



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE AGRARIE E DEL TERRITORIO  
(CURRICULUM AGRICOLTURA SOCIALE)

ESTRAZIONE MECCANICA DI GRASSO  
DA LARVE DI *Hermetia illucens* ALLEVATE  
SU SCARTI DELL'AGROINDUSTRIA

TIPO TESI: sperimentale

Studente:  
Giammarco Di Benedetto

Relatore:  
PROF.SSA ESTER FOPPA PEDRETTI

Correlatore:  
PROF. ALESSIO ILARI

ANNO ACCADEMICO 2021/2022

In una strada piena di ostacoli,  
lo stolto indietreggia impaurito,  
mentre il saggio gioisce  
perché sa che è la strada giusta.

Alla mia famiglia.

# SOMMARIO

ELENCO DELLE TABELLE .....	5
ELENCO DELLE FIGURE .....	6
INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI .....	7
1.1 Introduzione generale .....	7
1.2 Hermetia illucens .....	10
1.2.1 Ciclo vitale e morfologia .....	11
1.3 Estrazione di olio .....	15
1.3.1 Estrazione chimica .....	16
1.3.2 Estrazione meccanica .....	16
1.4 Scopo della tesi .....	17
CAPITOLO 2 MATERIALI E METODI .....	18
2.1 Allevamento.....	18
2.1.1 Stima del numero di larve .....	18
2.1.2 Camera di allevamento .....	18
2.1.3 Preparazione del substrato .....	19
2.1.4 Arduino .....	23
2.1.5 Raccolta .....	23
2.2 Caratterizzazione dei campioni .....	24
2.2.1 Determinazione dell'umidità del substrato .....	24
2.2.2 Determinazione dell'umidità delle larve.....	25
2.2.3 Thermo-Gravimetric Analysis (TGA) del substrato.....	26
2.2.4 Analisi Soxhlet .....	27
2.3 Estrazione meccanica .....	31
2.3.1 Fibra di girasole.....	34
CAPITOLO 3 RISULTATI .....	36
3.1 Allevamento.....	36

3.1.1 Stima del numero di larve .....	39
3.2 Caratterizzazione dei campioni .....	40
3.3 Estrazione meccanica .....	40
3.3.1 Fibra di girasole.....	41
CAPITOLO 4 DISCUSSIONE .....	42
4.1 Allevamento.....	42
4.1.1 Stima delle larve.....	43
4.2 Caratterizzazione dei campioni .....	43
4.2.1 Analisi TGA e umidità substrato.....	43
4.2.2 Estrazione dei lipidi.....	44
CONCLUSIONI.....	48
BIBLIOGRAFIA .....	49
SITOGRAFIA .....	54

## ELENCO DELLE TABELLE

Tabella 1 - Andamento umidità .....	36
Tabella 2 - Andamento temperatura.....	37
Tabella 3 - Andamento di umidità e temperatura .....	38
Tabella 4 - Andamento temperatura substrato.....	39
Tabella 5 - Risultati caratterizzazione campioni ( <sup>a</sup> =su contenuto umido; <sup>b</sup> =su contenuto secco).....	40
Tabella 6 - Risultati estrazione meccanica .....	41
Tabella 7 - Dati su umidità e ceneri trovati in letteratura.....	43
Tabella 8 - Dati su contenuto lipidico trovati in letteratura (al netto del contenuto umido) .....	44

## ELENCO DELLE FIGURE

Figura 1 - I quattro stadi di <i>H. illucens</i> [1] .....	11
Figura 2 - Uova di <i>H. illucens</i> [2] .....	12
Figura 3 - Larva di <i>H. illucens</i> [3] .....	13
Figura 4 - Pupa di <i>H. illucens</i> [4] .....	13
Figura 5 - Adulto di <i>H. illucens</i> [5] .....	14
Figura 6 - Camera di allevamento (b); vasca di allevamento (a); struttura in legno (c); Cavo riscaldante (d) .....	19
Figura 7 - A sinistra cece macinato vaglio a 5mm; a destra cece intero .....	20
Figura 8 - Mulino con vaglio 5mm .....	20
Figura 9 - Mulino con vaglio 1mm .....	21
Figura 10 - Dieta giornaliera cece .....	22
Figura 11 - Dieta giornaliera spinacio .....	22
Figura 12 - Le due componenti della dieta (spinacio e cece) miscelati .....	22
Figura 13 - Arduino (a) collegato alla camera di allevamento (b) e al computer (c) .....	23
Figura 14 - Separazione delle larve dal substrato con un vaglio .....	24
Figura 15 - Stufa termoventilata con campioni di substrato e larve .....	25
Figura 16 - Analizzatore Termogravimetrico .....	26
Figura 17 - Bottiglia contenente esano .....	27
Figura 18 - Estrattore Soxhlet (c); mantello riscaldante (a); pallone (b); condensatore a bolle (d) .....	28
Figura 19 - Rotavapor; bagno riscaldante (a); pallone (b); condensatore a spirale (c); pallone di raccolta del solvente (d) .....	30
Figura 20 - Pallone contenente il grasso estratto .....	31
Figura 21 - Pressa oleodinamica .....	32
Figura 22 - Da in alto a sx in senso orario: crogiolo, griglia, contro-pistone, filtro .....	34
Figura 23 - Campione da sottoporre a estrazione meccanica con larve e cuticola di girasole .....	35

# INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI

## 1.1 Introduzione generale

Ogni anno nel mondo circa 1,3 miliardi di tonnellate di cibo vengono sprecate. Ciò, tradotto in termini economici, significa una perdita netta equivalente a 680 miliardi di dollari ([www.fao.org](http://www.fao.org)). In Italia nel 2012 la produzione di alimenti ha generato 8,8 milioni di tonnellate di rifiuti, il 14,1% dei quali provengono dalla lavorazione di frutta e verdura. In particolare, sono i trasformati a dover affrontare i maggiori problemi relativi alla produzione di scarti, che in alcuni casi, possono costituire anche il 30% delle materie prime in entrata ([www.eurostat.ue](http://www.eurostat.ue)). Tuttavia, questo non vuol dire che il problema della gestione degli scarti e rifiuti non tocchi l'interesse di tutta la collettività.

Sebbene una minima parte dei sottoprodotti sia destinata a impianti di digestione anaerobica per la produzione di biogas, o a impianti di compostaggio, la maggior parte dei sottoprodotti viene smaltita come rifiuto indifferenziato (S.M. Schaub and J.J. Leonard, 1996), nonostante la Direttiva 1999/31/CE espliciti che questo tipo di smaltimento dovrebbe essere considerato l'ultimo step nello sfruttamento di una sostanza. Inoltre, il problema della gestione dei rifiuti è accentuato dallo smaltimento indiscriminato degli scarti della produzione e del cibo non consumato, con ripercussioni come l'esaurimento di spazio nelle discariche, la generazione di gas serra, i cattivi odori, i liquami di scolo che contaminano terra e acqua e diversi altri problemi ambientali.

Sono da tenere in considerazione anche gli alti costi gestionali, che incidono in maniera significativa su tutto il processo di smaltimento. Per coprire parte dei costi, sempre più iniziative prendono piede con l'obiettivo di valorizzare il sottoprodotto, che, oltre a risolvere almeno in parte il problema della gestione dei rifiuti, consentono di generare reddito (Diener et al., 2011). Una delle tecniche che permette la valorizzazione di scarti organici è il compostaggio: attraverso un processo di fermentazione aerobica i rifiuti vengono trasformati in ammendanti, che poi possono essere utilizzati come fonte di nutrienti per il suolo. Tuttavia, questo processo è lungo e produce odori sgradevoli (S.M. Schaub and J.J. Leonard, 1996). Inoltre, il compost è un prodotto che offre scarsi margini di profitto a causa dei costi di trasporto elevati, del basso valore intrinseco, del mercato competitivo dei fertilizzanti chimici

e di normative e politiche commerciali sleali (ad esempio sussidi per i fertilizzanti chimici) (Rouse et al., 2008).

Un'altra metodologia di smaltimento degli scarti è l'incenerimento, i cui aspetti negativi però sono lampanti: primo tra tutti la produzione di gas serra che comporta un elevato inquinamento atmosferico e ambientale; l'alta percentuale di acqua presente negli scarti provoca un innalzamento non indifferente dei costi energetici relativi alla disidratazione (Laufenberg et al., 2003).

Alcuni scarti, come quelli ottenuti dalla spremitura delle olive, possono essere sfruttati per la produzione di biogas, tramite digestione anaerobica (van Dyk et al., 2013). Tuttavia, la mancanza di una legislazione ad hoc spesso ostacola la vendita del gas e dei suoi prodotti secondari, anche in progetti che si presentano come economicamente validi.

Come dimostrano le tecniche sopra descritte, la biomassa derivante dai sottoprodotti rappresenta quindi una fetta importante nella produzione di energia rinnovabile e pulita; tuttavia, solo una piccola percentuale viene valorizzata con questi metodi. Questo è dovuto alla grande mole di lavoro che comportano tutte le operazioni per trattare gli scarti, che infine porta a un profitto relativamente basso.

