o exoesqueleto	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
Pré-pupa	Método biológico ( <i>Bacillus subtilis</i> )					44,11		
Pré-pupa	Método químico (cloreto de colina, Ácido láctico, 50 °C)	23,33	88,59			84,75		Zhou et al., (2019)
Pré-pupa	Método químico (cloreto de colina, Ácido láctico, 80 °C)	16,40	91,34			70,34		
Pré-pupa	Método químico (cloreto de colina, ácido butírico, 50 °C)	22,26	74,66			82,49		
Pré-pupa	Método químico (cloreto de colina (ChCl), ácido butírico, 80 °C)	12,02	86,41	NA	NA	56,82	31,3 - 50,76	
Pré-pupa	Método químico (cloreto de colina, glicerina, 50 °C)	16,72	87,27			86,56		
Pré-pupa	Método químico (cloreto de colina, glicerina, 80 °C)	22,85	87,62			91,48		
Pré-pupa	Método químico (betaína, Ácido láctico, 50	25,70	84,21			88,29		

Pré-pupa	Método químico (betaína, Ácido láctico, 80 °C)	14,27	85,13			81,08		
Pré-pupa	Método químico (betaína, ácido butírico, 50 °C)	24,53	76,95			83,92		
Pré-pupa	Método químico (betaína, ácido butírico, 80 °C)	14,46	83,75			94,39		
Pré-pupa	Método químico (cloreto de colina, uréia, 50 °C)	26,02	88,14			74,55		
Pré-pupa	Método químico (cloreto de colina, uréia, 50 °C)	22,82	86,45			80,19		
Pré-pupa	Método químico (betaína, glicerina, 50 °C)	25,47	80,76			88,91		
Pré-pupa	Método químico (betaína, glicerina, 50 °C)	22,83	86,22			89,52		
Pré-pupa	Método químico (betaína, uréia, 50 °C)	26,71	83,29			88,01		
Pré-pupa	Método químico (betaína, uréia, 80 °C)	12,01	90,52			95,59		
Pré-pupa	Método químico (cloreto de colina, ácido oxálico, 50 °C)	23,25	84,06			90,70		
Pré-pupa	Método químico (cloreto de colina, ácido oxálico, 80 °C)	12,71	87,89			89,51		
Pré-pupa	Método químico (betaína, ácido oxálico, 50 °C)	22,85	87,19			84,17		
Pré-pupa	Método químico (betaína, ácido oxálico, 80 °C)	6,51	80,92			58,23		
Pré-pupa	Método químico (HCl, NaOH)	6,50	91,63			82,44	38,82	
Pré-pupa	NA	100,00	12,29			35,20	62,96	
Mosca adulta	Método químico (HCl, NaOH)	20,00	NA	160,00	NA	NA	NA	Khayrova, Lopatin e Varlamov, (2019)
Exúvia da muda	Método químico (ácido fórmico, NaOH), 80/800 g/mL, 140 °C, 3 h	8,00	83,00	28,00	NA	44,00	NA	Hahn, Roth, et al., (2020)
Exúvia da muda	Método químico (ácido fórmico, NaOH) 50/800 g/mL, 140 °C, 6 h	13,00	83,00	31,00		72,00		

Exúvia da muda	Método químico (ácido fórmico, NaOH) 60/800 g/mL, 120 °C, 3 h	16,00	83,00	29,00		43,00		
Exúvia da muda	Método químico (ácido fórmico, NaOH) 50/1000 g/mL, 4 °C-RT, 12 h	4,00	83,00	31,00		34,00		
Quitina comercial	NA	0,00	NA	28,00		74,00		
Pré-pupa	Método químico (HCl, KOH, NaOH)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	Jayanegara et al., (2020)
Larva	Método químico (HCl, NaOH, NaClO)	3,60					33,09	
Pré-pupa	Método químico (HCl, NaOH, NaClO)	3,10		NA	NA	NA	35,14	Wang et al., (2020)
Exúvia de pupa	Método químico (HCl, NaOH, NaClO)	14,10					68,44	
Mosca adulta	Método químico (HCl, NaOH, NaClO)	2,90					87,92	
Exúvia de pupa	Método químico (HCl, NaOH, KMnO <sub>4</sub> )		9,00		115,00	25,00	21,00	Purkayastha e Sarkar, (2020)
Mosca adulta	Método químico (HCl, NaOH, KMnO <sub>4</sub> )	NA	23,00	NA	86,00	49,00	49,00	
Exúvia de pupa	Método químico (HCl, NaOH)		26,00				74,00	
Larva	Método químico (HCl, NaOH)		21,00				61,00	
Mosca adulta	Método químico (HCl, NaOH)		8,00				78,00	
Exúvia de pupa	Método químico (FDA-LDA)	NA	21,00	NA	NA	NA	71,00	Brigode et al., (2020)
Larva	Método químico (FDA-LDA)		28,00				50,00	
Mosca adulta	Método químico (FDA-LDA)		8,00				39,00	
Quitina comercial			NA				86,80	
Exúvia de pupa	Método químico (HCl KOH, NaOH)							
Exúvia de pupa	Método químico (HCl KOH, NaOH)							
Exúvia de pupa	Método químico (HCl, NaOH)							Khayrova, Lopatin e Varlamov, (2020)
Exúvia de pupa	Método químico (HCl, NaOH)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
Mosca adulta	Método químico (HCl KOH, NaOH)							
Mosca adulta	Método químico (HCl KOH, NaOH)							
Mosca adulta	Método químico (HCl, NaOH)							

Mosca adulta	Método químico (HCl, NaOH)							
Larva	Método químico (HCl, NaOH)		3,85		89			Smets et al., (2020)
Pré-pupa	Método químico (HCl, NaOH)	NA	4,72	NA	90	NA	NA	
Pupa	Método químico (HCl, NaOH)		6,31		92			
Larva	Método químico (HCl, NaOH)		9,5			92	88	Soetemans, Uyttebroek e Bastiaens, (2020)
Pré-pupa	Método químico (HCl, NaOH)		9,1			77	93	
Pupa	Método químico (HCl, NaOH)		10,3			96,7	94	
Exúvia da muda	Método químico (HCl, NaOH)	NA	31,1	NA	NA	93,4	90	
Exúvia da pupa	Método químico (HCl, NaOH)		23,8			89,8	89	
Mosca adulta	Método químico (HCl, NaOH)		5,6			nd	89	
Pré-pupa	Método químico (HCl, NaOH, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , KMnO <sub>4</sub> )		7,95					Złotko et al., (2021b)
Pré-pupa	Método químico (HCl, NaOH, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , KMnO <sub>4</sub> )		7,97					
Pré-pupa	Método químico (HCl, NaOH, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , KMnO <sub>4</sub> )	NA	7,01	NA	NA	NA	60	
Pré-pupa	Método químico (HCl, NaOH, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , KMnO <sub>4</sub> )		5,98					
Pré-pupa	Método químico (HCl, NaOH, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , KMnO <sub>4</sub> )		5,69					
Exúvia da pupa	Material inicial							Khayrova, Lopatin, Sergei e Varlamov, (2021)
Exúvia da pupa	Método químico (HCl, NaOH 5%)							
Exúvia da pupa	Método químico (HCl, NaOH 10%)							
Exúvia da pupa	Método químico (HCl, NaOH 30%)							
Exúvia da pupa	Método químico (HCl, NaOH 50%)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
Mosca adulta	Material inicial							
Mosca adulta	Método químico (HCl, NaOH 5%)							
Mosca adulta	Método químico (HCl, NaOH 10%)							
Mosca adulta	Método químico (HCl, NaOH 30%)							
Mosca adulta	Método químico (HCl, NaOH 50%)							



Exúvia da pupa	Método químico e físico (HCl, água superaquecida)	NA	20,00	NA	NA	NA	NA	Bhavsar, Dalla Fontana e Zoccola, (2021)
Exúvia da pupa	Método biológico e químico ( <i>B. subtilis</i> + <i>L. plantarum</i> , NaOH)		7,78					
Exúvia da pupa	Método biológico e químico ( <i>P. aeruginosa</i> + <i>L. plantarum</i> , NaOH)		9,47					
Exúvia da pupa	Método biológico e químico ( <i>L. plantarum</i> + <i>B. subtilis</i> , NaOH)	NA	8,76	NA	NA	NA	NA	Lagat et al., (2021)
Exúvia da pupa	Método biológico e químico ( <i>L. plantarum</i> + <i>P. aeruginosa</i> , NaOH)		7,99					
Exúvia da pupa	Método biológico e químico ( <i>P. aeruginosa</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>L. plantarum</i> , NaOH)		11,85					
Exúvia da pupa	Método químico (HCl, NaOH)		10,18					
Exúvia da pupa	Método químico e biológico (Tampão fosfato de sódio + <i>B. licheniformis</i> )		69,40		76,58		88,98	
Exúvia da pupa	Método químico e biológico ( <i>B. licheniformis</i> + Tampão fosfato de sódio)		65,40		67,93		89,95	
Exúvia da pupa	Método físico e biológico (extração supercrítica de dióxido de carbono + <i>L. plantarum</i> , <i>B. subtilis</i> e <i>P. fluorescens</i> )	NA	69,80	NA	60,33	NA	98,48	Tan, Chin e Chen, (2021)
Exúvia da pupa	Método químico e biológico (ácido acético + <i>L. plantarum</i> , <i>B. subtilis</i> e <i>P. fluorescens</i> )		72,40		54,56		85,40	
quitina comercial		NA	NA		70,46		87,56	
Exúvia da pupa	Método químico (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> , NaOH, S <sub>2</sub> O <sub>4</sub> )							
Exúvia da pupa	Método químico (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , NaOH, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )							
Exúvia da pupa	Método químico (HNO <sub>3</sub> , NaOH, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , MgSO)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
Exúvia da pupa	Método químico (HCl, NaOH, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , MgSO)							Hahn et al., (2022)

Exúvia da pupa	Método químico (CH <sub>3</sub> COOH, NaOH, CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S)							
Exúvia da pupa	Método químico (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> , NaOH, NaOCl)							
Exúvia da pupa	Método químico (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , NaOH, CHCl <sub>3</sub> /MeOH/H <sub>2</sub> O)							
Exúvia da pupa	Método químico (HNO <sub>3</sub> , NaOH, CHCl <sub>3</sub> /MeOH/H <sub>2</sub> O)							
Exúvia da pupa	Método químico e biológico (HCl, NaOH, <i>Lacase</i> )							
Exúvia da pupa	Método biológico ( <i>Lacase</i> )							
Mosca adulta	Método químico (HCl, NaOH)	5,00	NA	NA	NA	NA	NA	Lee et al., (2022)
Larva	NA	NA	12,40	NA		NA	NA	
Exúvia da pupa	NA	NA	25,50	NA		NA	NA	
Mosca adulta	NA	NA	12,80	NA		NA	NA	
Larva	Método químico (Ácido fórmico, NaOH)	3,00	76,90	92,00		91,00	74,00	
Exúvia da pupa	Método químico (Ácido fórmico, NaOH)	8,00	77,80	55,00		83,00	78,00	
Mosca adulta	Método químico (Ácido fórmico, NaOH)	2,00	73,40	62,00	NA	91,00	79,00	Triunfo et al., (2022)
Larva	Método químico (Ácido fórmico, NaOH, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	3,00	84,00	21,00		92,00	77,00	
Exúvia da pupa	Método químico (Ácido fórmico, NaOH, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	10,00	86,80	35,00		90,00	80,00	
Mosca adulta	Método químico (Ácido fórmico, NaOH, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	3,00	85,30	36,00		93,00	86,00	
Quitina comercial	NA	NA	88,10	376,00		92,00	79,00	
Exúvia da pupa	Método químico (HCl, NaOH)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	Kemboi, V. J. et al., (2022)
Pré-pupa	Método químico (HCl, NaOH, NaOCl)	18,05	NA	NA	NA	NA	NA	Mirwandho

Pré-pupa	Método químico (HCl, NaOH, NaOCl)	10,85						no, Nasution e Yunilas, (2022)
Exúvia da pupa	Método biológico ( <i>B. subtilis</i> + <i>A. pasteurianus</i> )	59,9				18,52		
Mosca adulta	Método biológico ( <i>B. subtilis</i> + <i>A. pasteurianus</i> )	47,31	NA	NA	NA	37,38	NA	Xiong et al., (2023)
Exúvia da pupa	Método químico (HCl, NaOH, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	23,82				25,73		
Mosca adulta	Método químico (HCl, NaOH, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	11,99				60,23		
Larva Instar 3 (Resíduo de fruta)	Método químico (HCl, NaOH)	7,23					51,16	
Larva Instar 4 (Resíduo de fruta)	Método químico (HCl, NaOH)	11,01					58,49	
Larva Instar 5 (Resíduo de fruta)	Método químico (HCl, NaOH)	9,17					75,03	
Pré-pupa (FW)	Método químico (HCl, NaOH)	11,78					71,08	
Pupa (Resíduo de fruta)	Método químico (HCl, NaOH)	6,82					59,62	
Larva Instar 3 (Resíduo de vegetais)	Método químico (HCl, NaOH)	10,2	NA	NA	NA	NA	62,09	Rampure, Velayudhanair e Marimuthu, (2023)
Larva Instar 4 (Resíduo de vegetais)	Método químico (HCl, NaOH)	9,49					57,39	
Larva Instar 5 (Resíduo de vegetais)	Método químico (HCl, NaOH)	9,83					51,48	
Pré-pupa (Resíduo de vegetais)	Método químico (HCl, NaOH)	10,7					75,89	
Pupa (Resíduo	Método químico (HCl, NaOH)	8,66					71,39	

de vegetais)								
Larva	Método químico (Ácido fórmico, NaOH, HCl, NaClO)		2,88			62,56		
Pupa	Método químico (Ácido fórmico, NaOH, HCl, NaClO)		8,45			62,01		
Mosca adulta	Método químico (Ácido fórmico, NaOH, HCl, NaClO)		8,88			68,79		
Mosca adulta	Método químico e físico (Ácido fórmico, NaOH, HCl, NaClO, tratamento de explosão de vapor flash) 0,45 MPa-SFE	NA	NA	NA	NA	86,72	NA	
Mosca adulta	Método químico e físico (Ácido fórmico, NaOH, HCl, NaClO, tratamento de explosão de vapor flash) 1,00 MPa-SFE		NA			83,3		Feng et al., (2023)
Mosca adulta	Método químico e físico (Ácido fórmico, NaOH, HCl, NaClO, tratamento de explosão de vapor flash) 1,52 MPa-SFE		NA			88,04		
Mosca adulta	Método químico e físico (Ácido fórmico, NaOH, HCl, NaClO, tratamento de explosão de vapor flash) 1,60 MPa-SFE		NA			84,48		
Quitina comercial	Método químico (HCl, NaOH)		98,44					
<i>Acheta domestica</i>	Método químico (HCl, NaOH)	NA	56,31	NA	NA	NA	NA	Ndiritu et al., (2023)
<i>Gryllus bimaculatus</i>	Método químico (HCl, NaOH)		95,41					
Exúvia da pupa	Método químico (HCl, NaOH)		86,33					
Larva	Método químico e físico (ultrassom, NaOH)		55,4					
Larva		NA	80,37	NA	NA	NA	NA	Xu et al., (2023)
Larva	Método químico (NaOH)		61,69					
Larva	Método enzimático ( <i>Bacillus licheniformis</i> )		47,6				NA	
Larva	Método químico (HCl, NaOH) 1 Estágio	NA	68,8	NA	NA	NA	NA	Pedrazzani et al., (2024)
Larva	Método químico (HCl, NaOH) 2 Estágios		77,9				27,00	
Larva	Método químico e enzimático (HCl, <i>Bacillus</i> )		77,9				NA	

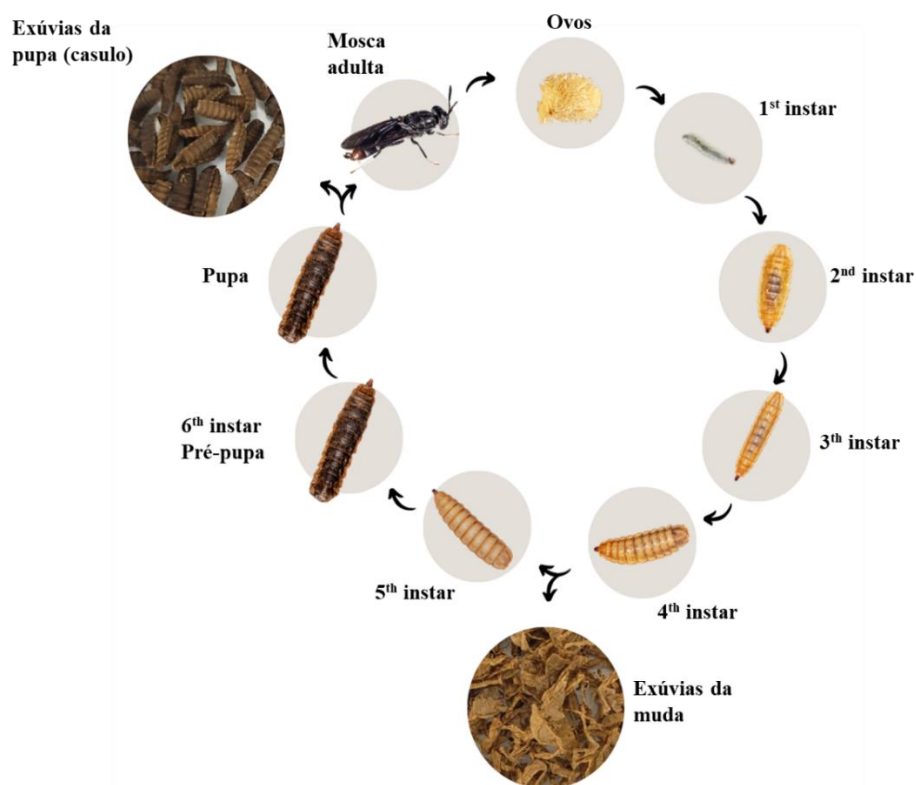
<i>licheniformis</i>			
Larva	Método químico e físico (Moagem mecanoquímica, HCl)	77	14,40
Larva	Método químico e físico (Ultrassonicação, HCl, NaOH)	79,9	NA
Exúvia da pupa	Método químico (HCl, NaOH) 2 Estágios	65,2	NA
Cascas de camarão	Método químico (HCl, NaOH) 2 Estágios	88,3	82,70

---

a Rendimento da quitina em relação a matéria-prima inicial, em peso seco. NA: Não avaliado.

## 2.1 Fontes de quitina da *Hermetia illucens*

A quitina pode ser extraída a partir de diferentes estágios de desenvolvimento da *Hermetia illucens*, como na fase de ovos, larval, pré-pupa, pupa e mosca adulta. Além disso, também pode ser obtida através de fluxos laterais da criação das larvas, que são os exoesqueletos da muda, derivados das renovações da pele das larvas, e os casulos da pupa, que são eliminadas durante a metamorfose da pupa em mosca adulta (Hahn *et al.*, 2018) (Figura 2.2).



**Figura 2 2** - Ciclo de vida da *Hermetia illucens*.

**Fonte:** Adaptado de Catherine Terrell e Laura Ingwell, (2022)

O teor de quitina da *Hermetia illucens* aumenta conforme seu crescimento (Tabela .2.2), permanecendo constante nas fases larvais e apresentando aumento gradativo até o final da fase de pré-pupa, etapa que apresenta a maior quantidade de quitina, devido a necessidade de proteção na fase da pupa. Depois da metamorfose, as moscas adultas apresentam diminuição no teor de quitina. Devido à ausência dos outros componentes da cavidade interna, as exúvias da muda e da pupa são as frações com maiores teores de quitina.

As fases de crescimento da BSF podem apresentar distintas condições para a extração de quitina, já que apresentam diferentes composições nutricionais. Em 12 dias a larva da BSF apresenta maior teor de lipídios (58,41%) do que a fase larval em 5 dias, o que exige diferentes condições para a desengorduramento. Para o teor de cinzas, as exúvias da pupa apresentam 19,4%, enquanto as moscas adultas 3,26%. Além da fase de crescimento, a composição nutricional da BSF também pode ser alterada por fatores como a dieta, o meio de criação e o processamento (Hlongwane, Slotow e Munyai, 2020; Rampure, Velayudhannair e Marimuthu, 2023).

**Tabela 2 2** - Teor de quitina, matéria seca, proteína, lipídeos e cinzas das diferentes fases de crescimento de *Hermetia illucens*.

Fase de vida	Teor de quitina (%) <sup>ab</sup>	Matéria seca (%) <sup>a</sup>	Proteína bruta (%DM) <sup>ac</sup>	Lipídio bruto (%DM) <sup>a</sup>	Cinzas (DM%) <sup>a</sup>
Ovo (<1d)	0,58-7,8	34,38	35,49	49,29	4,02
Larva (2d)	3,19	35,53	47,14	32,22	5,53
Larva (5d)	3,82	27,71	35,51	17,48	10,62
Larva (12d)	5,35-7,8	29,01	28,68	58,41	9,81
Pré-pupa (15d)	4,47	31,14	31,35	55,36	8,41
Pré-pupa (24d)	10,9-11,32	37,2	35,66	46,68	10,5
Pupa (28d)	10,7-10,98	35,38	36,76	45,53	10,69
Mosca adulta (38d)	8,4-10,05	37,96	41,09	42,9	3,26
Exúvia da muda	23,7	92,3	NA	NA	24,5
Exúvia da pupa	22,4	94,2	NA	NA	19,4

a: Eggink & Dalsgaard (2023). b: Soetemans, Uyttbroel, et al., 2020. c:Fator de correção para análise de proteína: 4,67. NA: Não avaliado.

A extração de quitina também pode ser influenciada pelo processo de esclerotização que acontece durante a fase de pré-pupa da BSF, onde são formadas ligações cruzadas entre proteínas com derivados de catecol e quitina, resultando na eliminação de água, escurecimento e endurecimento do exoesqueleto (Kramer, Hopkins e Schaefer, 1995). Diante disso, a fase larval apresenta maior facilidade para a extração de quitina, já que não necessita da eliminação desses compostos catecólicos (Hahn, Roth, et al., 2020).

A morfologia da superfície da quitina da *Hermetia illucens* também difere dependendo do estágio de crescimento e método de extração. Através da análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV), Triunfo et al., (2022) relataram diferença entre as superfícies da quitina de larvas, das pupas e de adultos da BSF. Nas larvas a quitina apresentou superfície rugosa com fibras quebradas e ausência de poros. Porém, nas exúvias pupais e de inseto adultos foram identificados poros na superfície da quitina.

## 2.2 Pré-tratamentos

A etapa de pré-tratamento constitui uma fase essencial para a extração subsequente da quitina da BSF, abrangendo uma série de procedimentos que incluem separação, limpeza, lavagem, secagem, moagem, peneiração, e outros métodos físicos. Entretanto, é imprescindível reconhecer que esta etapa exerce uma influência substancial sobre a eficácia global do processo de extração da quitina (Pedrazzani et al., 2024).

As larvas são abatidas por meio de lavagem com água fervente, que pode variar de 40 segundos a 15 minutos após a etapa de recolhimento (Khayrova, Lopatin e Varlamov, 2019; Mirwandhono, Nasution e Yunilas, 2022; Xu et al., 2023). Leni, Caligiani e Sforza, (2019) observaram que o abate com água a 100°C por 40 segundos foi suficiente para conservar e evitar a oxidação lipídica das pré-pupas da BSF por 2 meses em armazenamento a -18°C, devido ao efeito da temperatura como precursor ao branqueamento, desnaturando possíveis enzimas endógenas.

A conservação pode ser realizada por congelamento, mantendo-se a temperatura entre -18°C e -20°C (Brigode et al., 2020; Hahn, Tafi, et al., 2020; Smets et al., 2020), ou por meio de processos de secagem em estufa, a 50°C por 24 horas ou a 60°C por 48 horas (Purkayastha e Sarkar, 2020; Waško et al., 2016). A etapa de separação é crucial para selecionar a matéria-prima a ser estudada. No caso do uso do exoesqueleto das larvas, a separação da fração líquida interna pode ser realizada manualmente ou por meio de prensa de óleo (Khayrova,

Lopatin e Varlamov, 2019), resultando na obtenção da torta com o exoesqueleto, caracterizada como "flake" (Brigode *et al.*, 2020).

Para a higienização de resíduos orgânicos provenientes da criação da *Hermetia illucens*, como restos de alimentos e excrementos, diversos estudos têm empregado a imersão em água (Kemboi, V. J. *et al.*, 2022; Rampure, Velayudhannair e Marimuthu, 2023; Wang *et al.*, 2020). Além disso, para a retirada da fração orgânica e lipídica das exúvias da pupa, alguns pesquisadores adotaram a combinação de água e etanol, conforme observado por Złotko *et al.* (2021).

A secagem das diferentes fases BSF é conduzida por meio de diversos métodos, tais como estufa (45 a 105 °C) (Mirwandhono, Nasution e Yunilas, 2022; Soetemans, Uyttebroek e Bastiaens, 2020), liofilização (por 48 horas ou até que o peso se mantenha constante) (Feng *et al.*, 2023; Ndiritu *et al.*, 2023; Smets *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2020), pulverização (Rampure, Velayudhannair e Marimuthu, 2023; Xiong *et al.*, 2023) ou exposição natural ao sol (Kemboi, V. J. *et al.*, 2022). Após a diminuição do teor de umidade, os exoesqueletos passam pelo processo de redução do tamanho das partículas, visando aumentar a acessibilidade aos agentes químicos (Oyekunle e Omoleye, 2019), sendo os pós resultantes obtidos através de almofarizes (Smets *et al.*, 2020), processadores de alimentos (Wang *et al.*, 2020), liquidificadores (Lagat *et al.*, 2021) e moinhos (Brigode *et al.*, 2020). Tamanhos de partículas entre 0,106 mm e 0,850 mm têm se mostrado adequados para a purificação da quitina (Brigode *et al.*, 2020; Feng *et al.*, 2023; Khayrova, Lopatin, Sergei e Varlamov, 2021; Xu *et al.*, 2023). Além disso, foi relatada a eficácia do emprego da moagem mecanoquímica e da ultrassonicação na extração de quitina das larvas da BSF, resultando em uma maior remoção de proteínas. Este fato pode ser explicado pela quebra dos complexos entre quitina e proteínas, resultando em uma maior eficiência de desproteínização (Pedrazzani *et al.*, 2024).

Não foram encontrados estudos que abordem o uso de pré-tratamentos químicos para a extração de quitina das diversas fases da *Hermetia illucens*.

No entanto, para crustáceos foram identificados métodos promissores. Estes incluem a imersão em hipoclorito de sódio (NaClO) por 10 minutos (Kaya, Baran e Karaarslan, 2015), a utilização de hidróxido de sódio (NaOH) a 1 M durante 24 horas (Teli e Sheikh, 2012) e a imersão em ácido clorídrico (HCl) a 0,2% por 24 horas (Trung *et al.*, 2020). Tais pré-tratamentos têm se mostrado eficazes na economia de tempo e energia nos processos de desmineralização e desproteínização.

### **2.3 Extração dos lipídios (Desengorduramento)**

O teor de lipídios na BSF varia conforme o seu desenvolvimento, com 23% de lipídios na fase larval, 19,7% na fase adulta e 5% nas exúvias da pupa (Triunfo *et al.*, 2022). A não realização do desengorduramento pode prejudicar a purificação e eficiência de extração de quitina, devido a interação hidrofóbica entre a gordura e o exoesqueleto, evitando a interação do ácido com as paredes celulares (Choi, Wong e Auh, 2017; Tan, Chin e Chen, 2021).

A literatura relata predominantemente o uso de métodos químicos para a desengorduramento em BSF. A Tabela 2.3 apresenta solventes como o éter de petróleo, hidróxido de potássio, hidróxido de sódio, metanol, clorofórmio e éter etílico, os quais foram aplicados para o desengorduramento da BSF. A eficiência desses solventes varia conforme os parâmetros de temperatura, proporção e concentração do solvente utilizados. O hexano também foi aplicado em larvas, pré-pupas, pupas e adultos da BSF; no entanto, não foram fornecidos os valores de eficiência do processo de desengorduramento (Feng *et al.*, 2023; Jayanegara *et al.*, 2020; Lee *et al.*, 2022; Nafisah *et al.*, 2019; Rampure, Velayudhannair e Marimuthu, 2023).



**Tabela 2 3** - Solventes, parâmetros e eficiência da desengorduramento de diferentes fases da *Hermetia illucens*.

<b>Solvente</b>	<b>Matéria-prima (Fase da BSF)</b>	<b>Condições</b>	<b>Eficiência de extração de lipídios (%)</b>	<b>Fonte</b>
Éter de petróleo	Pré-pupa	1:2 (p/v), 40 a 60 °C, 1 h, com agitação	87,81	Caligiani et al., (2018)
KOH 5% (P/v)	Exúvia da pupa	1:10 (p/v), 50 °C, 2 h, agitação ocasional	90,35	Khayrova, Lopatin e Varlamov, (2020)
KOH 10% (P/v)	Mosca adulta		37,82	
KOH 5% (P/v)	Mosca adulta	1:20 (p/v), temperatura ambiente por 20 minutos + 100 °C por 2 h, agitação ocasional	21,82	Khayrova, Lopatin e Varlamov, (2020)
KOH 10% (P/v)	Mosca adulta		1,66	
NaOH 50% (P/v)	Exúvia da pupa	1:5 (p/v), 20 °C, 4 h	95,51	Khayrova, Lopatin e Varlamov, (2019)
NaOH 50% (P/p)	Mosca adulta		100,00	
NaOH 50% (P/v)	Mosca adulta		85,89	
NaOH 50% (P/p)	Mosca adulta		69,79	
Metanol + clorofórmio (7:3)	Mosca adulta	NA	93,00	Khayrova, Lopatin e Varlamov, (2021)
Éter etílico	Mosca adulta	NA	100,00	Khayrova, Lopatin, Sergei e Varlamov, (2021)
ácido acético, ácido láctico, etanol 70% (3 dias) + protease de <i>B. licheniformis</i> (3 dias)	Pupa	25 °C, 72 h, agitação de 200 rpm	36,89	Tan, Chin e Chen, (2021)
Protease de <i>B. licheniformis</i> (3 dias) + ácido acético, ácido láctico e etanol 70% (3 dias)	Pupa	25 °C, 72 h, agitação de 200 rpm	38,52	Tan, Chin e Chen, (2021)
Extração supercrítica de dióxido de carbono 2h + fermentação com <i>L. plantarum</i> , <i>B. subtilis</i> e <i>P. fluorescens</i> (5 dias)	Pupa	1:20 (p/v), 65 °C, 2 h, 5400 psi	32,79	Tan, Chin e Chen, (2021)
50mL Ácido acético + 100mL etanol 70% (1 dia) + fermentação com <i>L. plantarum</i> , <i>B.subtilis</i> e <i>P.fluorescens</i> (5 dias)	Pupa	1:3 (p/v), 25 °C, 24 h	28,42	Tan, Chin e Chen, (2021)

A fase de vida da *Hermetia illucens* também influencia na eficiência do processo de extração. Conforme observado por Khayrova, Lopatin e Varlamov, (2020), a extração lipídica utilizando KOH a 5% foi mais eficaz nas exúvias da pupa do que nas moscas adultas, devido às discrepâncias na composição lipídica, como a presença de cera nas moscas adultas. Além disso, foi constatado que o uso de KOH a 10% apresentou menor eficácia em comparação com o NaOH a 5%, atribuído à maior densidade e viscosidade do álcali mais concentrado, o que dificulta a difusão adequada do solvente no material.

Métodos físicos e enzimáticos também foram investigados para outras fases da BSF. Métodos físicos com uso de extrusora ou prensa de óleo são boas opções prévias ao desengorduramento para separar o exoesqueleto da fração líquida da larva, contendo principalmente lipídios e proteína (Huet *et al.*, 2020). A extração supercrítica de dióxido de carbono seguida de fermentação com *L. plantarum*, *B. subtilis* e *P. fluorescens* foi realizada para extração de lipídios das exúvias da pupa da BSF, mas não foi eficiente (Tan, Chin e Chen, 2021). Kim *et al.*, (2019) também avaliaram a eficiência da extração supercrítica de dióxido de carbono para a larva da BSF e obtiveram uma farinha com 5% de gordura em base seca. Apesar de não ter a pureza exigida para a extração de quitina, a extração supercrítica de dióxido de carbono pode ser analisada em futuros trabalhos em combinação com solventes.

#### **2.4 Extração dos minerais (Desmineralização)**

O teor de minerais observados nas conchas dos crustáceos é superior quando comparado com os presentes na *Hermetia illucens* (Minh, Truc e Osako, 2022). Dependendo da fase de crescimento e da alimentação, os minerais no exoesqueleto da BSF variam de 3,26 a 24,5% em base seca (Soetemans, Uyttebroek e Bastiaens, 2020), com a composição de cálcio (Ca), cobre (Cu), ferro (Fe), magnésio (Mg), manganês (Mn), fósforo (P), potássio (K), sódio (Na) e zinco (Zn) (Lu *et al.*, 2022). Esses minerais necessitam ser extraídos do exoesqueleto da BSF para a purificação da quitina, que consiste na etapa de desmineralização.

Ácidos são os principais reagentes utilizados para essa etapa, degradando os minerais presentes no exoesqueleto e os transformando em dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e em sais solúveis em água (Younes e Rinaudo, 2015). Devido a solubilidades dos sais em água, a separação desses minerais pode ser feita através de processo simples como a filtração e lavagem.

Diversas condições de desmineralização do exoesqueleto da BSF para diversas fases são encontradas na literatura, entretanto, não foi descrito o cálculo de eficiência de desmineralização para todos (Tabela 2.4). O ácido clorídrico (HCl) é o mais utilizado para a desmineralização do exoesqueleto da *Hermetia illucens* em suas diversas fases, assim como ocorre para os crustáceos (Pakizeh, Moradi e Ghassemi, 2021). A proporção sólido/solvente depende da concentração do ácido, pois são necessárias duas moléculas de ácido clorídrico para converter uma molécula de carbonato de cálcio, entretanto a maioria dos autores utilizaram a relação de 1:10 (m/v) (Bhavsar *et al.*, 2021; Feng *et al.*, 2023; Khayrova *et al.*, 2020, 2021; Pedrazzani *et al.*, 2024; Soetemans *et al.*, 2020; Triunfo *et al.*, 2022; Xiong *et al.*, 2023; D. Zhou *et al.*, 2021). A concentração do ácido clorídrico variou de 0,5 M a 2 M e o tempo de reação de 30 minutos por até 24 horas. Geralmente a temperatura ambiente foi utilizada em reações de 24 horas, enquanto 100°C foram aplicados por curtos períodos (Brigode *et al.*, 2020; Purkayastha e Sarkar, 2020; Smets *et al.*, 2020).

**Tabela 2 4** Solventes, parâmetros e eficiência da desmineralização de diferentes fases da *Hermetia illucens*.

Solvente	Matéria-prima (Fase da BSF)	Concentração	Temperatura (°C)	Tempo (h)	Eficiência da desmineralização (%)	Fonte	
Ácido clorídrico	Várias fases	5%	ambiente	NA	NA	Xiong et al., (2023)	
	Várias fases	5%	50	7	NA	Rampure, Velayudhannair e Marimuthu, (2023)	
	Mosca adulta	7%	ambiente	24	NA	Lee et al., (2022)	
	Mosca adulta	2%	20	2	NA	Khayrova, Lopatin e Varlamov, (2019)	
	Exúvia da pupa	1%	20	2	84,1	Khayrova, Lopatin e Varlamov, (2020)	
	Mosca adulta	1%	20	2	47,5	Khayrova, Lopatin e Varlamov, (2020)	
	Pré-pupa	1%	22	1	NA	Zlotko et al., (2021b)	
	Exúvia da pupa	1%	ambiente	24	NA	Ndiritu et al., (2023)	
	Exúvia da pupa	0,5 M	70		NA	Hahn et al., (2022)	
	Várias fases	1 M	ambiente	1		NA	Soetemans, Uyttebroek e Bastiaens, (2020; Waško et al., 2016)
	Pré-pupa	1 M	100	1	NA	Jayanegara et al., (2020)	
	Várias fases	1 M	100	0,5		NA	Brigode et al., (2020; Purkayastha e Sarkar, 2020; Smets et al., 2020)
	Exúvia da pupa	1 M	100	2	NA	Lagat et al., (2021)	
	Exúvia da pupa	1M		2	NA	Lagat et al., (2021)	
	Pré-pupa	1 M	100	20	NA	Mirwandhono, Nasution e Yunilas, (2022)	

	Pré-pupa, exúvias	2 M	ambiente	24	73	Caligiani et al., (2018)	
	Pré-pupa, exúvias	2M	ambiente	24	NA	Bhavsar, Dalla Fontana e Zoccola, (2021)	
	Larva	2 M	ambiente	24	89,9	Pedrazzani et al., (2024)	
	Larva	2 x 2 M	ambiente	24	89,9	Pedrazzani et al., (2024)	
	Exúvia da pupa	2 M	ambiente	24	100	Pedrazzani et al., (2024)	
	Várias fases	2 M	55	1	NA	Wang et al., (2020)	
	Exúvias da muda	NA	ambiente	0,5	73,5	Hahn, Roth, et al., (2020)	
	Larva	0,5 M	ambiente	1	82	Triunfo et al., (2022)	
Ácido fórmico	Exúvia da pupa	0,5 M	ambiente	1	85	Triunfo et al., (2022)	
	Mosca adulta	0,5 M	ambiente	1	87	Triunfo et al., (2022)	
	Mosca adulta	0,5 M	ambiente	NA	NA	Feng et al., (2023)	
Ácido fosfórico	Exúvia da pupa	0,5 M	40	2	NA	Hahn et al., (2022)	
	Exúvia da pupa	0,5 M	70	2	NA	Hahn et al., (2022)	
Ácido sulfúrico	Exúvia da pupa	0,25 M	40	2	NA	Hahn et al., (2022)	
	Exúvia da pupa	0,25 M	70	2	NA	Hahn et al., (2022)	
Ácido nítrico	Exúvia da pupa	0,5 M	40	2	NA	Hahn et al., (2022)	
	Exúvia da pupa	0,5 M	70	2	NA	Hahn et al., (2022)	
Ácido acético	Exúvia da pupa	0,5 M	40	2	NA	Hahn et al., (2022)	
Solventes eutéticos profundos (cloreto de colina,							
	Ácido láctico, ácido butírico, glicerina, betaína, uréia, ácido oxálico)	Pré-pupas	NA	50-80	NA	NA	Zhou et al., (2019)

NA: Not available

Nas mesmas condições de desmineralização com ácido clorídrico (1% a 20 °C por 2 horas) a eficiência de extração foi diferente conforme a fase de vida utilizada, sendo 84,1% para as exúvias da pupa e 47,5% para as moscas adultas (Khayrova, Lopatin e Varlamov, 2020). Pedrazzani et al., (2024) aplicaram condições mais severas, com HCl 2 M por 24 horas e obtiveram 100% de rendimento para desmineralização das exúvias da pupa, porém esse valor também diferiu quando as mesmas condições foram aplicadas para as larvas (89,9%). Tal fato confirma que a eficiência de desmineralização pode ser afetada por parâmetros como a fonte e o grau de mineralização do exoesqueleto. Outros fatores como concentração, temperatura, proporção soluto/ácido e tamanho da partícula também afetam o rendimento de extração (Younes e Rinaudo, 2015). Entretanto, em relação ao número de etapas de desmineralização, Pedrazzani et al., (2024) relataram que o rendimento de extração não muda com uma ou duas etapas sucessivas de extração de minerais com o HCl. Sendo assim, são necessárias maiores investigações sobre o impacto que ácidos fortes como o HCl e o uso de altas temperaturas causam na molécula da quitina das fases da BSF, como a desacetilação, despolimerização, redução de massa molar, perda de cristalinidade e rendimento. Assim como a eficiência e vantagens da utilização do HCl em baixas concentrações, conforme já relatado para outros insetos, o HCl diluído aumenta a cristalinidade da quitina (Philibert, Lee e Fabien, 2017).

Outros ácidos inorgânicos e ácidos orgânicos também foram estudados para a as exúvias da pupa da BSF, apresentando maior eficiência quando utilizados a 40 °C do que a 70 °C, devido a solubilidade inversa do carbonato de cálcio. O ácido sulfúrico e ácido fosfórico apresentaram o menor grau de desmineralização, ao contrário dos ácidos nítrico, clorídrico, acético e fórmico, devido à alta solubilidade de seus sais. Entretanto o ácido fórmico apresentou o melhor rendimento (Hahn *et al.*, 2022). O ácido fórmico foi utilizado em outro trabalho para a extração dos minerais do exoesqueleto das larvas, exúvias pupais e moscas adultas, apresentando respectivos rendimento de 82%, 85% e 87% (Triunfo *et al.*, 2022). Diferentes solventes eutéticos profundos naturais foram testados para a desmineralização da pré-pupa em temperatura de 50 °C e 80 °C, sendo que o aumento na temperatura de extração facilitou a desmineralização (Zhou *et al.*, 2019).

O grau de acetilação da quitina da exúvia da pupa e da pupa da BSF obtida por ácidos orgânicos corresponde ao da quitina comercial, enfatizando o uso de ácidos para produzir quitina de qualidade (Hahn *et al.*, 2022; Tan, Chin e Chen, 2021). A utilização de ácidos orgânicos também necessita ser mais explorada para a extração de quitina da BSF, são uma opção mais sustentável para o meio ambiente, com sua produção a partir de biomassas de baixo custo. Além disso, eles preservam as características da quitina purificada e viabilizam a aplicação dos sais orgânicos extraídos para outros fins, como para a aplicação em rações e alimentos (Ameh *et al.*, 2014; Gbenebor *et al.*, 2018; Pakizeh, Moradi e Ghassemi, 2021).

## **2.5 Extração das proteínas (Desproteíntização)**

Para a purificação da quitina ainda é necessário submeter o exoesqueleto a um tratamento que elimine a fração proteica. Independente da matéria-prima, essa etapa é um desafio para o processo, devido à dificuldade da ruptura entre as ligações químicas da quitina e proteína. Para a exúvia pupal da *Hermetia illucens*, existe o completo quitina-melanina que se forma durante o processo de esclerotização, o que aumenta o grau de dificuldade para o isolamento da quitina (Brigode *et al.*, 2020).

A etapa de desproteíntização, onde ocorre a extração das proteínas, é comumente realizada com soluções alcalinas como o hidróxido de sódio (NaOH), carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), soda (NaHCO<sub>3</sub>), hidróxido de potássio (KOH), carbonato de potássio (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), hidróxido de cálcio (Ca(OH)<sub>2</sub>), sulfito de sódio (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>), bissulfito de sódio (NaHSO<sub>3</sub>), bissulfito de cálcio (CaHSO<sub>3</sub>), fosfato de sódio (Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) e sulfeto de sódio (Na<sub>2</sub>S) (Pakizeh,

Moradi e Ghassemi, 2021). Entretanto, para a *Hermetia illucens*, apenas o NaOH e KOH foram estudados (Tabela 2.5).