Tutto ciò mette in luce l'esigenza di trovare nuovi impieghi agli scarti industriali; è quindi necessario trovare soluzioni sostenibili e che abbraccino tutti gli attori delle filiere (dalle catene di approvvigionamento ai settori agricolo/industriale, dai rivenditori fino ai consumatori finali) e che siano in grado di far emergere il valore intrinseco dei sottoprodotti alimentari.

Negli ultimi anni, si sta affermando come filone di ricerca lo studio degli insetti. Molti di questi, infatti, si nutrono di rifiuti organici, trasformandoli in nutrienti che assimilano nel loro corpo, riducendo la massa di sottoprodotti che finirebbe in discarica. Molto importante è la selezione di specie che si adattino a questo tipo di valorizzazione, che devono essere adattabili all'allevamento di massa, con un ciclo vitale breve, e presenti naturalmente nei rifiuti (Čičková et al., 2015)(Surendra et al., 2016)

Una delle specie più promettenti è *Hermetia illucens*, un dittero saprofito, non infestante. Le larve di questo insetto sono capaci di nutrirsi su quasi tutte le tipologie di materia organica e, dopo che hanno raggiunto la maturazione, possono essere destinate al settore agronomico,



mangimistico e/o energetico. In un'ottica di economia circolare, quindi, *H. illucens*, si presta molto a questo nuovo tipo di valorizzazione dei sottoprodotti.

Uno dei più grandi vantaggi dell'allevamento di insetti rispetto all'allevamento di altri animali è il minore impatto ambientale. Nell'allevamento di insetti, il rapporto di conversione tra mangime e proteine è minore rispetto ad altri animali (quasi 1:1) (van Huis, 2013) (Oonincx et al., 2015) ciò implica una migliore capacità dell'insetto di valorizzare l'alimento. Allevare insetti, inoltre, produce meno gas serra e sono ridotte anche le emissioni di ammoniaca rispetto a qualsiasi altro allevamento di bestiame convenzionale. Questo ultimo aspetto risulta molto importante visto che l'azoto è uno degli elementi che inquina di più il terreno (van Huis, 2013) (E.M. Costa Neto, 2013) (Oonincx et al., 2010). Gli allevamenti di insetti su scala industriale necessitano di molto meno spazio e acqua (Oonincx & de Boer, 2012), infatti, hanno un minore impatto idrico per grammo di proteine prodotte, rispetto agli allevamenti convenzionali (Miglietta et al., 2015).

Il problema principale di questo sistema è legato alla normativa, che di fatto vieta l'allevamento di animali, e quindi di insetti, se questi sono nutriti con rifiuti. A questo proposito, è necessario fare una distinzione tra sottoprodotto e rifiuto, così da comprendere meglio le problematiche relative a questo tipo di gestione degli scarti. Il DLgs 205/2010 riporta quanto segue: *“La decisione [...] del Parlamento europeo e del Consiglio, [...] sollecita l'estensione o la revisione della normativa sui rifiuti, in particolare al fine di chiarire la distinzione tra ciò che è rifiuto e ciò che non lo è...”*. Il decreto, nell'articolo 3, definisce rifiuto come una *“qualsiasi sostanza od oggetto di cui il detentore si disfi o abbia l'intenzione o l'obbligo di disfarsi”*; in particolare i rifiuti alimentari, di nostro interesse, rientrano nella definizione di *“rifiuto organico”*: *“rifiuti biodegradabili di giardini e parchi, rifiuti alimentari e di cucina prodotti da nuclei domestici, ristoranti, servizi di ristorazione e punti vendita al dettaglio e rifiuti simili prodotti dagli impianti dell'industria alimentare”* (PARLAMENTO EUROPEO E IL CONSIGLIO DELL'UNIONE EUROPEA, 2010).

La definizione di *“sottoprodotto”* è riportata nell'articolo 5 dalla direttiva 2008/98/CE, modificata dalla direttiva 2018/85/CE. Sotto la voce *“sottoprodotti”* la Direttiva riporta quanto segue: *“Una sostanza od oggetto derivante da un processo di produzione il cui scopo primario non è la produzione di tale articolo può non essere considerato rifiuto bensì sottoprodotto soltanto se sono soddisfatte le seguenti condizioni: i) è certo che la sostanza o l'oggetto sarà ulteriormente utilizzata/o; ii) la sostanza o l'oggetto può essere utilizzata/o direttamente senza*

*alcun ulteriore trattamento diverso dalla normale pratica industriale; iii) la sostanza o l'oggetto è prodotta/o come parte integrante di un processo di produzione; iv) l'ulteriore utilizzo è legale, ossia la sostanza o l'oggetto soddisfa, per l'utilizzo specifico, tutti i requisiti pertinenti, riguardanti i prodotti e la protezione della salute e dell'ambiente e non porterà a impatti complessivi negativi sull'ambiente o la salute umana"* (PARLAMENTO EUROPEO E IL CONSIGLIO DELL'UNIONE EUROPEA, 2008).