**Tabela 2 5** - Solutos, parâmetros e eficiência da desproteínização de diferentes fases da *Hermetia illucens*

Soluto	Matéria-prima (Fase da BSF)	Condições para desproteínização	Eficiência de desproteínização (%)	Fonte
Hidróxido de sódio	Exúvia da pupa	NaOH 0,5 M, 15:100 (m/v), 2 h em ebulição	NA	Ndiritu et al., (2023)
	Várias fases	NaOH 1 M, 80 °C, 24 h	NA	Purkayastha e Sarkar, (2020; Waśko et al., 2016; Złotko et al., 2021)
	Pré-pupas	NaOH 1 M, 40 °C, 1 h	84	Caligiani et al., (2018)
	larva, exúvia da pupa, mosca adulta	NaOH 1 M, 24 h	NA	Brigode et al., (2020)
	Várias fases	NaOH 1 M, 1:25 (m/v), 1 h, 80 °C, por 12 vezes	NA	Soetemans, Uyttebroek e Bastiaens, (2020)
	Exúvia da pupa	NaOH 1M, 100°C, 4h	NA	Lagat et al., (2021)
	Exúvia da pupa	NaOH 1M, 4h	NA	Kemboi, V. J. et al., (2022)
	Larva e exúvia da pupa	1 vez: NaOH 1 M, (1:10), 40 °C, 1 h	NA	Pedrazzani et al., (2024)
	Larva e exúvia da pupa	2 vezes: NaOH 1 M, (1:10), 40 °C, 1 h	NA	
	Larva e exúvia da pupa	3 vezes com NaOH 1 M, (1:10), 40 °C, 1 h + Protease de <i>Bacillus licheniformis</i>	NA	
	Exúvia da pupa	NaOH 1,25 M 4 h, 90 °C	96,00	Hahn et al., (2022)
	Exúvia da muda	NaOH 2 M, 80 °C, 2 h	NA	Hahn et al., (2022; Wang et al., 2020)
	Larva	NaOH 2 M, 1:10 (m/v), 2 h, 80 °C	94,00	Triunfo et al., (2022)
	Exúvia da pupa	NaOH 2 M, 1:10 (m/v), 2 h, 80 °C	92,00	Triunfo et al., (2022)
	Mosca adulta	NaOH 2 M, 1:10 (m/v), 2 h, 80 °C	97,00	
	Larva	NaOH 2,45 M, 1:56 (m/v), triturador de células ultrassônico, 1 h, 25 °C	80,37	Xu et al., (2023)
	Larva	NaOH 2,45 M, 1:56 (m/v), 1 h, 25 °C	55,40	
	Larva	NaOH 2,44 M, 1:22 (m/v), 53 °C, 100 rpm, 2 h	61,69	
	Mosca adulta	NaOH 4 M, 10 h	NA	Feng et al., (2023)
Exúvia da pupa	NaOH 2%, 70 a 90 °C, 2 h	NA	Xiong et al., (2023)	

	Pré-pupa	NaOH 3,5%, 24 h, temperatura ambiente + 80 °C, 1 h	NA	Mirwandhono, Nasution e Yunilas, (2022)
	Mosca adulta	NaOH 5%, 50 °C, 2 h	NA	Khayrova, Lopatin e Varlamov, (2019)
	Exúvia da pupa	NaOH 50% (p/v), 1:10 (p/v), 50°C, 2h	30,00	Khayrova, Lopatin e Varlamov, (2020)
	Mosca adulta	NaOH 50% (p/v), 1:10 (p/v), 50 °C, 2 h	9,00	
	Exúvia da pupa e mosca adulta	5%-NaOH	NA	Khayrova, Lopatin, Sergei e Varlamov, (2021)
	Exúvia da pupa e mosca adulta	10%-NaOH	NA	
	Exúvia da pupa e mosca adulta	30%-NaOH	NA	
	Exúvia da pupa e mosca adulta	50%-NaOH	NA	
	Várias fases	NaOH a 11% (1:10 p/v), 95 °C, 6 h	NA	Rampure, Velayudhannair e Marimuthu, (2023)
Hidróxido de Potássio	Pré-pupas	KOH 3 M, 80 °C, 120 min	NA	Jayanegara (2020)
	Exúvias da pupa	KOH 5% (p/v), 1:10 (p/v), 50 °C, 2 h	77,00	Khayrova, Lopatin e Varlamov, (2020)
	Mosca adulta	KOH 5% (p/v), 1:10 (p/v), 50 °C, 2 h	24,00	
	Exúvias da pupa	KOH 10% (p/v), 1:10 (p/v), 50 °C, 2 h	34,00	
	Mosca adulta	KOH 10% (p/v), 1:10 (p/v), 50 °C, 2 h	15,00	

A eficiência de 96% de desproteínização para as exúvias da pupa foi obtida com a utilização do NaOH 1,25 M a 90 °C por 4 horas (Hahn *et al.*, 2022). Com a utilização de NaOH 1 M a 40 °C e pelo tempo de 1 hora, Caligiani *et al.*, (2018) obtiveram menor eficiência de desproteínização (84%) para a pré-pupa da BSF. Para a fase larval, a extração com o NaOH 2,45 M, 1:56 (m/v) a 25 °C apresentou eficiência de 55,40%. Entretanto, quando a extração foi assistida por ultrassom a eficiência aumentou para 80,37% (Xu *et al.*, 2023). As concentrações do NaOH utilizadas nas amostras das diversas fases da BSF variam entre 0,5 M e 2,0 M. Em alguns casos foram utilizadas concentrações de 2,45 M para a fase larval (Xu *et al.*, 2023) e 4 M para as moscas adultas (Feng *et al.*, 2023). A proporção sólido/solvente é geralmente de 1:10 (m/v) e a temperatura de ambiente até 100 °C.

A matéria-prima também influencia no rendimento da extração. Segundo Triunfo *et al.*, (2022), nas mesmas condições de extração com NaOH, a fase larval, exúvias da pupa e moscas adultas apresentaram diferentes rendimento de extração proteica, com respectivos valores de 94%, 92% e 97%. Khayrova, Lopatin e Varlamov, (2020) também obtiveram diferentes rendimentos de extração com o uso do NaOH para as exúvias da pupa (30%) e as moscas adultas (9%).

O tempo de incubação varia de 1 até 24 horas entre os estudos. Como relatado por (Hahn *et al.*, 2022), o tempo de incubação tem menor significância no rendimento da desproteínização das exúvias da pupa da BSF, sendo significativos os parâmetros de temperatura e concentração do NaOH. Apesar da eficiência do NaOH, já se sabe que dependendo da sua concentração, temperatura, proporção soluto/solvente e tempo, esse

tratamento pode ocasionar a hidrólise da quitina, diminuindo o peso molecular e aumentando o grau de desacetilação (Younes *et al.*, 2014).

Em crustáceos a utilização do KOH é bastante explorado em substituição ao NaOH (Pakizeh, Moradi e Ghassemi, 2021), devido a viabilidade da aplicação dos resíduos gerados como fertilizantes (García-Serrano *et al.*, 2019). Para a *Hermetia illucens*, em condições de proporção sólido/líquido de 1:10 (p/v), temperatura de 50 °C e tempo de 2 horas, o KOH 5% apresentou maior rendimento de extração do que o KOH 10%. Nas mesmas condições de extração, o KOH em 5 e 10% também apresentaram maiores rendimentos de extração do que o NaOH 50% (Khayrova, Lopatin e Varlamov, 2020).

Já se sabe que para os crustáceos a retirada da proteína se deve principalmente devido as reações alérgicas, que também são identificadas para a BSF (Delfino *et al.*, 2024). No entanto, em crustáceos os resíduos de lipoproteínas, hidrolisados proteicos e carotenoides já comprovaram serem responsáveis por propriedades antioxidantes em derivados de quitina (Arancibia *et al.*, 2014). A adição de concentrados proteicos com derivados de quitina de camarão também apresentou propriedades interessantes, como o reforço na matriz polimérica (Arancibia *et al.*, 2015). Diante disso, investigações sobre o impacto e necessidade da pureza de extração de quitina da BSF precisa ser investigado.

## 2.6 Extração dos pigmentos (Despigmentação)

A quitina está quimicamente ligada a proteína e a um pigmento polimérico presente no exoesqueleto de insetos, a melanina. Esse pigmento encontra-se em diferentes quantidades ao longo do crescimento da *Hermetia illucens*, sendo a quantidade máxima detectada no exoesqueleto da fase de pupa (Nekrasov *et al.*, 2018).

A etapa de extração dos pigmentos residuais da quitina é opcional. Geralmente essa etapa é utilizada quando há a necessidade de clarear a cor ou quando a aplicação exige quitina altamente purificada, como em caso de aplicações biomédicas ou em alimentos (Younes e Rinaudo, 2015). As etapas de desmineralização e desproteínização retiram uma pequena parte desses pigmentos. Entretanto, para a despigmentação eficiente, geralmente são utilizados reagentes como o hipoclorito de sódio (NaClO), acetona, permanganato de potássio (KMnO<sub>4</sub>) e peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Pakizeh, Moradi e Ghassemi, 2021).

Para a extração de pigmentos da quitina nas diferentes fases de vida da *Hermetia illucens* foram observados inúmeros protocolos (Tabela 2.6). Złotko *et al.*, (2021) analisaram o efeito do tempo de despigmentação com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, concluindo que quanto maior o tempo, menor o rendimento da quitina da pré-pupa da BSF. O mesmo estudo também utilizou um reagente mais agressivo, o KMnO<sub>4</sub> e observaram menor rendimento de isolamento da quitina.

Os efeitos da despigmentação foram analisados para as exúvias da pupa da BSF por Hahn *et al.*, (2022) através dos valores de luminosidade (L\*) obtidos por medições colorimétrica utilizando o espectrofotômetro. O DL\*, que é a diferença de luminosidade entre a quitina padrão e as amostras obtidas, apresentou o melhor resultado para a solução de NaOCl, com efeito clareador de 66,5%. O H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> combinado com NaOH apresentou melhores resultados de branqueamento (62,5%) do que o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> isolado (3,7%). Outros experimentos apresentaram resultados ineficientes para a despigmentação. A Lacase com o ABTS acrescentou ligeira coloração para a amostra (Hahn *et al.*, 2022).

Outros estudos foram aplicados para a *Hermetia illucens*, mas não apresentaram resultados da eficiência da despigmentação. Entretanto são opções interessantes de serem estudadas futuramente, pela proposta de métodos livres de cloro. Entre esses exemplos temos o uso KMnO<sub>4</sub> (Purkayastha e Sarkar, 2020; Waśko *et al.*, 2016; Złotko *et al.*, 2021), ácido oxálico (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) (Waśko *et al.*, 2016) e o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Triunfo *et al.*, 2022; Xiong *et al.*, 2023).



**Tabela 2 6** -Solventes e parâmetros utilizados para a despigmentação da quitina da *Hermetia illucens*

<b>Matéria-prima (Fase da BSF)</b>	<b>Condições da despigmentação</b>	<b>DL**a(%)</b>	<b>Fonte</b>
Larva	KMnO <sub>4</sub> 1%, removido com 4% de ácido oxálico	NA	Waško et al. (2016)
Moscas adultas		NA	
Pré-pupas	KOH + NaOH 40%, 10:1 (v/p), 80 °C, 90 min +80 °C, 24 h	NA	Jayanegara (2020)
Larvas	HCl 3,6%, 0,5 h + NaClO diluída 10 vezes, 80 °C, 4 h, 200 rpm	NA	Wang et al., 2020
Pré-pupas		NA	
Exúvias de pupa		NA	
Mosca adulta		NA	
Exúvias de pupa	KMnO <sub>4</sub> 1%, 1 h	NA	Purkayastha e Sarkar (2020)
Mosca adulta		NA	
Pré-pupas	Água, 100°C, 24 horas.	NA	Złotko K
Pré-pupas	9% de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 80 °C, 2,5 h	NA	
Pré-pupas	9% de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 80 °C, 5 h	NA	
Pré-pupas	KMnO <sub>4</sub> a 1%, 80 °C, 20 minutos + ácido oxálico 4%	NA	
Exúvias de pupa	1% Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (ditionito de sódio)70 °C, 60 minutos	13,9	Hahn et.al. (2022)
Exúvias de pupa	3 % de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ; pH 7,5, 90 °C, 60 min	30,7	
Exúvias de pupa	5 % de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 0,1% MgSO <sub>4</sub> 70 °C, 60 min	22,9	
Exúvias de pupa	5 % de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ; 1,8% de NaOH; 0,2% MgSO <sub>4</sub> , 85 °C, 90 min	62,2	
Exúvias de pupa	1% CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S (dióxido de tioureia), 70 °C, 60 min	9,7	
Exúvias de pupa	6% NaOCl, 60 °C, 60 minutos	66,5	
Exúvias de pupa	CHCl <sub>3</sub> / MeOH / H <sub>2</sub> O, temperatura ambiente, 120 minutos	12,7	
Exúvias de pupa	CHCl <sub>3</sub> / MeOH / H <sub>2</sub> O temperatura ambiente, 60 minutos	7,7	
Exúvias de pupa	Lacase, temperatura ambiente, 24h	0,3	
Exúvias de pupa	Lacase, 3 mM ABTS, temperatura ambiente, 24 h	-18,6	
Larvas	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 5% (v/v) 1:20 a 1:30 (m/v), 30 a 60 min, 90 °C	NA	Triunfo (2022)
Exúvias da pupa		NA	
Mosca adulta		NA	
Pré-pupa	NaOCl 0,315%	NA	Mirwandhono et al 2022
Pré-pupa		NA	
Exúvias da pupa	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 30% (v/v), 1:20 (p:v), 90 °C,45 min	NA	Xiong (2023)
Mosca adulta		NA	
Mosca adulta	HCl 3,6%, 0,5 h + NaClO diluída 10 vezes, 50 °C, 4 h	NA	Feng (2023)

a DL\* é a diferença de luminosidade entre o padrão (quitina padrão, L\*=47,9) e as amostras branqueadas.

A ordem da etapa de despigmentação do exoesqueleto das fases de vida da *Hermetia illucens* também é uma oportunidade de futuras investigações, já que para crustáceos foi relatado que a despigmentação no início do processo facilita a etapa posterior de desmineralização (Kaya, Baran e Karaarslan, 2015).

Apesar dos esforços para produzir quitina com características sensoriais e químicas parecidas com a quitina de crustáceos, é importante analisar os efeitos tecnológicos da quitina das fases da *Hermetia illucens* com e sem seus pigmentos. Foi relatado que as propriedades foto e radioprotetoras dos pigmentos de melanina podem se combinar com as características da quitina e quitosana de insetos (antioxidantes, radioprotetores, bactericidas, fungicidas, quelantes e agentes complexantes), obtendo um complexo com novas atividades biológicas (Khayrova et al., 2021).

## 2.7 Outras extrações

Além da extração química existem outras possibilidades para o isolamento da quitina das diversas fases da BSF, como as extrações fermentativas, enzimáticas, físicas e químicas não-convencionais (Tabela 2.7).

**Tabela 2 7-** Extrações biológicas, físicas e não convencionais da quitina das diversas fases da *Hermetia illucens*

Método	Condições	Fonte
Método Fermentativos	<i>Bacillus subtilis</i> <i>B. subtilis</i> + <i>L. plantarum</i> <i>P. aeruginosa</i> + <i>L. plantarum</i> <i>L.plantarum</i> + <i>B. subtilis</i> , <i>L.plantarum</i> + <i>P.aeruginos</i> <i>P. aeruginosa</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>L. plantarum</i> <i>B. subtilis</i> + <i>A. pasteurianus</i> <i>B. subtilis</i> + <i>A. pasteurianus</i>	Nafisah et al., (2019) Lagat et al., (2021)      Xiong et al., (2023)
Métodos enzimáticos em combinação com métodos químicos	Protease de <i>Bacillus licheniformis</i> , tampão de Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> Pepsina de mucosa gástrica suína, tampão HCl Papaína de látex de mamão, tampão Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> + EDTA+ DL-cistina Pancreatina de pâncreas suíno, tampão NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> + CaCl <sub>2</sub> Ácido acético, ácido láctico, etanol 70%, + tampão fosfato de sódio + Protease de <i>B. licheniformis</i> Tampão fosfato de sódio + Protease de <i>B. licheniformis</i> , + ácido acético, ácido láctico, etanol 70 Ácido acético, etanol 70% + <i>L. plantarum</i> , <i>B. subtilis</i> e <i>P. fluorescens</i> HCl + Protease de <i>Bacillus licheniformis</i> , + tampão Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> /NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> HCl, NaOH + Protease de <i>Bacillus licheniformis</i>	Caligiani et al., (2018)     Tan, Chin e Chen, (2021)   Pedrazzani et al., (2024)
Métodos físicos em combinação com métodos químicos/biológicos	HCl + Água superaquecida Extração supercrítica de dióxido de carbono + <i>L. plantarum</i> , <i>B. subtilis</i> e <i>P. fluorescens</i> NaOH + triturador de células ultrassônico Ultrassonicação + NaOH Moagem mecanoquímica + NaOH HCl, NaOH + tratamento de explosão de vapor flash	Bhavsar, Dalla Fontana e Zoccola, (2021) Tan, Chin e Chen, (2021) Xu et al., (2023) Pedrazzani et al., (2024) Feng et al., (2023)
Métodos químicos não convencionais	Fracionamento Osborne	Caligiani et al., (2018)

cloreto de colina, Ácido láctico  
cloreto de colina, ácido butírico  
cloreto de colina, glicerina  
betaína, Ácido láctico  
betaína, ácido butírico  
cloreto de colina, uréia  
betaína, glicerina  
betaína, uréia  
cloreto de colina, ácido oxálico  
betaína, ácido oxálico  
FDA-LDA

Zhou et al., (2019)

Brigode et al., (2020)

Entre os métodos biológicos, a fermentação apresenta baixo custo de operação e maior sustentabilidade quando comparados com métodos enzimáticos e químicos (Taokaew *et al.*, 2020). Lagat et al., (2021) identificaram que o rendimento de extração de quitina das exúvias da pupa da BSF com o co-cultivo de bactérias (*P. aeruginosa* + *B. subtilis* + *L. plantarum*) é significativamente maior (11,85%) em comparação com cultivos isolados (7,78 a 9,47%). Além disso, o método de extração fermentativa pode ser melhor que o método químico, que apresentou rendimento de 10,11% de quitina da exúvia da BSF. Xiong et al., (2023), observaram que o efeito de desmineralização do ácido orgânico produzido por *A. pasteurianus* foi comparável ao do ácido clorídrico, com valores acima de 90% de desmineralização para as exúvias da pupa e moscas adultas da BSF. Entretanto, em outro estudo a cepa de *B. subtilis* obteve um rendimento inferior ao método químico com o NaOH e o HCl (Xiong *et al.*, 2023). A fermentação diminuiu o grau de desacetilação da quitina das exúvias da pré-pupa, pupa e moscas adultas da BSF obtidas por métodos fermentativos por *Bacillus subtilis* (Nafisah *et al.*, 2019) e *Bacillus subtilis* + *A. pasteurianus* (Xiong *et al.*, 2023). As características químicas e a eficiência de extração são diretamente afetadas pelas cepas utilizadas e as condições de fermentação como concentração de substrato, tamanho do inóculo, temperatura e tempo de fermentação (Xiong *et al.*, 2023). O que abre inúmeras oportunidades para futuros estudos sobre o rendimento de extração e das características da quitina da *Hermetia illucens* obtida por métodos fermentativos.

O uso da hidrólise enzimática para o isolamento da quitina das diversas fases da BSF foi avaliado em alguns estudos que utilizaram proteases comerciais como a *Bacillus licheniformis*, Pepsina de mucosa gástrica suína, Papaína de látex de mamão e Pancreatina de pâncreas suíno. Para as exúvias da pupa da BSF, a melhor atividade hidrolítica foi obtida pela *protease de B. licheniformis*, com 67 % do nitrogênio proteico total liberado nos sobrenadantes, seguida pelas enzimas pancreatina (54%), papaína (51%) e pepsina (47 %) (Caligiani *et al.*, 2018). Pedrazzani et al., (2024) extraíram a quitina da larva da BSF com a Protease de *Bacillus licheniformis* e obtiveram de 50% de quitina, valor bem inferior ao método químico que proporcionou 78% de rendimento de quitina.

Os métodos físicos podem ser utilizados em conjunto com métodos químicos para aumentar a eficiência de extração de quitina. O uso da ultrassonicação foi estudado para o isolamento da quitina da larva da *Hermetia illucens* e apresentou uma redução no teor de proteína em comparação com a amostra não tratada (Pedrazzani *et al.*, 2024). Além disso, a ultrassonicação melhorou as propriedades técnicas funcionais da quitina obtida da larva da BSF, encurtou o tempo de extração e eliminou a necessidade de aquecimento e agitação (Xu *et al.*, 2023).

O uso de água superaquecida foi estudado por Bhavsar, Dalla Fontana e Zoccola, (2021) para a extração de proteínas da exúvias da pupa da *Hermetia illucens*, extraíndo 40% das proteínas em solução aquosa e obtendo quitina com 20% de pureza. Apesar de não ser

eficiente como os métodos químicos, o uso desse solvente verde permite a aplicação das proteínas extraídas para a área de alimentação animal e humana.

Apesar de serem menos eficiente que as extrações químicas, os métodos biológicos, métodos físicos e a combinação deles com o método químico, merecem ser investigados em futuros estudos. Assim como novas propostas de métodos químicos, já que mostram potencial para extrair a quitina e recuperar proteínas intactas para serem utilizadas para fins nutricionais, como o uso de solventes eutéticos profundos naturais aplicado para as pré-pupas da BSF (Zhou *et al.*, 2019).

### 3. DERIVADOS DE QUITINA

Através de métodos químicos, a quitina pode ser transformada em diversos outros derivados, com variadas propriedades tecnológica. Entretanto, para a *Hermetia illucens* apenas a quitosana foi explorada. A quitosana é o principal derivado da quitina, sendo obtida por desacetilação parcial em condições alcalinas (NaOH concentrado) ou por hidrólise enzimática na presença de uma quitina desacetilase (Knidri, El *et al.*, 2018).

A diferença na estrutura química da quitina e da quitosana consiste na proporção das unidades acetiladas e desacetiladas da D-glucosamina. Essa característica química faz com que a quitina seja insolúvel em solventes como água, soluções ácidas e alcalinas e solventes orgânicos. Diferente da quitina, a quitosana é solúvel na maioria das soluções aquosas de ácidos como ácidos acético, cítrico, fórmico, láctico etc. (Knidri, El *et al.*, 2018).

O NaOH foi explorado para a desacetilação das diversas fases da BSF, com variadas concentrações (0,5 M a 12 M ou 30 a 55%), em temperaturas ambientes até temperaturas de 140 °C e por um tempo de reação de 30 minutos até 24 horas (Feng *et al.*, 2023; Khayrova, Lopatin e Varlamov, 2019, 2020; Khayrova, Lopatin, Sergey e Varlamov, 2021; Lagat *et al.*, 2021; Mirwandhono, Nasution e Yunilas, 2022; Soetemans, Uyttebroek e Bastiaens, 2020; Triunfo *et al.*, 2021). Entre os estudos que informaram a eficiência da desacetilação, Ndiritu *et al.*, (2023) apresentaram a melhor eficiência, com o valor de 66,21% utilizando NaOH 0,5 M em ebulição, na proporção de 15:50 (m/v) e pelo tempo de 1 hora. Outro estudo avaliou diferentes condições de desacetilação com NaOH e verificou que em temperaturas mais baixas a quitosana apresentou menor grau de desacetilação e menor rendimento em comparação com a quitosana obtida em temperaturas mais elevadas (Hahn, Roth, *et al.*, 2020).

Existem outros derivados de quitina que não foram explorados para a quitina da *Hermetia illucens*, como o polímero aniônico carboximetilquitina (CM-quitina), que é produzido a partir da carboximetilação da quitina, com ácido monocloraacético na presença de hidróxido de sódio concentrado. Através do método de derivarização da quitina, é possível preparar outro derivado, a hidroxipropilquitina um derivado solúvel em água. Outros derivados como quitina fluorada, quitina *N-sulfatada* e *O-sulfatada*, (dietilamino) etilquitina, fosforil quitina, mercaptoquitina e carbamatos de quitina também podem ser estudados para a quitina da BSF. Além disso, com a hidrólise química ou enzimática da quitina e da quitosana, é possível obter uma série de oligômeros de quitina, os quitoligomeros. Esses são reconhecidos pela atividade antioxidante, antibacteriano, anticancerígeno, atividade cárdio protetora e respostas imunológicas. Os quitoligomeros também podem ser usados como blocos de partida modificáveis quimicamente para conjugar-se com outros polímeros (Jeong *et al.*, 2023; Naveed *et al.*, 2019). Kritchenkov *et al.*, (2021), relatam a transformação da quitina de crustáceos com o uso de 1-azido-3-cloropropan-2-ol com o ultrassom para produzir um novo derivado da quitina, caracterizados por alta atividade antibacteriana, sendo eficiente para o prolongamento da vida útil do queijo Ricota.

#### 4. POTENCIAL USO DA QUITINA DE INSETOS EM ALIMENTOS

Existe uma restrita exploração biotecnológica no uso da quitina extraída a partir de insetos comestíveis em alimentos, visto que ainda não existem regulamentações específicas limitando o seu uso e de seus derivados. No atual cenário, as legislações reconhecem o uso em alimentos apenas para a farinha integral de insetos comestíveis, ao exemplo da categoria de novos alimentos pela União Europeia (European Union, 2015; European Union, 2017), sendo a *Hermetia illucens* considerada como um dos insetos com potencial para uso em alimentos (EFSA Scientific Committee, 2015). Por outro lado, os resumos dos processos de extração apresentados nessa revisão demonstraram a possibilidade da obtenção da quitina a partir da *Hermetia illucens*.

Alguns estudos têm reportado aplicações da quitina em alimentos como material *crosslinker* na elaboração de filmes e revestimentos, associada a outros materiais gelificantes, formando hidrocoloides biodegradáveis para serem aplicados em produtos alimentícios. Visto que, a quitina atua como conservante em carne bovina crua refrigerada (Azarifar *et al.*, 2020), estabilizante em emulsões óleo-em-água (Zhang *et al.*, 2015), emulsificante em emulsão pickering (Farokhi, Milani e Amiri, 2024), gelificante em hidrogéis nanocompósitos de gelatina (Ge *et al.*, 2018), como inibidor da formação e recristalização do gelo (Correa-González, Sena e Wu, 2024) e antimicrobiana em filmes de gelatina (Etxabide *et al.*, 2024), embalagens de alimentos e em queijo Ricota (Kritchenkov *et al.*, 2021). Além disso, também pode ser utilizada como material *crosslinker* para a elaboração de hidrocoloides bioativos como aditivos alimentares (Bai *et al.*, 2023; Zhou, Dai, Liu, Tan, Bai, Rojas, Orlando J, *et al.*, 2021; Zou *et al.*, 2023). Porém, os mesmos estudos utilizaram a quitina comercial de crustáceos, o que amplia o interesse em investigar as possibilidades da aplicação da quitina e seus derivados oriundas de insetos comestíveis, visando tais aplicações em alimentos. Assim destaca o estudo de Kaya e colaboradores (Kaya, Sargin e Erdonmez, 2016) com quitina obtida do exoesqueleto abdominal de *Pimelia sp.* usada na elaboração de filme biodegradável com ação antimicrobiana contra *C. albicans* and *L. monocytogenes*, dois patógenos comum em alimentos.

O uso da quitina obtida do pó de tenébrio (*Tenebrio molitor* L.) via hidrólise enzimática e o seu efeito quando aplicada em pães foi estudada por Pyo e colaboradores (Pyo *et al.*, 2024). Os autores reportaram o efeito positivo da quitina hidrolisada de inseto no aumento de volume e na melhoria de textura dos pães estudados.

Como alternativa de elaboração de produtos com insetos comestíveis visando melhor aceitação de consumidores, Zhang e colaboradores (Zhang *et al.*, 2024) avaliaram as propriedades reológicas e as características mecânicas de géis derivados de insetos comestíveis para uso em impressão 3D. Os autores reportaram que a interação proteína e quitina com a massa foram fundamentais para a maleabilidade dos géis na impressão 3D, pois garantiram a capacidade de impressão.

Os estudos apresentados demonstram os potenciais uso da quitina de insetos em alimentos e visam atender a demandas industriais por polímeros de qualidade e capacidade funcional. Dito isso, para o progresso do uso da quitina de insetos em alimentos necessita-se de novas investigações com os detalhamentos dos usos, pois é essencial investir em pesquisas que explorem a aplicação da quitina extraída da *Hermetia illucens* em uma variedade de produtos alimentícios e estabelecer os limites e funcionalidades ao uso. Esses estudos devem focar não apenas na eficácia funcional da quitina, mas também na sua segurança e conformidade regulatória, garantindo assim a sua aceitação e adoção generalizada na produção de polímeros de qualidade e com benefícios adicionais para a saúde.

## 5. CONCLUSÕES

Diante do destaque da *Hermetia illucens* no cenário de insetos comestíveis e do crescente interesse do uso do seu exoesqueleto para a extração de quitina, apresenta-se o estado atual da sua extração, assim como perspectivas e oportunidades para novos estudos. Apesar de características em comum com o exoesqueleto de crustáceos, os exoesqueletos das diversas fases da BSF apresentam suas particularidades e necessitam de estudos específicos e aprofundados sobre a extração de quitina de sua matriz. Diante dos estudos apresentados, concluímos que ainda são insuficientes para elucidar as condições adequadas para o isolamento da quitina de cada uma das fases da *Hermetia illucens*. Além disso, são necessários padrões para apresentar os resultados obtidos, a fim de possibilitar a comparação entre os métodos e assim contribuir para o avanço do conhecimento. Paralelamente às investigações sobre as condições ótimas para a extração de quitina, é importante avaliar o impacto que essas extrações causam nas características físicas, química e tecno funcionais da quitina.

Finalmente, uma perspectiva do potencial uso da quitina em alimentos é apresentada para incentivar futuros estudos e aplicações da quitina da *Hermetia illucens* para esse setor.

## 6. REFERÊNCIAS

- Abo Elsoud, M. M., Elmansy, E. A., Abdelhamid, S. A., Abo Elsoud, C. M., Elmansy, E., & Abdelhamid, S. (2022). Economic and Non-Seasonal Source for Production of Chitin and Chitosan. *Journal of Chemical Reviews*, 4(3), 222–240. <https://doi.org/10.22034/JCR.2022.342454.1173>
- Ameh, A. O., Abutu, D., Isa, M. T., & Rabi, U. (2014). Kinetics of demineralization of shrimp shell using lactic acid. *Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies*, 13(24), 13–22. <http://lejpt.academicdirect.org>
- Arancibia, M. Y., Alemán, A., Calvo, M. M., López-Caballero, M. E., Montero, P., & Gómez-Guillén, M. C. (2014). Antimicrobial and antioxidant chitosan solutions enriched with active shrimp (*Litopenaeus vannamei*) waste materials. *Food Hydrocolloids*, 35, 710–717. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2013.08.026>
- Arancibia, M. Y., Alemán, A., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, P. (2015). Development of active films of chitosan isolated by mild extraction with added protein concentrate from shrimp waste. *Food Hydrocolloids*, 43, 91–99. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2014.05.006>
- Azarifar, M., Ghanbarzadeh, B., Sowti, M., Akhondzadeh, A., & Abdulkhani, A. (2020). *International Journal of Food Microbiology The effects of gelatin-CMC films incorporated with chitin nano fiber and Trachyspermum ammi essential oil on the shelf life characteristics of refrigerated raw beef*. 318(June 2019). <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108493>
- Bai, C., Zhu, J., Xiong, G., Wang, W., Wang, J., & Qiu, L. (2023). *Fortification of puffed biscuits with chitin and crayfish shell: Effect on physicochemical property and starch digestion*. March, 1–15. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1107488>
- Bhavsar, P. S., Dalla Fontana, G., & Zoccola, M. (2021). Sustainable Superheated Water Hydrolysis of Black Soldier Fly Exuviae for Chitin Extraction and Use of the Obtained Chitosan in the Textile Field. *ACS Omega*, 6(13), 8884–8893. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c06040>
- Brigode, C., Hobbi, P., Jafari, H., Verwilghen, F., Baeten, E., & Shavandi, A. (2020). Isolation and physicochemical properties of chitin polymer from insect farm side stream as a new source of renewable biopolymer. *Journal of Cleaner Production*, 275, 122924. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122924>
- Caligiani, A., Marseglia, A., Leni, G., Baldassarre, S., Maistrello, L., Dossena, A., & Sforza, S. (2018). Composition of black soldier fly prepupae and systematic approaches for extraction and fractionation of proteins, lipids and chitin. *Food Research International*, 105(12), 812–820. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.012>
- Catherine Terrell, & Laura Ingwell. (2022). *Guia de compostagem de mosca do soldado negro*. Purdue University Cooperative Extension. <https://extension.entm.purdue.edu/publications/E-276/E-276.html>
- Choi, B. D., Wong, N. A. K., & Auh, J. H. (2017). Defatting and Sonication Enhances Protein Extraction from Edible Insects. *Food Science of Animal Resources*, 37(6), 955–961. <https://doi.org/10.5851/KOSFA.2017.37.6.955>
- Correa-González, Y. X., Sena, T. C., & Wu, T. (2024). Chitin nanocrystals: A new material with ice-shaping and ice recrystallization inhibition activities. *Food Hydrocolloids*, 150, 109669. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109669>
- Delfino, D., Prandi, B., Ridolo, E., Dellafiora, L., Pedroni, L., Nicoletta, F., Cavazzini, D., Sforza, S., Tedeschi, T., & Folli, C. (2024). Allergenicity of tropomyosin variants identified in the edible insect *Hermetia illucens* (black soldier fly). *Food Chemistry*, 437, 137849. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137849>

EFSA Scientific Committee. (2015). Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. *EFSA Journal*, *13*(10). <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2015.4257>

Eggink, K. M., & Dalsgaard, J. (2023). Chitin contents in different black soldier fly (*Hermetia illucens*) life stages. *Journal of Insects as Food and Feed*, *9*(7), 855–863. <https://doi.org/10.3920/JIFF2022.0142>

El Knidri, H., Belaabed, R., Addaou, A., Laajeb, A., & Lahsini, A. (2018). Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. *International journal of biological macromolecules*, *120*(Pt A), 1181–1189. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.139>

Etxabide, A., Mojó, D., Guerrero, P., de la Caba, K., & Gómez-Estaca, J. (2024). Chitin nanowhisker-containing photo-crosslinked antimicrobial gelatin films. *Food Hydrocolloids*, *147*, 109371. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109371>

European Union. (2015). Regulation (EU) 2015/2283 of the European Parliament and of the Council of 25 november 2015. *Official Journal of the European Union*, *L 327/1*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/HTML/?uri=CELEX:32015R2283&qid=1713534514517>

Farokhi, N. M., Milani, J. M., & Amiri, Z. R. (2024). Fabrication of nanocomposite gelatin-based film by the pickering emulsion containing nanoparticles of chitin. *Journal of Food Engineering*, *367*(December 2023), 111885. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111885>

Feng, H., Wang, Z., Sajab, M. S., Abdul, P. M., & Ding, G. (2023). A novel chitinous nanoparticles prepared and characterized with black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) using steam flash explosion treatment. *International journal of biological macromolecules*, *230*, 123210. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123210>

FSIN and Global Network Against Food Crises. (2023). *Global Report on Food Crises 2023*. GRFC.

García-Serrano, P., Sánchez, A. H., Romero, C., García-García, P., de Castro, A., & Brenes, M. (2019). Processing of table olives with KOH and characterization of the wastewaters as potential fertilizer. *Science of The Total Environment*, *676*, 834–839. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.04.193>

Gbenebor, O. P., Adeosun, S. O., Adegbite, A. A., & Akinwande, C. (2018). Organic and mineral acid demineralizations: effects on crangon and *Liocarcinus vernalis*–sourced biopolymer yield and properties. *Journal of Taibah University for Science*, *12*(6), 837–845. <https://doi.org/10.1080/16583655.2018.1525845>

Ge, S., Liu, Q., Li, M., Liu, J., Lu, H., Li, F., Zhang, S., Sun, Q., & Xiong, L. (2018). Food Hydrocolloids Enhanced mechanical properties and gelling ability of gelatin hydrogels reinforced with chitin whiskers. *Food hydrocolloids*, *75*, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.09.023>

Hahn, T., Roth, A., Febel, E., Fijalkowska, M., Schmitt, E., Arsiwalla, T., & Zibek, S. (2018). New methods for high-accuracy insect chitin measurement. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *98*(13), 5069–5073. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9044>

Hahn, T., Roth, A., Ji, R., Schmitt, E., & Zibek, S. (2020). Chitosan production with larval exoskeletons derived from the insect protein production. *Journal of Biotechnology*, *310*, 62–67. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.12.015>

Hahn, T., Tafi, E., Paul, A., Salvia, R., Falabella, P., & Zibek, S. (2020). Current state of chitin purification and chitosan production from insects. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, *95*(11), 2775–2795. <https://doi.org/10.1002/JCTB.6533>

Hahn, T., Tafi, E., von Seggern, N., Falabella, P., Salvia, R., Thomä, J., Febel, E., Fijalkowska, M., Schmitt, E., Stegbauer, L., & Zibek, S. (2022). Purification of Chitin from Pupal Exuviae of the Black Soldier Fly. *Waste and Biomass Valorization*, *13*(4), 1993–2008. <https://doi.org/10.1007/s12649-021-01645-1>



- Hlongwane, Z. T., Slotow, R., & Munyai, T. C. (2020). Nutritional Composition of Edible Insects Consumed in Africa: A Systematic Review. *Nutrients*, *12*(9), 2786. <https://doi.org/10.3390/nu12092786>
- Huet, G., Hadad, C., Husson, E., Laclef, S., Lambertyn, V., Araya Farias, M., Jamali, A., Courty, M., Alayoubi, R., Gosselin, I., Sarazin, C., & Van Nhien, A. N. (2020). Straightforward extraction and selective bioconversion of high purity chitin from *Bombyx eri* larva: Toward an integrated insect biorefinery. *Carbohydrate Polymers*, *228*, 115382. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2019.115382>
- Jayanegara, A., Haryati, R. P., Nafisah, A., Suptijah, P., Ridla, M., & Laconi, E. B. (2020). Derivatization of Chitin and Chitosan from Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) and Their Use as Feed Additives: An In vitro Study. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, *8*(5), 472–477. <https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2020/8.5.472.477>
- Jeong, D. Y., Lee, E. T., Lee, J., Shin, D. C., Lee, Y. H., & Park, J. K. (2023). Effect of chemical structural properties of chitooligosaccharides on the immune activity of macrophages. *Macromolecular Research*, *31*(6), 569–582. <https://doi.org/10.1007/s13233-023-00143-8>
- Kaya, M., Baran, T., & Karaarslan, M. (2015). A new method for fast chitin extraction from shells of crab, crayfish and shrimp. *Natural Product Research*, *29*(15), 1477–1480. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1026341>
- Kaya, M., Sargin, I., & Erdonmez, D. (2016). Microbial bio film activity and physicochemical characterization of biodegradable and edible cups obtained from abdominal exoskeleton of an insect. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *36*, 68–74. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.05.018>
- Kemboi, V. J., Kipkoeh, C., Njire, M., Were, S., Lagat, M. K., Ndwigwa, F., Wesonga, J. M., & Tanga, C. M. (2022). Biocontrol Potential of Chitin and Chitosan Extracted from Black Soldier Fly Pupal Exuviae against Bacterial Wilt of Tomato. *Microorganisms* *2022*, Vol. *10*, Page *165*, *10*(1), 165. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS10010165>
- Khayrova A, & Lopatin S. (2022). The Potential of *Hermetia Illucens* as a Source of Chitin, Chitosan and their Melanin Complexes. *Polymer Sci peer Rev J*, *3*(4). <https://doi.org/10.31031/PSPRJ.2022.03.000568>
- Khayrova, A., Lopatin, S., & Varlamov, V. (2019). Black Soldier Fly *Hermetia illucens* as a Novel Source of Chitin and Chitosan. *International Journal of Sciences*, *8*(04), 81–86. <https://doi.org/10.18483/ijSci.2015>
- Khayrova, A., Lopatin, S., & Varlamov, V. (2020). Obtaining Chitin/Chitosan-Melanin Complexes from Black Soldier Fly *Hermetia Illucens*. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, *809*(1), 012020. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/809/1/012020>
- Khayrova, A., Lopatin, S., & Varlamov, V. (2021a). Obtaining and study of physicochemical properties of chitin/chitosan-melanin complexes from *Hermetia illucens*. *Journal of Physics: Conference Series*, *1942*(1), 012003. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1942/1/012003>
- Khayrova, A., Lopatin, S., & Varlamov, V. (2021b). Obtaining chitin, chitosan and their melanin complexes from insects. *International Journal of Biological Macromolecules*, *167*, 1319–1328. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.086>
- Kim, S. W., Jung, T. S., Ha, Y. J., Gal, S. W., Noh, C. W., Kim, I. S., Lee, J. H., & Yoo, J. H. (2019). Removal of fat from crushed black soldier fly larvae by carbon dioxide supercritical extraction. *Journal of Animal and Feed Sciences*, *28*(1), 83–88. <https://doi.org/10.22358/JAFS/105132/2019>
- Kramer, K. J., Hopkins, T. L., & Schaefer, J. (1995). Applications of solids NMR to the analysis of insect sclerotized structures. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, *25*(10), 1067–1080. [https://doi.org/10.1016/0965-1748\(95\)00053-4](https://doi.org/10.1016/0965-1748(95)00053-4)

- Kritchenkov, A. S., Kletskov, A. V., Egorov, A. R., Tskhovrebov, A. G., Kurliuk, A. V., Zhaliuzniak, N. V., Shakola, T. V., & Khrustalev, V. N. (2021). New water-soluble chitin derivative with high antibacterial properties for potential application in active food coatings. *Food chemistry*, *343*, 128696. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128696>
- Lagat, M. K., Were, S., Ndwigah, F., Kemboi, V. J., Kipkoech, C., & Tanga, C. M. (2021). Antimicrobial Activity of Chemically and Biologically Treated Chitosan Prepared from Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Pupal Shell Waste. *Microorganisms*, *9*(12), 2417. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9122417>
- Lee, Y. H., Kim, S. C., Nam, K. D., Kim, T. H., Jung, B. O., Park, Y.-I., Synytsya, A., & Park, J. K. (2022). Chitosan isolated from black soldier flies *Hermetia illucens*: Structure and enzymatic hydrolysis. *Process Biochemistry*, *118*, 171–181. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2022.04.020>
- Leni, G., Caligiani, A., & Sforza, S. (2019). Killing method affects the browning and the quality of the protein fraction of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) prepupae: a metabolomics and proteomic insight. *Food Research International*, *115*, 116–125. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2018.08.021>
- Leni, G., Caligiani, A., & Sforza, S. (2021). Bioconversion of agri-food waste and by-products through insects: a new valorization opportunity. Em *Valorization of Agri-Food Wastes and By-Products* (p. 809–828). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824044-1.00013-1>
- Lu, S., Taethaisong, N., Meethip, W., Surakhunthod, J., Sinpru, B., Sroichak, T., Archa, P., Thongpea, S., Paengkoum, S., Purba, R. A. P., & Paengkoum, P. (2022). Nutritional Composition of Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens* L.) and Its Potential Uses as Alternative Protein Sources in Animal Diets: A Review. Em *Insects* (Vol. 13, Número 9, p. 831). Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/insects13090831>
- Minh, T. L. T., Truc, T. T., & Osako, K. (2022). The effect of deproteinization methods on the properties of glucosamine hydrochloride from shells of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Ciência Rural*, *52*(1). <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200723>
- Mirwandhono, E., Nasution, M. I. A., & Yunilas. (2022). Extraction of chitin and chitosan black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupa phase on characterization and yield. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *1114*(1), 012019. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1114/1/012019>
- Mohan, K., Ganesan, A. R., Muralisankar, T., Jayakumar, R., Sathishkumar, P., Uthayakumar, V., Chandirasekar, R., & Revathi, N. (2020). Recent insights into the extraction, characterization, and bioactivities of chitin and chitosan from insects. *Trends in Food Science & Technology*, *105*, 17–42. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.08.016>
- Muzzarelli, R. A. A. (1977). Chitin. Em *Chitin*. Pergamon Press Ltd. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-02740-5>
- Nafisah, A., Nahrowi, Mutia, R., & Jayanegara, A. (2019). Chemical composition, chitin and cell wall nitrogen content of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) larvae after physical and biological treatment. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, *546*(4), 042028. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/546/4/042028>
- Naveed, M., Phil, L., Sohail, M., Hasnat, M., Baig, M. M. F. A., Ihsan, A. U., Shumzaid, M., Kakar, M. U., Mehmood Khan, T., Akabar, M. D., Hussain, M. I., & Zhou, Q. G. (2019). Chitosan oligosaccharide (COS): An overview. *International Journal of Biological Macromolecules*, *129*, 827–843. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.01.192>
- Ndiritu, A., Kinyuru, J., Onyango, A., & Kipkoech, C. (2023). Functional and microstructural characteristics of chitin extracted from field cricket, house cricket, and black soldier fly

cocoons. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17(6), 5903–5912. <https://doi.org/10.1007/s11694-023-02086-1>