Si può dedurre quindi che gli scarti della filiera agroalimentare possono essere considerati sottoprodotti e quindi possono essere somministrati come alimento per gli insetti.

Tuttavia, solo recentemente è stato autorizzato l'utilizzo di materie prime a base di insetti per la formulazione di mangimi, ma è un percorso che è iniziato nel 2017, con il (Reg. UE 1017, 2017), che ha consentito la somministrazione di questi mangimi per animali da compagnia e selvaggina, e il (Reg. UE 893, 2017) che autorizza l'uso di PAT (Proteine Animali Trasformate) di 7 specie di insetto come alimento in acquacoltura, se allevate su matrici di origine vegetale. Ultimo regolamento, ma di certo non per importanza, è il Reg. UE 1372/2021, che autorizza l'uso di materie prime derivate da insetti per la formulazione di mangimi, e la loro somministrazione per quanto riguarda avicoli e suini. Questo nuovo passo, conclusivo di oltre quattro anni di discussioni a livello europeo, è stato incentivato dall'European Food Safety Authority (EFSA), che attraverso numerose analisi, ha ritenuto sicure questo tipo di materie prime (Ricci et al., 2018).

È auspicabile che sia inserita nella futura normativa anche la possibilità di nutrire gli insetti bioconvertitori con materie prime come la FORSU (Frazione Organica Rifiuto Solido Urbano), o reflui zootecnici, fermo restando che va sempre posta l'attenzione al benessere degli insetti durante le varie fasi e alla sicurezza alimentare dei prodotti che ne derivano. Inoltre, l'utilizzo di substrati diversi da quelli di origine vegetale come alimento per gli insetti permetterebbe un grande passo avanti in termini di economia circolare e renderebbe questo settore ancora più sostenibile, anche a livello economico.

## 1.2 *Hermetia illucens*

*Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758) è un insetto appartenente all'ordine Diptera, sottordine Brachycera e famiglia Stratiomyidae. Attualmente è una specie cosmopolita, che, a causa di

trasporti commerciali, si è diffusa in tutto il globo a partire dal suo centro di origine, il continente americano.

È un insetto interessante per quanto riguarda lo smaltimento dei rifiuti, visto che è in grado di ridurre del 70% il volume iniziale del rifiuto nel giro di 14 giorni, in condizioni ideali. La sua evoluzione e affinità con la materia in decomposizione gli attribuisce ulteriori vantaggi, come l'eliminazione della carica batterica patogena e l'eliminazione degli odori sgradevoli provenienti dai rifiuti (Lalander et al., 2013). Cibandosi del rifiuto, inoltre, questa mosca riesce ad accumulare circa il 30% di grassi e il 35% di proteine sul suo peso secco (Dortmans et al., 2021).

*H. illucens* è in grado di svolgere questo ruolo grazie a una particolare selezione di enzimi intestinali che gli permette di nutrirsi di varie sostanze animali e vegetali come letame, paglia di riso, scarti alimentari, frattaglie animali, rifiuti di ristoranti e molti altri (de Souza-Vilela et al., 2019).

È considerato un insetto non infestante e per questo idoneo ad essere allevato senza particolari precauzioni. Inoltre, l'adulto non appropria l'uomo, non morde e non punge e non è vettore di nessuna malattia specifica (Sheppard et al., 2002a). Per queste ragioni è uno dei principali insetti studiati come fonte di nutrienti per l'alimentazione animale e umana, ma anche per il settore energetico.

### 1.2.1 Ciclo vitale e morfologia

*H. illucens* è un insetto olometabolo, quindi a metamorfosi completa. Il suo ciclo vitale si compone di quattro stadi: uovo, larva, pupa e adulto (Figura 1).