Nekrasov, R. V., Zelenchenkova, A. A., Chabaev, M. G., & Ushakova, N. A. (2018). Melanine protein-energy additive from *Hermetia illucens* larvae in nutrition of calves. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya*, 53(2), 374–384. <https://doi.org/10.15389/AGROBIOLOGY.2018.2.374ENG>

Nouri, M., Khodaiyan, F., Razavi, S. H., & Mousavi, M. (2016). Improvement of chitosan production from Persian Gulf shrimp waste by response surface methodology. *Food Hydrocolloids*, 59, 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.08.027>

Ordoñez-Araque, R., Quishpillo-Miranda, N., & Ramos-Guerrero, L. (2022). Edible Insects for Humans and Animals: Nutritional Composition and an Option for Mitigating Environmental Damage. *Insects*, 13(10), 944. <https://doi.org/10.3390/insects13100944>

Oyekunle, D. T., & Omoleye, J. A. (2019). Effect of particle sizes on the kinetics of demineralization of snail shell for chitin synthesis using acetic acid. *Heliyon*, 5(11). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02828>

Pakizeh, M., Moradi, A., & Ghassemi, T. (2021). Chemical extraction and modification of chitin and chitosan from shrimp shells. *European Polymer Journal*, 159, 110709. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2021.110709>

Pedrazzani, C., Righi, L., Vescovi, F., Maistrello, L., & Caligiani, A. (2024). Black soldier fly as a New chitin source: Extraction, purification and molecular/structural characterization. *LWT*, 191, 115618. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115618>

Philibert, T., Lee, B. H., & Fabien, N. (2017). Current Status and New Perspectives on Chitin and Chitosan as Functional Biopolymers. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 181(4), 1314–1337. <https://doi.org/10.1007/S12010-016-2286-2/FIGURES/4>

Purkayastha, D., & Sarkar, S. (2020). Physicochemical Structure Analysis of Chitin Extracted from Pupa Exuviae and Dead Imago of Wild Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*). *Journal of Polymers and the Environment*, 28(2), 445–457. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10924-019-01620-x>

Pyo, S., Moon, C., Park, S., Choi, J., Park, J., Min, J., Choi, E., & Son, Y. (2024). Current Research in Food Science Quality and staling characteristics of white bread fortified with lysozyme-hydrolyzed mealworm powder ( *Tenebrio molitor* L .). *Current Research in Food Science*, 8(January), 100685. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2024.100685>

Rahman, M. M., Byanju, B., & Lamsal, B. P. (2023a). Protein, lipid, and chitin fractions from insects: Method of extraction, functional properties, and potential applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2168620>

Rahman, M. M., Byanju, B., & Lamsal, B. P. (2023b). Protein, lipid, and chitin fractions from insects: Method of extraction, functional properties, and potential applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–17. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2168620>

Rampure, S. M., Velayudhannair, K., & Marimuthu, N. (2023). Characteristics of chitin extracted from different growth phases of black soldier fly, *Hermetia illucens*, fed with different organic wastes. *International Journal of Tropical Insect Science*, 43(3), 979–987. <https://doi.org/10.1007/s42690-023-00997-6>

Smets, R., Verbinnen, B., Van De Voorde, I., Aerts, G., Claes, J., & Van Der Borgh, M. (2020). Sequential Extraction and Characterisation of Lipids, Proteins, and Chitin from Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae, Prepupae, and Pupae. *Waste and Biomass Valorization*, 11(12), 6455–6466. <https://doi.org/10.1007/S12649-019-00924-2/FIGURES/3>

Soetemans, L., Uyttendaele, M., & Bastiaens, L. (2020). Characteristics of chitin extracted from black soldier fly in different life stages. *International journal of biological macromolecules*, 165(Pt B), 3206–3214. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.041>

Tan, Y. N., Chin, Y. L., & Chen, W. N. (2021). Comparison of Sustainable Lipid and Protein Removal Methods for the Isolation of Insect Chitin from Black Soldier Fly Exoskeleton. *ACS Food Science & Technology*, *1*(4), 698–706. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.0c00104>

Taokaew, S., Zhang, X., Chuenkaek, T., & Kobayashi, T. (2020). Chitin from fermentative extraction of crab shells using okara as a nutrient source and comparative analysis of structural differences from chemically extracted chitin. *Biochemical Engineering Journal*, *159*, 107588. <https://doi.org/10.1016/J.BEJ.2020.107588>

Teli, M. D., & Sheikh, J. (2012). Extraction of chitosan from shrimp shells waste and application in antibacterial finishing of bamboo rayon. *International Journal of Biological Macromolecules*, *50*(5), 1195–1200. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2012.04.003>

Triunfo, M., Tafi, E., Guarnieri, A., Salvia, R., Scieuzo, C., Hahn, T., Zibek, S., Gagliardini, A., Panariello, L., Coltelli, M. B., De Bonis, A., & Falabella, P. (2022). Characterization of chitin and chitosan derived from *Hermetia illucens*, a further step in a circular economy process. *Scientific Reports*, *12*(1), 6613. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-10423-5>

Triunfo, M., Tafi, E., Guarnieri, A., Scieuzo, C., Hahn, T., Zibek, S., Salvia, R., & Falabella, P. (2021). Insect Chitin-Based Nanomaterials for Innovative Cosmetics and Cosmeceuticals. *Cosmetics*, *8*(2), 40. <https://doi.org/10.3390/cosmetics8020040>

Trung, T. S., Tram, L. H., Van Tan, N., Van Hoa, N., Minh, N. C., Loc, P. T., & Stevens, W. F. (2020). Improved method for production of chitin and chitosan from shrimp shells. *Carbohydrate research*, *489*, 107913. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2020.107913>

Wang, H., Rehman, K. ur, Feng, W., Yang, D., Rehman, R. ur, Cai, M., Zhang, J., Yu, Z., & Zheng, L. (2020). Physicochemical structure of chitin in the developing stages of black soldier fly. *International Journal of Biological Macromolecules*, *149*, 901–907. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.293>

Waśko, A., Bulak, P., Polak-Berecka, M., Nowak, K., Polakowski, C., & Bieganski, A. (2016). The first report of the physicochemical structure of chitin isolated from *Hermetia illucens*. *International Journal of Biological Macromolecules*, *92*, 316–320. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.07.038>

Xiong, A., Ruan, L., Ye, K., Huang, Z., & Yu, C. (2023). Extraction of Chitin from Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) and Its Puparium by Using Biological Treatment. *Life*, *13*(7), 1424. <https://doi.org/10.3390/life13071424>

Xu, J.-H., Xiao, S., Wang, J.-H., Wang, B., Cai, Y.-X., & Hu, W.-F. (2023). Comparative study of the effects of ultrasound-assisted alkaline extraction on black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae protein: Nutritional, structural, and functional properties. *Ultrasonics sonochemistry*, *101*, 106662. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106662>

Younes, I., Hajji, S., Frachet, V., Rinaudo, M., Jellouli, K., & Nasri, M. (2014). Chitin extraction from shrimp shell using enzymatic treatment. Antitumor, antioxidant and antimicrobial activities of chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, *69*, 489–498. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.06.013>

Younes, I., Hajji, S., Rinaudo, M., Chaabouni, M., Jellouli, K., & Nasri, M. (2016). Optimization of proteins and minerals removal from shrimp shells to produce highly acetylated chitin. *International Journal of Biological Macromolecules*, *84*, 246–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.08.034>

Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine drugs*, *13*(3), 1133–1174. <https://doi.org/10.3390/md13031133>

Yu, A., Beck, M., Merzendorfer, H., & Yang, Q. (2024). Advances in understanding insect chitin biosynthesis. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, *164*, 104058. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2023.104058>

- Zhang, W., Jia, Y., Guo, C., Devahastin, S., & Hu, X. (2024). Effect of compositions and physical properties on 3D printability of gels from selected commercial edible insects : Role of protein and chitin. *Food Chemistry*, 433(July 2023), 137349. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137349>
- Zhang, Y., Chen, Z., Bian, W., Feng, L., Wu, Z., Wang, P., & Zeng, X. (2015). Stabilizing oil-in-water emulsions with regenerated chitin nanofibers. *FOOD CHEMISTRY*, 183, 115–121. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.030>
- Zhou, D., Wang, H., & Guo, S. (2021). Preparation of Cellulose/Chitin Blend Materials and Influence of Their Properties on Sorption of Heavy Metals. *Sustainability 2021*, Vol. 13, Page 6460, 13(11), 6460. <https://doi.org/10.3390/SU13116460>
- Zhou, H., Dai, T., Liu, J., Tan, Y., Bai, L., Rojas, O. J., & Julian, D. (2021). Food Hydrocolloids Chitin nanocrystals reduce lipid digestion and  $\beta$  -carotene bioaccessibility : An in-vitro INFOGEST gastrointestinal study. *Food Hydrocolloids*, 113(October 2020), 106494. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106494>
- Zhou, P., Li, J., Yan, T., Wang, X., Huang, J., Kuang, Z., Ye, M., & Pan, M. (2019). Selectivity of deproteinization and demineralization using natural deep eutectic solvents for production of insect chitin (*Hermetia illucens*). *Carbohydrate polymers*, 225, 115255. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115255>
- Zhu, K. Y., Merzendorfer, H., Zhang, W., Zhang, J., & Muthukrishnan, S. (2016). Biosynthesis, Turnover, and Functions of Chitin in Insects. Em *Annual Review of Entomology* (Vol. 61, p. 177–196). Annual Reviews. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010715-023933>
- Złotko, K., Waśko, A., Kamiński, D. M., Budziak-Wieczorek, I., Bulak, P., & Bieganski, A. (2021). Isolation of Chitin from Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) and Its Usage to Metal Sorption. *Polymers*, 13(5), 818. <https://doi.org/10.3390/polym13050818>
- Zou, Y., Zhang, S., Liu, Y., Liu, L., Yu, J., & Fan, Y. (2023). Food Hydrocolloids In vitro digestion properties of different chitin nanofibrils stabilized lipid emulsions. *Food Hydrocolloids*, 139(January), 108512. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108512>

## **CAPÍTULO II: ACETIC ACID AS A SUSTAINABLE ALTERNATIVE TO DEMINERALIZATION DURING THE EXTRACTION OF CHITIN FROM PUPAL EXUVIAE OF *HERMETIA ILLUCENS* (DIPTERA: STRATIOMYIDAE)**

**Capítulo submetido à revista:** Food Research International

Joyce Cheve de Sá<sup>ab\*</sup>, Vanessa Ricas Biancardi<sup>ab</sup>, Vanessa Sales de Oliveira<sup>ab</sup>, Maria Clara Fonte Vieira de Araujo<sup>b</sup>, Vinícius Pimentel Silva<sup>c</sup>, Maria Ivone Martins Jacintho Barbosa<sup>ab</sup>, Davy William Hidalgo Chávez<sup>ab</sup>, Antonio Renato Bigansolli<sup>d</sup>, José Lucena Barbosa Júnior<sup>ab</sup>

<sup>a</sup>Postgraduate Program in Food Science and Technology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Rodovia Br 465, Seropédica, RJ, 23890-000, Brazil.

<sup>b</sup>Department of Food Technology, Institute of Technology

<sup>c</sup>Department of Animal Nutrition and Pastures, Institute of Animal Science.

<sup>d</sup>Department of Chemical Engineering, Institute of Technology.

**Abstract:** *Hermetia illucens* also called black soldier fly (BSF), has been underscored as a valuable chitin source, which plays a wide role in the food industry. However, chitin extraction requires previous demineralization, which is traditionally carried out with non-sustainable solvents like hydrochloric acid. Therefore, the chitin extraction from the BSF pupa exuviae was performed to compare the efficiency of demineralization extraction performed with organic acid (acetic acid) and mineral acid (hydrochloric acid). Both acids were used at room temperature (25 °C) and low concentration (0.6 M), obtaining the samples BSF\_chitin\_AA and BSF\_chitin\_HCl, respectively. Additionally, were compared with a commercial one (from crustaceans) regarding proximate composition, purity, and chemical composition through Fourier transform infrared analysis, X-ray diffraction, scanning electron microscopy, and thermal gravimetric analysis. No differences ( $p > 0.05$ ) on ash content among samples were observed. The content of 1.04 g/100 g on BSF\_chitin\_AA while 0.79 g/100 g on BSF\_chitin\_HCl and 1.12 g/100 g on the commercial chitin were observed. Thus, demineralization efficiencies reached 94.45% and 99.02%, respectively. The chitins molecular structure and chemical composition showed a similar profile, being characterized as  $\alpha$ -chitin. Regarding the morphology, the hexagonal shape of BSF\_chitin\_AA and BSF\_chitin\_HCl were exhibited, while rough structure on the commercial chitin. The highest thermal stability on BSF chitins was observed. Therefore, these findings revealed that the use of organic solvents to obtain chitin from pupal exuviae of BSF may result in a similar quality product to that obtained with mineral solvents, with promising and sustainable perspectives for demineralization.

**Keywords:** black soldier fly, green chemistry, polysaccharide, edible insect, Fourier transform infrared analysis, scanning electron microscopy, differential scanning calorimetry, thermal gravimetric analysis.

## 1 INTRODUCTION

Chitin is a polysaccharide composed of numerous N-acetyl- $\beta$ -D-glucosamine units connected by  $\beta$ -1,4-glycosidic bonds, being the second most abundant biopolymer in nature (Yu et al., 2024). This polymer and its derivatives have shown potential industrial applications with high economic value, primarily for the food industry, exhibiting stabilizing (Correa-gonz et al., 2024), preservative (Azarifar et al., 2020), emulsifying (Farokhi et al., 2024), gelling (Ge et al., 2018), and antimicrobial properties (Kritchenkov et al., 2021).

Regarding chitin sources, they mainly include industrial marine food residues, such as lobsters, crabs, and shrimp shells (Santos et al., 2020), which have established extraction methods. However, seasonal variations in crustacean production and logistical challenges in areas far from the coast may compromise the supply of such important material (Abo Elsouid et al., 2022). In contrast, chitin is also found in insects, which due to their sustainability, adaptation, and resistance, have become promising alternatives for chitin extraction aiming at its further industrial application (Antonov et al., 2019; Kaya et al., 2015; Khayrova et al., 2019).

Among these insects, *Hermetia illucens* L. (Diptera, Stratiomyidae), also known as black soldier fly (BSF), stands out, bioconverting up to 20% of organic waste into a chitin-rich biomass (Mertenat et al., 2019). Chitin is mainly found in the exoskeleton of BSF, in amounts that vary according to its growth cycle: about 7.8% in the larval stage, 11.32% in the pre-pupal stage, 10.98% in the pupal stage, and 10.05% in the adult fly. During BSF larvae rearing, two chitin-rich residues are eliminated. The molting exuviae derived from the exoskeleton renewal in the larval stage containing approximately 23.7% chitin. Pupal exuviae resulted from the metamorphosis from pupa to fly and contain 22.4% chitin (Ibadurrohman et al., 2020; Soetemans et al., 2020).

The most common methods for the commercial extraction of chitin are the chemical ones, which comprise the steps of demineralization and deproteinization. Therefore, hydrochloric acid (HCl) and sodium hydroxide (NaOH) are traditionally used to remove the minerals and proteins, respectively (Knidri et al., 2018). For BSF, the extraction applying these conventional methods has produced chitins with purity and structural characteristics similar to the commercial ones obtained from crustaceans (Caligiani et al., 2019; Khayrova et al., 2020; Pedrazzani et al., 2024; Triunfo et al., 2022). However, such solvents are used at high concentrations and/or temperatures, which results in high solvent and energy consumption. HCl and NaOH are also environmentally unfriendly and hinder the application of the extracted minerals and proteins for food purposes (Hamed et al., 2016). In addition, using these solvents may also cause chitin depolymerization and deacetylation (Gbenebor et al., 2017).

Considering these limitations, investigations have explored alternatives based on using organic acids to replace HCl during demineralization (Gbenebor et al., 2018; Kozma et al., 2024). Among them, acetic acid ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) has shown a demineralization efficiency comparable to HCl in crustaceans, especially those with soft exoskeletons whose embedded chitin content is higher than the mineral content (Gbenebor et al., 2018; Kozma et al., 2024). The demineralization of BSF pupal exuviae with acetic acid at different temperatures was not as efficient as the conventional process with HCl in a study by Hahn et al. (2022). The mixture of acetic and lactic acid together with ethanol was used for the simultaneous removal of lipids and minerals from the exuviae of BSF pupa and resulted in chitin with an acetylation degree corresponding to that of commercial chitin (Tan et al., 2021).

Although acetic acid has already been explored for demineralization, the studies have not analyzed its isolated application nor considered the temperature for calcium carbonate salt solubilization, which must be taken into account as its solubility is inversely proportional to temperature (Hahn et al., 2022). Additionally, there is a lack of studies regarding the

efficiency of mineral removal and the impacts on chitin chemical structure. Thus, aiming at the use and valorization of residues from BSF larvae rearing and the search for more sustainable extracting processes for chitin, this study compared the efficiency of the demineralization step performed with an organic acid (acetic acid) and a mineral acid (HCl), both at room temperature (25 °C) and low concentration (0.6 M), during the extraction of chitin from BSF pupal exuviae. Additionally, the chitin fractions obtained were compared with commercial chitin in terms of proximate composition, purity, and chemical composition through Fourier transform infrared analysis (FTIR), X-ray diffraction, scanning electron microscopy (SEM), and thermal gravimetric analysis (TGA).

## **2 MATERIALS AND METHODS**

### **2.1 Materials**

The exuviae of BSF pupa were supplied by the Lets Fly company (Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil), packaged in polyethylene bags, and stored in a freezer at -14 °C until use. Commercial chitin from shrimp shells (C7170) was obtained from Sigma-Aldrich (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA). All other chemicals used in this study were of analytical grade.

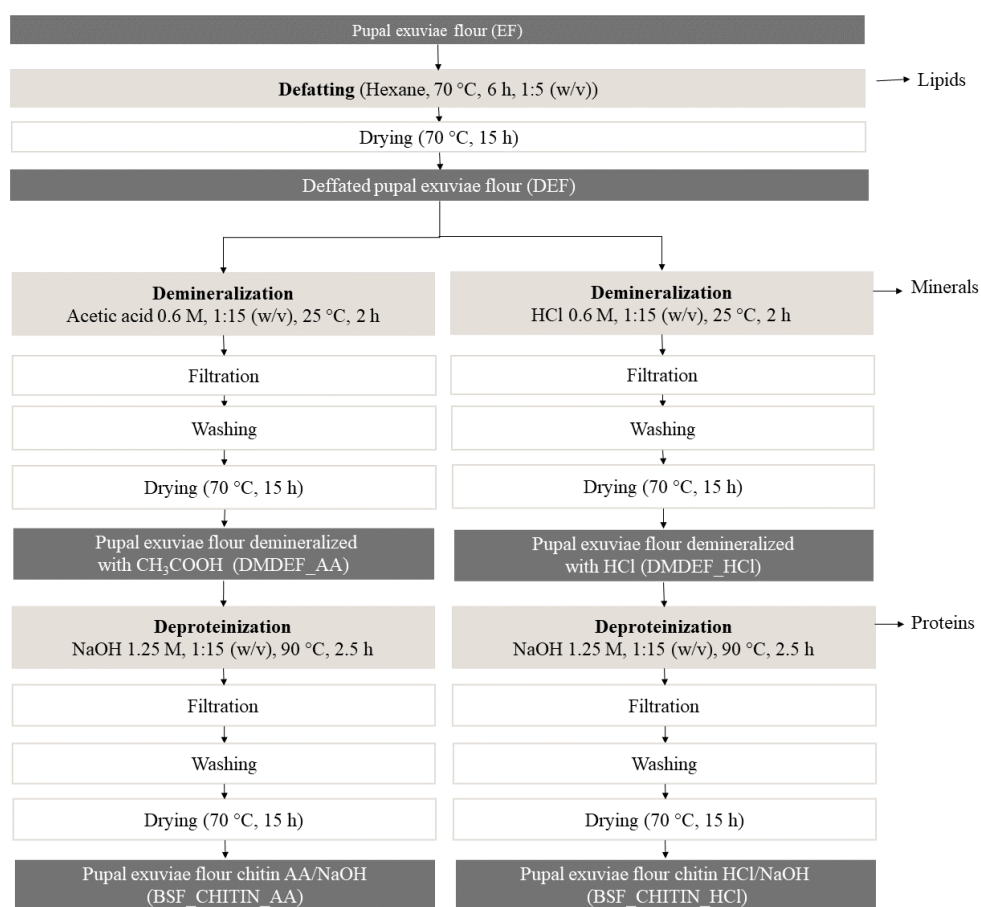
### **2.2 BSF exuviae preparation**

The impurities derived from the BSF creation were manually separated. Subsequently, the exuviae were washed with distilled water and dried in an oven with air circulation (Solab, Piracicaba, São Paulo, Brazil) at 70 °C for 15 h. To obtain the exuviae flour (EF), the dried material was ground for 15 seconds using an analytical mill (IKA, Wilmington, North Carolina, USA), passed through analytical sieves (24 mesh), and stored at -14 °C.

### **2.3 Chitin extraction**

Before extracting the chitin from BSF exuviae, the samples were defatted, demineralized, and deproteinized, as described in Figure 3.1.





**Figure 3 1:** Chitin general extraction scheme from BSF pupal exuviae.

### 2.3.1 Defatting

The lipids from BSF pupal exuviae were extracted using hexane (1:5; EF:solvent; w/v). The mixture was stirred at 200 rpm in a Dubnoff SL 158 Metabolic Water Bath (Solab, Piracicaba, São Paulo, Brazil) at 60 °C for 6 h. Then, the defatted sample was vacuum filtered and washed with 100 mL of hexane. The residual solvent was evaporated in an oven with air circulation (Solab, Piracicaba, São Paulo, Brazil) at 70 °C for 16 h, resulting in the defatted BSF exuviae flour (DEF).

The efficiency of defatting (EDF) was calculated according to Equation 1 (Triunfo et al., 2022).

$$\text{EDF (\%)}: ((L_0 - L) / L_0) \times 100 \quad (\text{Equation 1})$$

Where  $L_0$  and  $L$  are the lipid concentrations before and after defatting, respectively.

### 2.3.2 Demineralization

The demineralization was carried out using HCl or acetic acid. For both solvents, DEF was treated with a 0.6 M solution (DEF/solvent ratio of 1:15, w/v) under constant agitation at 200 rpm in a Shaker NT 715 incubator (Novatecnica, Piracicaba, São Paulo, Brazil), at 25 °C for 2 h. The demineralized solutions were vacuum filtered and the filtrates were washed with distilled water to neutralize and separate the solvents and minerals solubilized in samples.

Then, the flours treated with acetic acid and HCl were dried in an oven with air circulation at 70 °C for 15 h, resulting in the demineralized flours DMDEF\_AA and DMDEF\_HCl, respectively.

The efficiency of demineralization (EDM) was calculated according to Equation 2 (Triunfo et al., 2022).

$$\text{EDM (\%)}: ((M_0 - M) / M_0) \times 100 \quad (\text{Equation 2})$$

Where  $M_0$  and  $M$  are the minerals concentrations before and after demineralization, respectively.

### 2.3.3 Deproteinization

Chemical deproteinization was performed according to Hahn et al. (2022). The samples obtained in item 2.3.2, DMDEF\_AA or DMDEF\_HCl, were submitted to protein extraction with a 1.25 M NaOH solution (sample/solvent ratio of 1:10, w/v) at 200 rpm in a Dubnoff SL 158 Metabolic Water Bath at 90 °C for 2.5 h. After incubation, the solutions were vacuum filtered and the filtrates were washed with distilled water until neutralization. The flours obtained were dried in an oven with air circulation at 70 °C for 15 h, resulting in chitin fractions from the exuviae of BSF: BSF\_chitin\_AA and BSF\_chitin\_HCl.

The efficiency of deproteinization (EDP) was calculated according to Equation 3 (Triunfo et al., 2022).

$$\text{EDP (\%)}: ((P_0 - P) / P_0) \times 100 \quad (\text{Equation 3})$$

Where  $P_0$  and  $P$  are the protein contents before and after deproteinization, respectively.

## 2.4 Proximate composition

The proximate composition of samples was determined following the Association of Official Analytical Chemists procedures (AOAC, 2002), with modifications. The moisture content was determined by dehydrating the samples in a forced air oven at 105 °C until achieve constant weight. The ash content was determined by incinerating the samples in a muffle at 550 °C for 24 h. Soxhlet extraction method was applied to determine the total fat content. Protein content was determined by the Kjeldahl method, using the conversion factor of 4.76 (Janssen et al., 2017).

The chitin content was assessed using the method proposed by Hahn et al. (2018), which is based on the similarity between chitin and cellulose. The acid detergent fiber (ADF) content provides the content of chitin and catecholamines, while the acid detergent lignin (ADL) considers only the catecholic compounds. Thus, the chitin content was calculated by Equation 4.

$$\text{Chitin content (\%)} = \text{ADF (\%)} - \text{ADL (\%)} \quad (\text{Equation 4})$$

Additionally, the chitin yield (CY) was calculated by gravimetric measurements of the flour obtained from the BSF larvae exoskeleton (EF) and the chitin obtained after the extraction process, on dry weight as follows (Equation 5) (Złotko et al., 2021):

$$\text{CY (\%)} = \text{BSF\_chitin (g)} / \text{EF weight (g)} \quad (\text{Equation 5})$$

## 2.5 Thermal gravimetric analysis (TGA)

The thermogravimetric analysis was carried out using the NETZSCH equipment, model STA 449 F3 Jupiter (NETZSCH, Hanau, Hesse, Germany). The samples were analyzed between 25 and 700 °C, in an inert N<sub>2</sub> atmosphere, with a flow rate of 100 mL/min as purging and protective gas, and a heating rate of 10 °C/min.

## 2.6 Fourier transform infrared (FTIR) analysis

FTIR analysis was performed to determine the presence and alterations of the functional groups present in the pupal exuviae of BSF and the extracted chitins. It was performed using the VERTEX 70 equipment, ATR PLATINUM (Bruker, Billerica, Massachusetts, EUA), in a range from 4000 cm<sup>-1</sup> to 400 cm<sup>-1</sup>. Peak signals in the spectra were analyzed using OriginPro 2018 SR1 software (OriginLab Corporation, 2018). Commercial chitin (crustacean shells) was also analyzed for comparison.

## 2.7 X-ray diffraction (XRD)

The X-ray diffraction spectra of samples (EF, BSF\_chitin\_AA, BSF\_chitin\_HCl, and commercial chitin) were obtained using the Miniflex II Dekstop equipment (Rigaku, Tokyo, Japan) with Cu- $\alpha$  radiation, a range of 10 to 90° at 0.05s<sup>-1</sup>. The results were analyzed using OriginPro 2018 SR1 software (OriginLab Corporation, 2018). The crystallinity index (CrI) was calculated by dividing the area of the crystalline peaks by the total area under the curve, according to Equation 6 (Rampure et al., 2023).

$$\text{CrI (\%)} = (\text{crystalline area} / \text{total area}) \times 100 \quad (\text{Equation 6})$$

## 2.8 Scanning electron microscopy (SEM)

The SEM analysis was performed using a LEO 1450 VP scanning electron microscope (Carl Zeiss, Oberkochen, Baden-Württemberg, Germany). The acceleration voltage was 20 kV and the sample images were acquired at 1600x.

## 2.9 Statistical analysis

All analyses were performed in triplicate and the results were expressed as mean  $\pm$  standard deviation. Data were analyzed by one-way ANOVA, followed by the multiple mean comparison test of Tukey. All tests were performed using a 5% significance and the software R version 4.2.1 (The R Foundation, 2023).

# 3 RESULTS AND DISCUSSION

## 3.1 Proximate composition and extraction efficiency

Table 3.1 presents the proximate composition of flours derived from the BSF pupal exuviae at different treatment steps, including untreated (EF), defatted (DEF), demineralized (DMDEF\_AA and DMDEF\_HCl), and deproteinized (BSF\_chitin\_AA and BSF\_chitin\_HCl)

samples, as well as the commercial chitin from crustaceans. These results indicate the effectiveness of each process step, also revealing its impact on the chemical composition.

Regarding the composition of the untreated BSF pupal exuviae flour, the values found herein were different from the ones described in the literature, except for ash. Previous studies have reported the following contents: around 8% of moisture, 3% to 9% of lipids, 30% of protein, and 14.1% to 25.5% of chitin (Bhavsar et al., 2021; Hahn et al., 2022; Khayrova et al., 2020; Soetemans et al., 2020; Tan et al., 2021; Triunfo et al., 2022; Wang et al., 2020). These differences can be attributed to the larvae rearing and feeding conditions, in addition to the exuviae pre-processing (Hlongwane et al., 2020; Rampure et al., 2023).

In contrast to the exoskeleton of crustaceans, which contains 0.7% lipids (Younes & Rinaudo, 2015), the BSF pupal exuviae have high lipid levels, requiring the defatting step for chitin extraction as performed in the present study. As demonstrated in Table 3.1, the lipid content of BSF\_chitin\_AA ( $0.32 \pm 0.03$  g/100 g) was lower than that found in the commercial chitin ( $0.98 \pm 0.03$  g/100 g) and the BSF\_chitin\_HCl ( $0.85 \pm 0.07$  g/100 g) ( $p \leq 0.05$ ), indicating the lipid extraction efficiency (Table 3.2). Khayrova et al. (2020) determined similar defatting degrees when studying BSF pupal exuviae, with 95.51% using 50% NaOH and 90.35% using 5% KOH.

For the demineralization step, hydrochloric acid (99.02%) showed a higher efficiency than acetic acid (94.45%) ( $p \leq 0.05$ ) (Table 3.2); however, both solvents provided chitin with similar ash contents of commercial chitin (Table 3.1). These results confirm the feasibility of replacing hydrochloric acid by acetic acid. Thus, using the organic solvent acetic acid provides more sustainable processing conditions as the extracted minerals may be used for several applications, such as human food, animal feed, and agriculture.

Hahn et al. (2022) achieved efficiency values of 62% and 80% during the demineralization of BSF pupal exuviae using acetic acid at 40 and 70 °C, respectively, which were lower than the one found in the present study. It may be due to the inverse solubility of calcium carbonate that allows a more economical process through the use of solvents at room temperature. Other extract conditions were evaluated showing the following efficiency percentages: 85% with 0.5 M formic acid for 1 hour at room temperature (Triunfo et al., 2022) and 84.1% with 1% HCl for 2 hours at 20 °C (Khayrova et al., 2020). Maximum efficiency of 100% was described by Pedrazzani et al. (2024) when demineralization was performed in two steps, using 2 M HCl for 24 hours at room temperature. However, in the present study, hydrochloric acid was used in a lower concentration (0.6 M) and a shorter time (2 h), indicating a more economical and sustainable process.

Despite the low efficiency of deproteinization (37.36% for samples treated with acetic acid and 37.57% for samples treated with HCl) (Table 2), the chitins obtained in the present study have protein contents similar to the commercial chitin (Table 1). The use of NaOH for the deproteinization of BSF pupae exuviae has also been evaluated by other authors, who achieved deproteinization efficiencies of 92% with 2 M NaOH for 2 hours at 80 °C (Triunfo et al., 2022) and 96% with 1.25 M NaOH for 4 hours at 90 °C (Hahn et al., 2022).

The chitin extraction yields were 32.37% and 32.58% for samples obtained by demineralization with acetic acid and HCl, respectively ( $p \geq 0.05$ ), which were higher than those found in the literature, where the chitin yield of BSF pupal exuviae was 23.82% using HCl and NaOH (Xiong et al., 2023) and 31% using formic acid and NaOH (Triunfo et al., 2022). It may be attributed to the presence of proteins in the final chitin, causing an overestimation of chitin yield values.

**Table 3 1:** Proximate composition (g/100 g) of flours derived from the BSF pupal exuviae at different treatment steps, chitins from BSF pupal exuviae, and chitin of commercial chitin.

<b>Analysis (g/100 g)</b>	<b>EF</b>	<b>DEF</b>	<b>DMDEF_AA</b>	<b>DMDEF_HCl</b>	<b>BSF_chitin_AA/N aOH</b>	<b>BSF_chitin_HCl/NaOH</b>	<b>Commercial chitin</b>
<b>Moisture</b>	2.41 ± 0.25 <sup>a</sup>	NA	1.30 ± 0.07 <sup>b</sup>	0.94 ± 0.0 <sup>bcd</sup>	0.66 ± 0.04 <sup>d</sup>	0.76 ± 0.06 <sup>cd</sup>	1.16 ± 0.07 <sup>bc</sup>
<b>Lipids</b>	2.07 ± 0.39 <sup>a</sup>	0.07 ± 0.01 <sup>c</sup>	NA	NA	0.32 ± 0.03 <sup>c</sup>	0.85 ± 0.07 <sup>b</sup>	0.98 ± 0.03 <sup>b</sup>
<b>Ash</b>	13.37 ± 0.31 <sup>a</sup>	13.31 ± 0.31 <sup>a</sup>	0.74 ± 0.04 <sup>bc</sup>	0.13 ± 0.00 <sup>c</sup>	1.04 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.79 ± 0.05 <sup>b</sup>	1.12 ± 0.07 <sup>b</sup>
<b>Protein</b>	38.18 ± 0.24 <sup>b</sup>	NA	48.55 ± 1.85 <sup>a</sup>	48.48 ± 4.04 <sup>a</sup>	31.08 ± 0.06 <sup>c</sup>	30.70 ± 1.76 <sup>c</sup>	28.75 ± 1.30 <sup>c</sup>
<b>ADF</b>	40.87 ± 1.36 <sup>c</sup>	NA	NA	NA	92.39 ± 0.36 <sup>a</sup>	88.22 ± 0.26 <sup>ab</sup>	86.32 ± 0.45 <sup>b</sup>
<b>ADL</b>	7.58 ± 0.82 <sup>a</sup>	NA	NA	NA	8.92 ± 0.03 <sup>a</sup>	8.42 ± 0.20 <sup>a</sup>	1.64 ± 0.15 <sup>b</sup>
<b>Chitin (ADF-ADL)</b>	33.29	NA	NA	NA	83.47	79.80	84.68

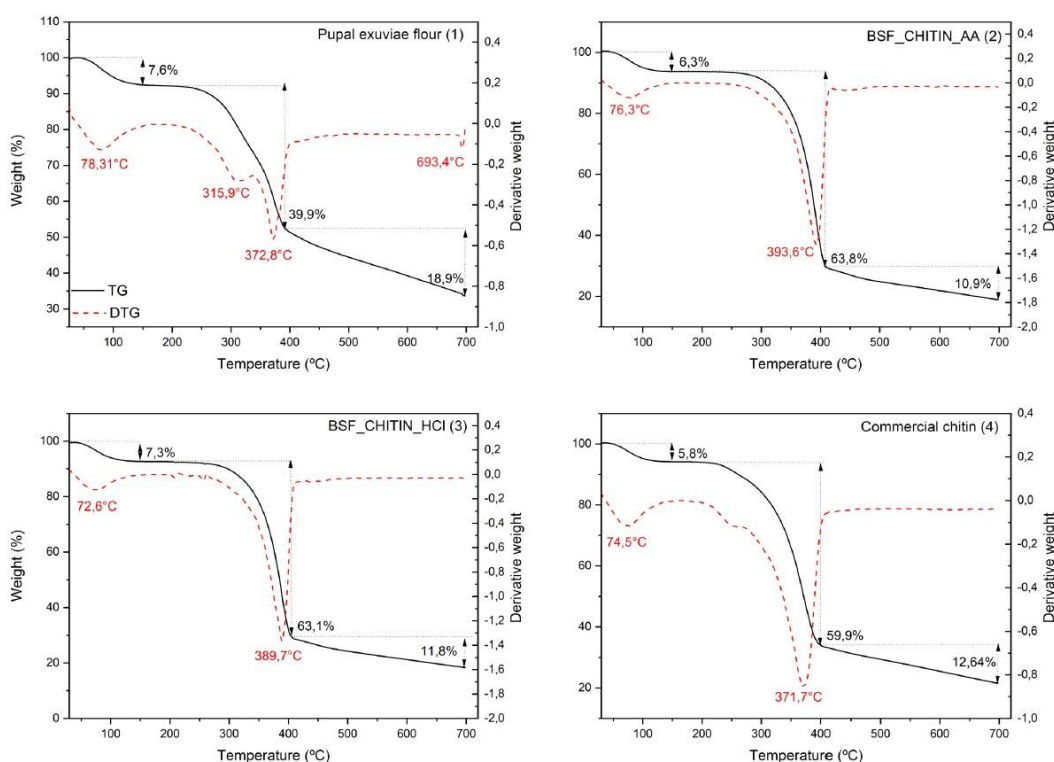
Values represent means ± standard deviation in triplicates. Different letters in the same row indicate significant differences ( $p \leq 0.05$ ). ADL = acid detergent lignin; ADF = acid detergent fiber; NA = not available; EF = BSF pupal exuviae flour; DEF = defatted BSF pupal exuviae flour; DMDEF\_AA = BSF pupal exuviae flour desmineralized with acetic acid; DMDEF\_HCl = BSF pupal exuviae flour desmineralized with HCl; BSF\_chitin\_AA/NaOH = chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with acetic acid and deproteinization with NaOH; BSF\_chitin\_HCl/NaOH = chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with HCl and deproteinization with NaOH

**Table 3 2:** Efficiency of defatting, demineralization, deproteinization, and the chitin extraction yield regarding the methodologies performed by the demineralization with acetic acid (BSF\_chitin\_AA) and HCl (BSF\_chitin\_HCl).

<b>Sample</b>	<b>Defattin g efficiency (%)</b>	<b>Demineral ization efficiency (%)</b>	<b>Deproteini zation efficiency (%)</b>	<b>Chitin extraction yield (%)</b>
<b>BSF_chitin_AA</b>	96.60	94.45	37.36	32.37
<b>BSF_chitin_HCl</b>	96.60	99.02	37.57	32.58

### 3.2 Thermal gravimetric analysis

Thermal gravimetric analysis was performed to investigate the thermal stability and degradation rate of EF, BSF\_chitin\_AA, BSF\_chitin\_HCl, and commercial chitin (Figure 3.2). Both BSF\_chitin\_AA and BSF\_chitin\_HCl samples exhibited three decomposition stages, with no intermediate formation. The first stage consisted of evaporating water at temperatures below 150 °C. The second stage occurred between 150 and 400 °C, when chitin decomposition is mainly due to depolymerization (Purkayastha & Sarkar, 2020), dehydration of the saccharide rings, and deacetylation (Wang et al., 2020). The third stage, at temperatures above 400 °C, resulted in the degradation of calcium carbonate, forming calcium oxide and carbon dioxide (Zhou et al., 2019). The total mass loss of the samples was 66.4% for EF, 81.00% for BSF\_chitin\_AA, 82.20 % for BSF\_chitin\_HCl, and 78.34 % for commercial chitin.



**Figure 3.2:** Thermal gravimetric analysis of BSF exuviae flour (EF) (1), chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with acetic acid (BSF\_chitin\_AA) (2), chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with HCl (BSF\_chitin\_HCl) (3), and commercial chitin (4).

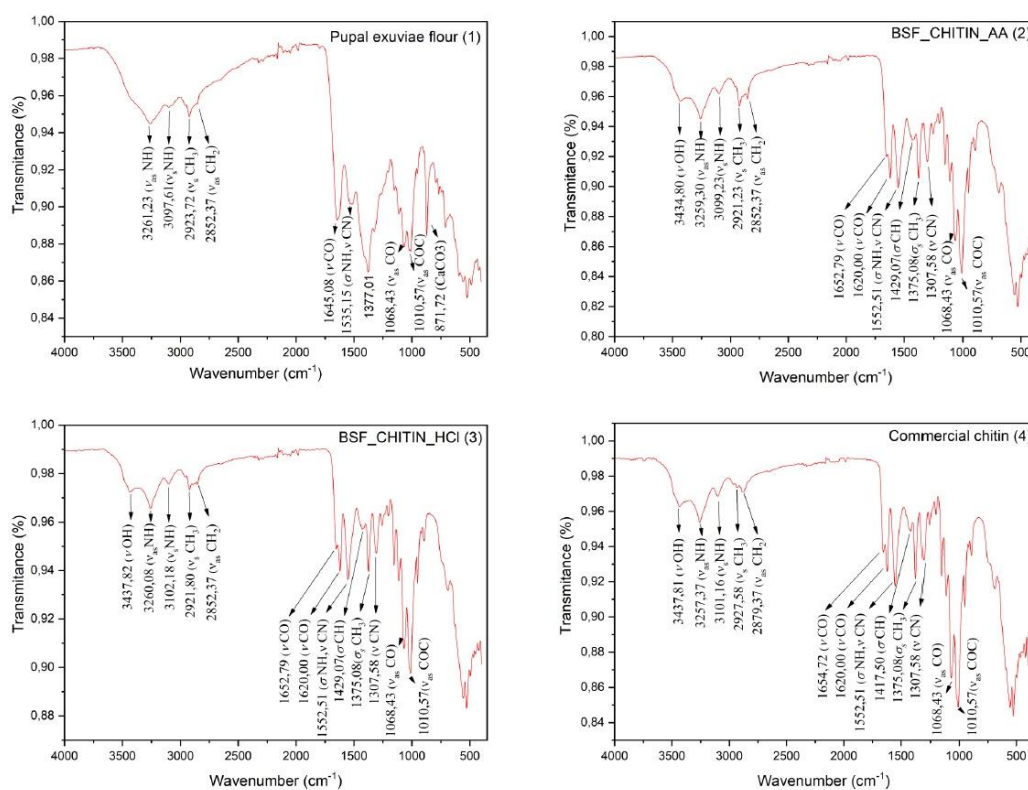
The maximum degradations (DTG\_max) of chitins from BSF pupal exuviae were determined at 393.6 °C for BSF\_chitin\_AA, 389.7 °C for BSF\_chitin\_HCl and 371.1 °C for commercial chitin (Figure 2), which is in agreement with other studies that reported maximum degradation at 389.7 °C (Zhou et al., 2019), 392 °C (Purkayastha & Sarkar, 2020), and from 356 to 392 °C (Złotko et al., 2021). The chitins extracted in this study showed greater thermal stability than the commercial chitin of crustaceans. However, a lower chitin decomposition was observed when the sample was demineralized with HCl compared to acetic acid. It may be explained by the higher molecular weight of chitins treated with acetic

acid (Zhou et al., 2019), which consequently resulted in lower depolymerization during the extraction process.

Both BSF chitins showed simple DTG curves, revealing the purity of the extracted samples. The thermal event at 693.4 °C determined for the untreated BSF pupal exuviae (EF) is characteristic of mineral decomposition (Zhou et al., 2019). Thus, the absence of this thermal event in chitin samples confirms the efficiency of the demineralization carried out with acetic acid and HCl at room temperature and concentrations.

### 3.3 Fourier transform infrared (FTIR) analysis

The FTIR analysis determined the molecular structure of the samples through the spectra present in Figure 3.3, which shows the transmitted wavenumber according to the bands specified in Table 3.3.



**Figure 3 3:**Fourier transform infrared spectra of BSF exuviae flour (EF) (1), chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with acetic acid (BSF\_chitin\_AA) (2), chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with HCl (BSF\_chitin\_HCl) (3), and commercial chitin (4).

The characteristic bands of chitin (O–H, C=O (amide I), and N–H) were identified in chitins from BSF pupal exuviae and the commercial chitin. These bands have also been reported in other sources of chitin, such as *Acheta domesticus*, *Gryllus bimaculatus*, *Holotrichia parallel*, and *Orthoptera* species (Kaya et al., 2015; Liu et al., 2012; Ndiritu et al., 2023). Additionally, bands ranging from 2927.58 cm<sup>-1</sup> to 2852.37 cm<sup>-1</sup> were also found in all samples, representing the symmetrical stretching of CH<sub>3</sub> and the asymmetrical stretching of CH<sub>2</sub>.

The C=O (Amide I) stretch vibrations of chitins from BSF pupal exuviae and the commercial chitin of crustaceans were divided into two parts, around 1654 cm<sup>-1</sup> and 1620

cm<sup>-1</sup> (Table 3). It may be due to  $\alpha$ -chitin, which is involved in two intramolecular hydrogen bonds: between the carbonyl group and CH<sub>2</sub>OH (1620 cm<sup>-1</sup>) and between the carbonyl group and NH (1654 cm<sup>-1</sup>) (Rinaudo, 2006). This finding is in agreement with other studies on  $\alpha$ -chitin obtained by different chemical methods and stages of *Hermetia illucens* (Brigode et al., 2020; Hahn et al., 2022; Lagat et al., 2021; Purkayastha & Sarkar, 2020; Rampure et al., 2023; Soetemans et al., 2020; Triunfo et al., 2022; Wang et al., 2020; Xiong et al., 2023), while Feng et al. (2023) determined the structure of  $\beta$ -chitin using a steam flash explosion treatment.

**Table 3 3:** Fourier transform infrared bands from BSF pupal exuviae flour (EF), chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with acetic acid (BSF\_chitin\_AA), chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with HCl (BSF\_chitin\_HCl), and commercial chitin.

Function groups and vibration mode	EF (cm <sup>-1</sup> )	BSF_chitin_AA (cm <sup>-1</sup> )	BSF_chitin_HCl (cm <sup>-1</sup> )	Commercial chitin (cm <sup>-1</sup> )
Hydroxyl (OH) stretch	NA	3434.80	3437.82	3437.81
NH (amide II) asymmetric stretch	3261.23	3259.30	3260.08	3257.37
NH (amide II) symmetrical stretch	3099.23	3099.23	3102.18	3101.16
CH <sub>3</sub> (aliphatic compound) symmetrical stretch	2923.72	2921.80	2921.80	2927.58
CH <sub>2</sub> (aliphatic compounds) asymmetric stretch	2852.37	2852.37	2852.37	2879.37
CO stretch (amide I)	1645.08	1652.79	1652.79	1654.72
NH flexion, CN stretch (amide II stretch)	NA	1620.00	1620.00	1620.00
NH flexion, CN stretch (amide II stretch)	1535.15	1552.51	1552.51	1552.51
CH <sub>2</sub> and CH <sub>3</sub> flexion	NA	1429.07	1429.07	1417.50
CH <sub>3</sub> symmetrical flexion	NA		1375.58	1375.08
CN stretch (amide III) (1310)	NA		1307.58	1307.58
C-O asymmetrical stretch in the phase ring (1069)	1068.43		1068.43	1068.43
C-O-C asymmetric stretch in the phase ring (saccharide rings)	1010.57		1010.57	1010.57

NA = Not available.

Two NH bending modes are expected in chitin, one in-plane and the other out-of-plane. The NH flexion mode in plane is mixed with the CN stretch mode, which gives rise to the amide II band (Pearson et al., 1960), characterized by the 1552.51 cm<sup>-1</sup> bands. The absence of peaks at 1540 cm<sup>-1</sup> may reflect the protein removal efficiency (Xiong et al., 2023). On the other hand, the out-of-plane mode of NH flexion gives rise to the amide III band, with a band at 1307.58 cm<sup>-1</sup> for all chitin samples (Table 3.3).

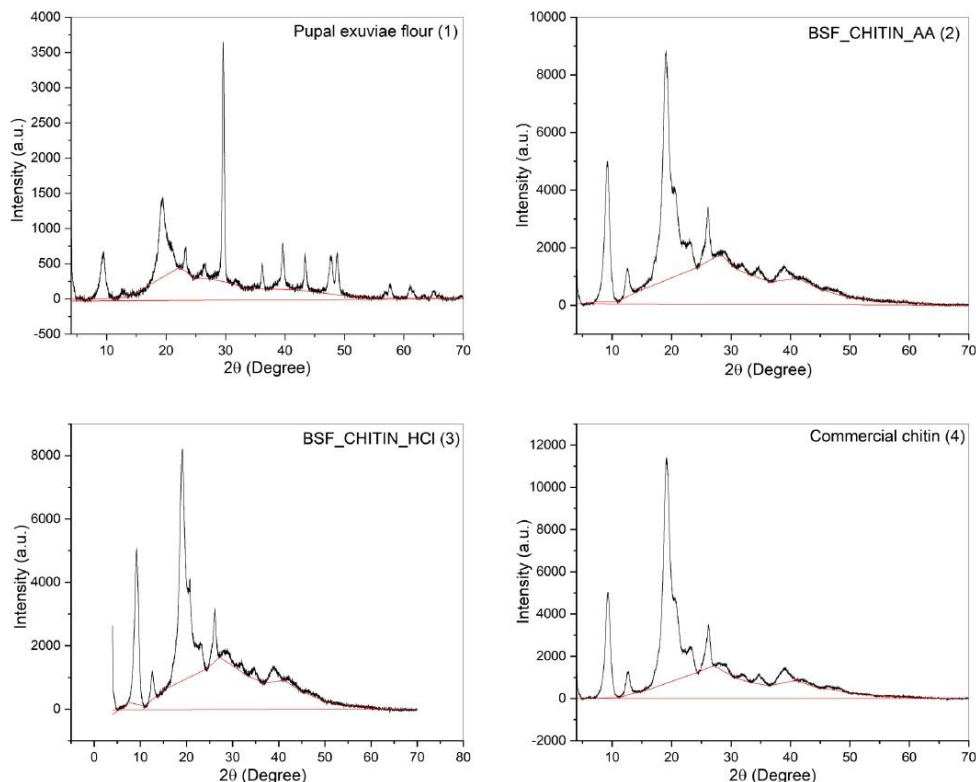
Other bands were identified for chitin samples at 1417.50 - 1429.07 cm<sup>-1</sup> (CH<sub>2</sub> termination and CH<sub>3</sub> deformation), 1375.58 cm<sup>-1</sup> (CH<sub>3</sub> symmetrical deformation), 1068.43 cm<sup>-1</sup> (asymmetrical stretch C-O in phase ring), and 1010.57 cm<sup>-1</sup> (asymmetric stretch C - O - C in phase ring). For the BSF pupal exuviae sample, in addition to the identification of some characteristic bands of chitin, the characteristic band of CaCO<sub>3</sub> at 871.72 cm<sup>-1</sup> was also



identified. Therefore, the absence of this band in BSF chitin samples indicates the efficiency of the demineralization step performed with acetic acid and HCl (Mohammed et al., 2013).

### 3.4 X-ray diffraction (XRD)

X-ray diffraction allows studying the atomic and molecular structure of the crystal. Chitins from BSF pupal larvae and the commercial chitin showed characteristic peaks of  $\alpha$ -chitin (Figure 3.4) with four clear crystalline peaks between  $9.2^\circ$  and  $19.1^\circ$ , and smaller reflections around  $20.5^\circ$  and  $23.1^\circ$ , as reported by Soetemans et al. (2020).



**Figure 3 4:** X-ray diffraction of BSF exuviae flour (1), chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with acetic acid (BSF\_chitin\_AA) (2), chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with HCl (BSF\_chitin\_HCl) (3), and commercial chitin (4).

Some differences were observed, such as the less pronounced peak  $19.46^\circ$  in the BSF pupal exuviae. The peaks' location was also different regarding the BSF chitins extracted by the diverse methodologies and the commercial one, a fact that has also been reported in other studies (Soetemans et al., 2020). No significant differences were found between the BSF\_chitin\_AA and BSF\_chitin\_HCl spectra.

The crystallinity indexes (CrI) of BSF pupal larvae (47.26%), BSF\_chitin\_HCl (42.60%), and BSF\_chitin\_AA (44.32%) were lower than that of commercial chitin of crustaceans (54.01%) (Table 3.4). The demineralization with HCl caused a reduction of 4.66% in the crystallinity of BSF chitin, while acetic acid reduced it by 2.94%, showing that crystallinity may be influenced by the extraction method (Brigode et al., 2020). This decrease suggests a distortion in the chitin crystal structure, which arises due to the cleavages of the intra- and intermolecular hydrogen bonds caused by the acid.

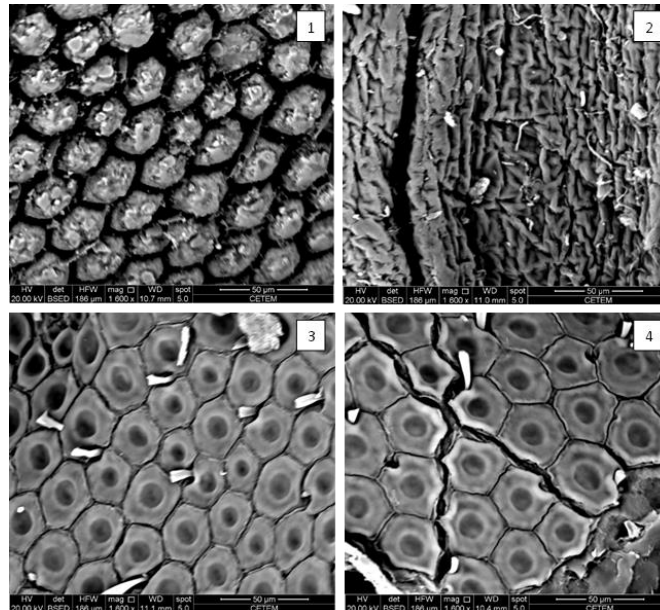
**Table 3 4:** Crystallinity index of BSF pupal exuviae flour (EF), chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with acetic acid (BSF\_chitin\_AA), chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with HCl (BSF\_chitin\_HCl), and commercial chitin.

Sample	Amorphous region (%)	CrI (%)
EF	52.74	47.26
BSF_chitin_AA	55.68	44.32
BSF_chitin_HCl	57.40	42.60
Commercial chitin	45.99	54.01

These results differ from other studies that reported 8.44% (Wang et al., 2020), 74.1% (Brigode et al., 2020), 74% (Hahn et al., 2022), 67% (Triunfo et al., 2022), and 71.39% (Rampure et al., 2023) of crystallinity in BSF pupal exuviae. However, the different methods used to calculate crystallinity may influence the final values.

### 3.5 Scanning electron microscopy (SEM)

The SEM analysis showed similar superficial morphologies for the BSF pupal exuviae and the BSF chitins obtained through the treatment with HCl/NaOH and acetic acid/NaOH (4) (Figure 3.5). The surfaces presented a hexagonal-shaped structure as a honeycomb like structure (Purkayastha & Sarkar, 2020; Soetemans et al., 2020; Waško et al., 2016). However, the central depression, which is observed in the honeycomb structure, was determined only on the chitin surface of the BSF exuviae. This depression is due to the demineralization stage, which removes the CaCO<sub>3</sub> blocks present in BSF pupal exuviae (Rebora et al., 2023). At 1600x magnification, no differences were observed between chitins demineralized with HCl or acetic acid. Although no pores were detected in the BSF pupal exuviae at 1600x magnification in the present study, disorganized and non-adherent pores and nanofibers can be observed at 5000x, resulting in a spongy surface (Soetemans et al., 2020). Different from the surface of chitin obtained from BSF pupal exuviae, commercial chitin from crustaceans showed a rough structure.



**Figure 3 5:** Scanning electron microscopy images. (1) BSF pupal exuviae flour, (2) commercial chitin, (3) chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with HCl, (4) chitin obtained by demineralization of BSF pupal exuviae flour with acetic acid.

## 4 CONCLUSIONS

The processes presented in the present study are effective in obtaining chitin from the exuvia of the *Hermetia illucens* pupa, according to the standards of commercial chitin. For the first time, a sustainable and economic protocol for the demineralization of BSF pupal is established, using acetic acid and HCl in low concentrations, at room temperature, and for a shorter period. Therefore, achieving a great efficiency of exuvia demineralization of the *Hermetia illucens* pupa using acetic acid represents a promising perspective for the replacement of mineral acids by organic solvents, which allows the use of the chitin and minerals extracted by the food industry and agriculture. It is demonstrated that the treatments presented herein did not affect the chemical structure and morphology of chitin, providing a material with thermal stability and characteristics similar to that of the commercial chitin of crustaceans.

### Authors' contribution

**Joyce C. de Sá:** Conceptualization, Methodology, Investigation, Writing – original draft. **Maria C. F. V. de Araujo:** Methodology. **Vanessa R. Biancardi:** Methodology, Writing – review & editing. **Vanessa S. de Oliveira:** Writing – original draft. **Maria I. M. J. Barbosa:** Writing – review & editing. **Vinícius P. Silva:** Methodology, Writing – review & editing. **Davy W. H. Chávez:** Methodology, Writing – review & editing. **Antonio R. Bigansolli:** Methodology, Writing – review & editing. **José L. Barbosa Júnior:** Supervision.

### Acknowledgments

The authors thank the Department of Materials Engineering of the School of Engineering of Lorena (EEL/USP) and the Center for Mineral Technology (CETEM-UFRJ) for their support in the analyses. The authors thank Lets Fly for their support and collaboration with various research efforts. The authors thank the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (Capes), the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), and the Rio de Janeiro Research Foundation (FAPERJ) for the financial support.

### Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

## 5 REFERENCES

- Abo Elsoud, M. M., Elmansy, E. A., Abdelhamid, S. A., Abo Elsoud, C. M., Elmansy, E., & Abdelhamid, S. (2022). Economic and non-seasonal source for production of chitin and chitosan. *Journal of Chemical Reviews*, 4(3), 222–240. <https://doi.org/10.22034/JCR.2022.342454.1173>.
- Antonov, A., Ivanov, G., Pastukhova, N., & Bovykina, G. (2019). Production of chitin from dead *Hermetia Illucens*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 315(4), e042003. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/315/4/042003>.
- AOAC. (2002). Association of Official Analytical. *Official Method of Analysis*, 16.
- Azarifar, M., Ghanbarzadeh, B., Sowti, M., Akhondzadeh, A., & Abdulkhani, A. (2020). The effects of gelatin-CMC films incorporated with chitin nanofiber and *Trachyspermum ammi* essential oil on the shelf life characteristics of refrigerated raw beef. *International Journal of Food Microbiology*, 318, e108493. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108493>

- Bhavsar, P. S., Dalla Fontana, G., & Zoccola, M. (2021). sustainable superheated water hydrolysis of black soldier fly exuviae for chitin extraction and use of the obtained chitosan in the textile field. *ACS Omega*, 6(13), 8884–8893. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c06040>.
- Brigode, C., Hobbi, P., Jafari, H., Verwilghen, F., Baeten, E., & Shavandi, A. (2020). Isolation and physicochemical properties of chitin polymer from insect farm side stream as a new source of renewable biopolymer. *Journal of Cleaner Production*, 275, 122924. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122924>.
- Correa-gonz, Y. X., Sena, T. C., & Wu, T. (2024). Chitin nanocrystals – A new material with ice-shaping and ice recrystallization inhibition activities. *Food Hydrocolloids*, 150, e109669. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109669>.
- El Knidri, H., Belaabed, R., Addaou, A., Laajeb, A., & Lahsini, A. (2018). Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. *International journal of Biological Macromolecules*, 120 (Pt A), 1181–1189. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.139>.
- Farokhi, N. M., Milani, J. M., & Amiri, Z. R. (2024). Fabrication of nanocomposite gelatin-based film by the pickering emulsion containing nanoparticles of chitin. *Journal of Food Engineering*, 367, e111885. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111885>.
- Feng, H., Wang, Z., Sajab, M. S., Abdul, P. M., & Ding, G. (2023). A novel chitinous nanoparticles prepared and characterized with black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) using steam flash explosion treatment. *International Journal of Biological Macromolecules*, 230, e23210. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123210>.
- Gbenebor, O. P., Adeosun, S. O., Adegbite, A. A., & Akinwande, C. (2018). Organic and mineral acid demineralizations: effects on crangon and *Liocarcinus vernalis*-sourced biopolymer yield and properties. *Journal of Taibah University for Science*, 12(6), 837–845. <https://doi.org/10.1080/16583655.2018.1525845>.
- Gbenebor, O. P., Adeosun, S. O., Lawal, G. I., Jun, S., & Olaleye, S. A. (2017). Acetylation, crystalline and morphological properties of structural polysaccharide from shrimp exoskeleton. *Engineering Science and Technology, an International Journal*, 20(3), 1155–1165. <https://doi.org/10.1016/J.JESTCH.2017.05.002>.
- Ge, S., Liu, Q., Li, M., Liu, J., Lu, H., Li, F., Zhang, S., Sun, Q., & Xiong, L. (2018). Food Hydrocolloids Enhanced mechanical properties and gelling ability of gelatin hydrogels reinforced with chitin whiskers. *Food Hydrocolloids*, 75, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.09.023>.
- Hahn, T., Roth, A., Febel, E., Fijalkowska, M., Schmitt, E., Arsiwalla, T., & Zibek, S. (2018). New methods for high-accuracy insect chitin measurement. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(13), 5069–5073. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9044>.
- Hahn, T., Tafi, E., von Seggern, N., Falabella, P., Salvia, R., Thomä, J., Febel, E., Fijalkowska, M., Schmitt, E., Stegbauer, L., & Zibek, S. (2022). Purification of chitin from pupal exuviae of the black soldier fly. *Waste and Biomass Valorization*, 13(4), 1993–2008. <https://doi.org/10.1007/s12649-021-01645-1>.
- Hamed, I., Özogul, F., & Regenstein, J. M. (2016). Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitoooligosaccharides): A review. *Trends in Food Science & Technology*, 48, 40–50. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.11.007>.
- Hlongwane, Z. T., Slotow, R., & Munyai, T. C. (2020). Nutritional Composition of Edible Insects Consumed in Africa: A Systematic Review. *Nutrients*, 12(9), e2786. <https://doi.org/10.3390/nu12092786>.
- Ibadurrohman, K., Gusniani, I., Hartono, M. D., & Suwartha, N. (2020). The potential analysis of food waste management using bioconversion of the organic waste by the black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae in the cafeteria of the Faculty of Engineering, Universitas Indonesia. *Evergreen*, 7(1), 61–66. <https://doi.org/10.5109/2740946>.

Janssen, R. H., Vincken, J. P., Van Den Broek, L. A. M., Fogliano, V., & Lakemond, C. M. M. (2017). Nitrogen-to-protein conversion factors for three edible insects: *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, and *Hermetia illucens*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(11), 2275–2278. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00471>.

Kaya, M., Erdogan, S., Mol, A., & Baran, T. (2015). Comparison of chitin structures isolated from seven *Orthoptera* species. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 797–805. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.09.034>.

Khayrova, A., Lopatin, S., & Varlamov, V. (2019). Black soldier fly *Hermetia illucens* as a novel source of chitin and chitosan. *International Journal of Sciences*, 8(04), 81–86. <https://doi.org/10.18483/ijSci.2015>.

Khayrova, A., Lopatin, S., & Varlamov, V. (2020). obtaining chitin/chitosan-melanin complexes from black soldier fly *Hermetia illucens*. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 809(1), e012020. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/809/1/012020>.

Kozma, M., Acharya, B., & Bissessur, R. (2024). Chemical extraction of chitin from American lobster (*Homarus americanus*) shells optimized through response surface methodology. *International Journal of Biological Macromolecules*, 256, e128462. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.128462>.

Kritchenkov, A. S., Kletskov, A. V., Egorov, A. R., Tskhovrebov, A. G., Kurliuk, A. V., Zhaliuzniak, N. V., Shakola, T. V., & Khrustalev, V. N. (2021). New water-soluble chitin derivative with high antibacterial properties for potential application in active food coatings. *Food chemistry*, 343, e128696. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128696>.

Lagat, M. K., Were, S., Ndwigah, F., Kemboi, V. J., Kipkoech, C., & Tanga, C. M. (2021). Antimicrobial activity of chemically and biologically treated chitosan prepared from black soldier fly (*Hermetia illucens*) pupal shell waste. *Microorganisms*, 9(12), e2417. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS9122417>.

Liu, S., Sun, J., Yu, L., Zhang, C., Bi, J., Zhu, F., Qu, M., Jiang, C., & Yang, Q. (2012). Extraction and characterization of chitin from the beetle *Holotrichia parallela* Motschulsky. *Molecules*, 17(4), 4604–4611. <https://doi.org/10.3390/molecules17044604>.

Mertenat, A., Diener, S., & Zurbrugg, 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>.

Mohammed, M. H., Williams, P. A., & Tverezovskaya, O. (2013). Extraction of chitin from prawn shells and conversion to low molecular mass chitosan. *Food Hydrocolloids*, 31(2), 166–171. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2012.10.021>.

Ndiritu, A., Kinyuru, J., Onyango, A., & Kipkoech, C. (2023). Functional and microstructural characteristics of chitin extracted from field cricket, house cricket, and black soldier fly cocoons. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17, 5903–5912. <https://doi.org/10.1007/s11694-023-02086-1>.

OriginLab Corporation. (2018). OriginPro (Version SR1). [Computer Software]. <https://www.originlab.com/>.

Pearson, F. G., Marchessault, R. H., & Liang, C. Y. (1960). Infrared spectra of crystalline polysaccharides. V. Chitin. *Journal of Polymer Science*, 43(141), 101–116. <https://doi.org/10.1002/POL.1960.1204314109>.

Pedrazzani, C., Righi, L., Vescovi, F., Maistrello, L., & Caligiani, A. (2024). Black soldier fly as a new chitin source: Extraction, purification and molecular/structural characterization. *LWT*, 191, Article e115618. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115618>.

Purkayastha, D., & Sarkar, S. (2020). Physicochemical structure analysis of chitin extracted from pupa exuviae and dead imago of wild black soldier fly (*Hermetia illucens*). *Journal of Polymers and the Environment*, 28(2), 445–457. <https://doi.org/10.1007/s10924-019-01620-x>.

- Rampure, S. M., Velayudhannair, K., & Marimuthu, N. (2023). Characteristics of chitin extracted from different growth phases of black soldier fly, *Hermetia illucens*, fed with different organic wastes. *International Journal of Tropical Insect Science*, 43(3), 979–987. <https://doi.org/10.1007/s42690-023-00997-6>.
- Rebora, M., Salerno, G., Piersanti, S., Saitta, V., Morelli Venturi, D., Li, C., & Gorb, S. (2023). The armoured cuticle of the black soldier fly *Hermetia illucens*. *Scientific Reports* 13, Article e22101. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-49549-5>.
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7), 603–632. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>.
- Santos, V. P., Marques, N. S. S., Maia, P. C. S. V., de Lima, M. A. B., Franco, L. de O., & de Campos-Takaki, G. M. (2020). Seafood waste as attractive source of chitin and chitosan production and their applications. *International Journal of Molecular Sciences* 21(12), e4290. <https://doi.org/10.3390/IJMS21124290>.
- Soetemans, L., Uyttebroek, M., & Bastiaens, L. (2020). Characteristics of chitin extracted from black soldier fly in different life stages. *International Journal of Biological Macromolecules*, 165(Pt B), 3206–3214. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.041>.
- Tan, Y. N., Chin, Y. L., & Chen, W. N. (2021). comparison of sustainable lipid and protein removal methods for the isolation of insect chitin from black soldier fly exoskeleton. *ACS Food Science & Technology*, 1(4), 698–706. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.0c00104>.
- The R Foundation. (2023). R: A language and environment for statistical computing (Version 4.2.1) [Software]. <https://www.R-project.org/>.
- Triunfo, M., Tafi, E., Guarnieri, A., Salvia, R., Scieuzo, C., Hahn, T., Zibek, S., Gagliardini, A., Panariello, L., Coltelli, M. B., De Bonis, A., & Falabella, P. (2022). Characterization of chitin and chitosan derived from *Hermetia illucens*, a further step in a circular economy process. *Scientific Reports*, 12(1), e6613. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-10423-5>.
- Wang, H., Rehman, K. ur, Feng, W., Yang, D., Rehman, R. ur, Cai, M., Zhang, J., Yu, Z., & Zheng, L. (2020). Physicochemical structure of chitin in the developing stages of black soldier fly. *International Journal of Biological Macromolecules*, 149, 901–907. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.293>.
- Waśko, A., Bulak, P., Polak-Berecka, M., Nowak, K., Polakowski, C., & Bieganski, A. (2016). The first report of the physicochemical structure of chitin isolated from *Hermetia illucens*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 316–320. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.07.038>.
- Xiong, A., Ruan, L., Ye, K., Huang, Z., & Yu, C. (2023). Extraction of chitin from black soldier fly (*Hermetia illucens*) and its puparium by using biological treatment. *Life*, 13(7), e1424. <https://doi.org/10.3390/life13071424>.
- Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine Drugs*, 13(3), 1133–1174. <https://doi.org/10.3390/md13031133>.
- Yu, A., Beck, M., Merzendorfer, H., & Yang, Q. (2024). Advances in understanding insect chitin biosynthesis. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 164, e104058. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2023.104058>.
- Zhou, P., Li, J., Yan, T., Wang, X., Huang, J., Kuang, Z., Ye, M., & Pan, M. (2019). Selectivity of deproteinization and demineralization using natural deep eutectic solvents for production of insect chitin (*Hermetia illucens*). *Carbohydrate Polymers*, 225, e115255. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115255>.
- Złotko, K., Waśko, A., Kamiński, D. M., Budziak-Wieczorek, I., Bulak, P., & Bieganski, A. (2021). Isolation of chitin from black soldier fly (*Hermetia illucens*) and its usage to metal sorption. *Polymers*, 13(5), e818. <https://doi.org/10.3390/polym13050818>

## CONCLUSÃO GERAL

Diante do destaque da *Hermetia illucens* no cenário de insetos comestíveis e do crescente interesse no uso de seu exoesqueleto para a extração de quitina, o presente estudo aborda o estado atual desse processo, enfatizando a importância da pesquisa neste campo emergente. Embora compartilhe características comuns com o exoesqueleto de crustáceos, os exoesqueletos das diferentes fases da BSF possuem particularidades que demandam estudos específicos e aprofundados sobre a extração da quitina de sua matriz. Concluímos que os estudos existentes ainda são insuficientes para esclarecer as condições ideais de isolamento da quitina de cada fase da *Hermetia illucens*. Também destacamos a necessidade de estabelecer padrões para a apresentação dos resultados, a fim de facilitar a comparação entre os métodos utilizados e impulsionar o progresso nessa área de conhecimento. Paralelamente à pesquisa das condições ótimas para a extração de quitina, é crucial avaliar o impacto dessas extrações nas características físicas, químicas e tecnológicas da quitina. Por fim, apresentamos uma perspectiva sobre o potencial uso da quitina em alimentos, visando estimular futuras pesquisas e aplicações inovadoras desse composto proveniente da *Hermetia illucens*.

A introdução de um protocolo de desmineralização, utilizando ácido acético e ácido clorídrico em baixas concentrações, temperatura ambiente e em curto período oferece uma abordagem sustentável e econômica para a obtenção da quitina da exúvia da pupa da *Hermetia illucens*, alcançando padrões comparáveis aos da quitina comercial. Além disso, esse trabalho demonstrou a viabilidade de uma ótima eficiência de desmineralização da exúvia da pupa da *Hermetia illucens* com a utilização do ácido acético em substituição aos ácidos minerais. Isso possibilitou uma nova perspectiva para o uso dos solventes orgânicos. Este avanço expande as possibilidades de aplicação da quitina e dos minerais obtidos em áreas alimentícias.

## APÊNDICES

### APÊNDICE A – RESUMO PUBLICADO

**SÁ, J. C.; OLIVEIRA, L. S. F.; ARAUJO, M. C. F. V.; BARBOSA JUNIOR, J. L.** Composição das exúvias larvais e pupais da *Hermetia illucens* e seu potencial como fonte de quitina. In: II INSETEC - Congresso Brasileiro de Insetos Alimentícios e Tecnologias Associadas. **Anais eletrônicos – II INSETEC**, Campinas, SP, 2023.



## APÊNDICE B - DESENHO EXPERIMENTAL PARA A DESMINERALIZAÇÃO COM O ÁCIDO ACÉTICO

Para a otimização da desmineralização da quitina, foi feito um Delineamento composto central rotacional (DCCR) combinando três fatores: temperatura, concentração do ácido e proporção exúvias/ácido (p/v) (tabela 1).

**Tabela 1-** Fatores e níveis que serão utilizados para o composto central rotacional (DCCR)

Fatores	Nível				
	- $\alpha$	-1	0	+1	+ $\alpha$
A: Concentração do ácido (M)	0,66	1,00	1,50	2,00	2,34
B: Temperatura (°C)	9,55	30,00	60,00	90,00	110,45
C: Proporção exúvias/ácido (p/v)	1:03	1:10	1:20	1:30	1:37

Através do modelo foi gerado um planejamento experimental constituindo um total de 19 combinações, com 3 pontos centrais e avaliadas conforme a eficiência de desmineralização (DDM) descrita na equação 1 (Triunfo *et al.*, 2022).

$$\% DDM = \frac{M_0 - M_f}{M_0} \times 100 \quad (1)$$

Onde,  $M_0$  e  $M_f$  são os teores de cinzas (%) antes e depois da desmineralização, respectivamente.

**Tabela 2** - Desenho experimental composto central rotacional (DCCR) com os parâmetros e os resultados de DDM

A	B	C	A.R	B.R	C.R	DDM
0	0	0	1,2	45	30	95,56344
0	0	0	1,2	45	30	95,58630
0	0	0	1,2	45	30	95,56689
0	0	-1,68179	1,2	45	4,773107542	47,45880
0	0	1,681793	1,2	45	55,22689246	96,84726
-1,68179283	0	0	0,190924302	45	30	98,39459
1,681792831	0	0	2,209075698	45	30	99,64534
1	1	1	1,8	60	45	96,83917
1	1	-1	1,8	60	15	98,88341
-1	1	-1	0,6	60	15	92,90500
-1	1	1	0,6	60	45	96,83090
1	-1	-1	1,8	30	15	94,98824
1	-1	1	1,8	30	45	94,60237
-1	-1	-1	0,6	30	15	94,77191
-1	-1	1	0,6	30	45	96,45721
0	-1,68179	0	1,2	19,77311	30	97,20343
0	1,681793	0	1,2	70,22689	30	97,76107

O coeficiente de determinação da equação de regressão ( $R^2$ ) não apresentou um bom ajuste, com valor de 0,645, conforme observado na tabela 3.

**Tabela 3** - Resultados de regressão obtidos a partir da análise dos dados experimentais

	<b>Estimativa de parâmetro b i , b ii ou b ij</b>	<b>Error</b>	<b>t value</b>	<b>Pr(&gt; t )</b>
Interceptar	9.514.695	622.745	152.786	1.24e-06 ***
A	0.47241	292.446	0.1615	0.87623
B	0.40834	292.446	0.1396	0.89289
C	631.494	292.446	21.594	0.06767**
A <sup>2</sup>	268.380	321.880	0.8338	0.43193
B <sup>2</sup>	214.014	321.880	0.6649	0.52741
C <sup>2</sup>	-681.509	321.880	-21.173	0.07201**
A:B	0.95315	382.099	0.2495	0.81017
A:C	-100.517	382.099	-0.2631	0.80008
B:C	0.07278	382.099	0.0190	0.98533

R<sup>2</sup> = 0.645R<sup>2</sup> ajustado = 0.1885

Valor P= 0.3316

\*\*\*P&lt;0

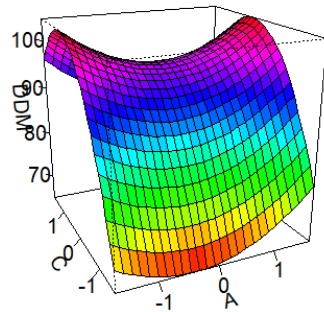
\*\* P&lt;0,1

A significância do ajuste também foi avaliada através da realização de análise de variância (ANOVA) com resultados apresentados na Tabela 4.

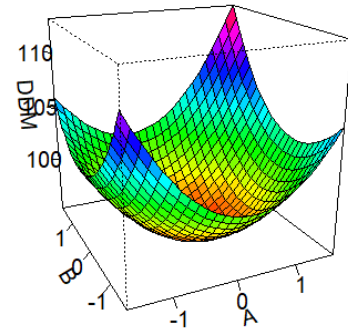
**Tabela 4** - Análise de variância (ANOVA) para o modelo quadrático do grau de desmineralização

<b>Fonte de variação</b>	<b>Grau de liberdade (Df)</b>	<b>Soma dos quadrados (SS)</b>	<b>Quadrados médios</b>	<b>Valor F</b>	<b>Significância Pr (&gt;F)</b>
FO(A, B, C)	3	549.94	183.313	1,57E+04	0.2801
PQ(A, B, C)	3	919.88	306.625	2,63E+04	0.1322
TWI(A, B, C)	3	15.39	5.131	4,39E+02	0.9867
Resíduos	7	817.60	116.800		
Falta de ajuste	8	817.60	163.520	1,08E+10	9,29E-04
Erro puro					

## Gráficos de superfície de resposta



Slice at B = 0



Slice at C = 0

**Figura A1** - Gráficos de superfície de resposta

Na Figura 1 é apresentado os gráficos de superfície de resposta para a desmineralização com o ácido acético.

## APÊNDICE C - DESPROTEINIZAÇÃO ENZIMÁTICA

A desproteínização enzimática foi realizada com a enzima Alcalase 2,4L (2,4 Unidades Anson/g, AU/g), razão enzima:proteína 2:100 e pH 9. Em um Erlenmeyer a FEDM AC foi solubilizada na proporção de 1:15 (p/v) com solução tampão de EDTA 0,5 M. Após o ajuste da temperatura (65 °C ) e do pH da solução com a adição da solução NaOH 1M a enzima foi adicionada e agitada a 200 rpm em Banho Maria Metabólico tipo Dubnoff SL 158 (Solab, Piracicaba/SP, Brasil). Após 5h a solução foi inserida em banho a 90 °C por 20 minutos para a desnaturação da enzima. A FEDP-AC/ENZ foi obtida através da filtração a vácuo, lavagem da torta até neutralização do pH e secagem em estufa com circulação e renovação de ar (Solab, Piracicaba/SP, Brasil) a 70 °C durante 15 h.

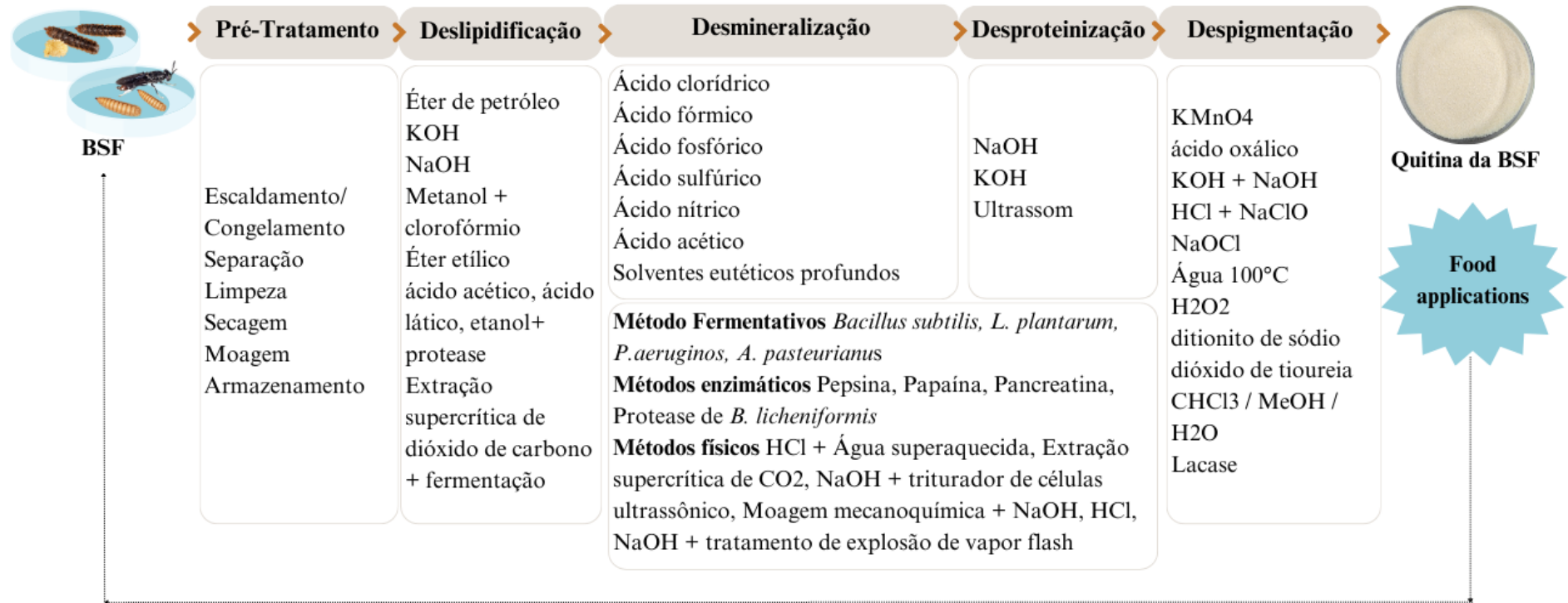
Na Tabela 1 é apresentado a composição centesimal da quitina obtida pelo processo de desmineralização com o ácido acético e a desproteínização com a enzima Alcalase (QBSF AC/ENZ).

**Tabela 1** - Composição centesimal da quitina da exúvia da pupa da *Hermetia illucens* extraída enzimaticamente em comparação com a quitina comercial

Análise	QBSF- AC/ENZ	Quitina comercial	Método
Umidade	0,14 ± 0,05a	1,16 ± 0,07	Estufa, 105°C
Lipídio	0,81 ± 0,03	0,98 ± 0,03	Soxhlet, hexano
Cinzas	0,23 ± 0,12	1,12 ± 0,07	Mufla, 550 °C 24 h
Proteína	44,77 ± 0,23	28,75 ± 1,30	Kjeldahl

Conforme observado, a composição da umidade, lipídios e cinzas estão de acordo com a composição da quitina comercial. Entretanto, o processo de desproteínização apresentou uma eficiência inferior (9,76%) ao relatado pela literatura para a extração enzimática com a Alcalase (Dhanabalan *et al.*, 2021).

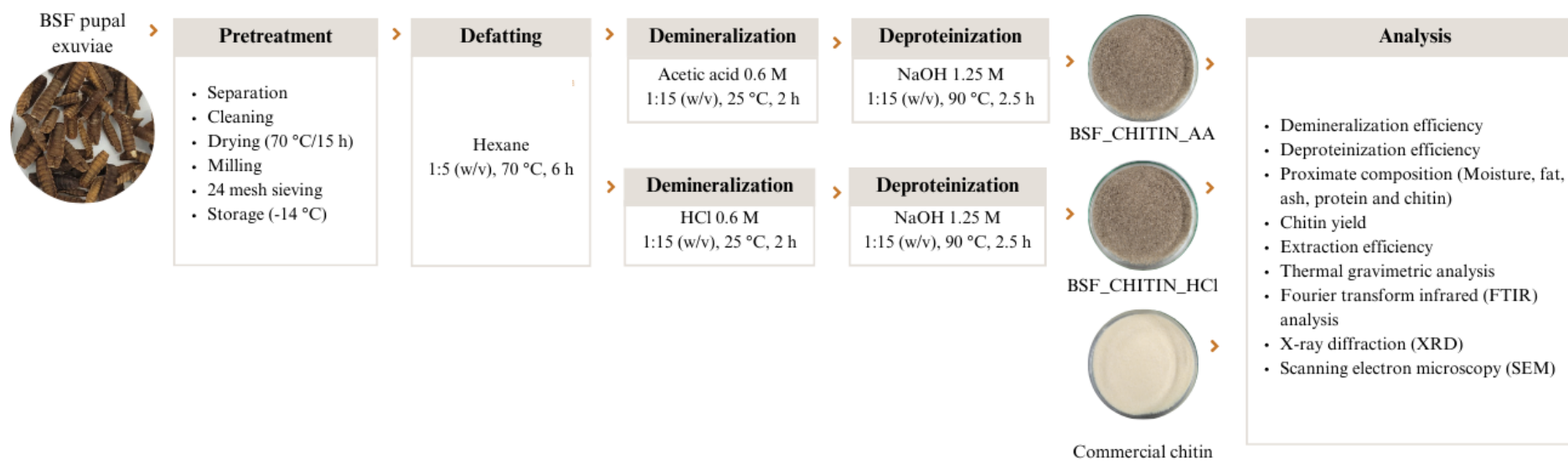
## APÊNDICE D - RESUMO GRÁFICO DO CAPÍTULO I



**Figura D1** – Resumo gráfico do capítulo II sobre a extração da quitina da *Hermetia illucens*

Fonte - Elaboração própria.

## APÊNDICE E - RESUMO GRÁFICO DO CAPÍTULO II GRAPHICAL ABSTRA



**Figura E1** - Representação geral do processo de extração da quitina da exúvia da pupa da *Hermetia illucens*

**Fonte** - Elaboração própria.