**Figura 1 - I quattro stadi di *H. illucens* [1]**

- **Uovo:** le uova sono ovali, di colore dal bianco al giallo chiaro e lunghezza di circa 1 millimetro (Figura 2). Vengono deposte dalle femmine in grappoli di 400/800, in prossimità di materiale organico in decomposizione; si schiudono in circa 4 giorni, se le condizioni ambientali sono ottimali. È presente un involucro esterno, chiamato corion, che racchiude l'embrione, con collegato ad esso diversi annessi che svolgono funzioni protettive, trofiche e di stabilità. (Diciaro & Kaufman, 2021)



*Figura 2 - Uova di H. illucens [2]*

- **Larva:** gli individui appartenenti all'ordine Diptera sono olometaboli, cioè a trasformazione completa, quindi, le larve differiscono totalmente dall'adulto (Figura 3). Appena emerse dall'uovo sono lunghe circa 1-2 millimetri, fino ad arrivare a maturazione completa, dopo tre stadi, a una lunghezza di circa 2 centimetri. Come tutti i componenti di questo ordine, le larve non presentano zampe toraciche articolate, sono quindi larve apode (Mcalpine et al., 1981). Il corpo è diviso in 3 segmenti: capo, torace e addome.

Il capo può essere ritratto nel torace, qui troviamo l'apparato boccale, che è di tipo masticatore, ed è costituito da parti sclerificate. Il torace è formato da 3 segmenti, con la presenza di ciglia ben sviluppate su ognuno di essi. L'addome è composto da otto segmenti, ricoperti da piccole setole. Inoltre, dal I al VII segmento si nota la presenza di spiracoli, necessari per la respirazione. L'ottavo segmento è il segmento anale, che ha forma arrotondata. L'ano appare come un'apertura longitudinale nella metà ventrale dell'ultimo segmento e sui bordi sono presenti spine coniche (Doelle et al., 2015).

L'accrescimento delle larve si svolge in modo continuo (accrescimento in peso) e discontinuo (accrescimento in lunghezza). Questa discontinuità dell'accrescimento lineare è conseguenza della presenza dell'esoscheletro, rigido e non estensibile.

Le larve di *Hermetia illucens* si sviluppano attraverso sei mute. Nel primo stadio, dopo la schiusa, queste sono di colore bianco/giallo. L'ultimo stadio viene raggiunto dopo circa 30 giorni dalla schiusa, cambiano colore fino al marrone scuro e diventano più rigide. All'atto dell'impupamento le larve migrano naturalmente verso punti più elevati e lontani dal substrato in cerca di un luogo asciutto e protetto.

Il regime dietetico delle larve è saprofago, cioè si nutrono di sostanza organica in via di decomposizione (Diclaro & Kaufman, 2021).



*Figura 3 - Larva di H. illucens [3]*

- **Pupa:** un'altra caratteristica degli insetti olometaboli è la presenza dello stadio pupale, che consiste in un processo di profonde trasformazioni, così da organizzare le nuove strutture dell'adulto. Infatti, giunta a maturazione, la larva si ritira all'interno dell'ultimo strato di pelle, detto pupario, che grazie a un processo di cheratinizzazione si indurisce (Figura 4).

A questo punto la pupa entra in uno stato di quiescenza, dove non si nutre e resta immobile, in attesa delle condizioni ottimali per il passaggio allo stadio adulto; la pupa ha una colorazione più scura, marrone/nero, ed ha una lunghezza di circa 2 cm (Diclaro & Kaufman, 2021).



*Figura 4 - Pupa di H. illucens [4]*

- **Adulto:** in condizioni ideali, nel giro di 9/10 giorni, l'adulto emerge dalla pupa (Figura 5). Questo è l'ultimo stadio del ciclo vitale; può raggiungere i 2 centimetri di lunghezza, è di colore nero, con riflessi metallici, e ha ali con nervature molto dense che ricoprono l'intera membrana. Spesso viene confuso con Imenotteri Apocriti per l'effettiva somiglianza morfologica. Il corpo è diviso in tre segmenti: capo, torace e addome.

Il capo è più piccolo del corpo, è nettamente distinto dal torace ed è ipognato. Gli occhi sono separati e ben sviluppati; è provvisto di antenne, di lunghezza doppia rispetto al capo e sono presenti delle setole nell'ultimo segmento, per questo dette aristate.

Il torace è a sua volta diviso in tre segmenti, chiamati protorace, mesotorace e metatorace, che presentano un paio di zampe cursorie ciascuno. Nel mesotorace troviamo un paio di ali membranose, ripiegate sull'addome quando in riposo. Le ali metatoraciche sono trasformate in bilancieri, come per la maggior parte dei ditteri, che svolgono funzioni di stabilità durante il volo.

L'addome, più snello, è formato da cinque segmenti, e il primo ha la caratteristica di avere due forme rettangolari traslucide.

L'adulto non ha bisogno di nutrirsi perché sfrutta come fonte di energia i grassi accumulati dalla larva e durante i sette giorni circa di vita, cerca un partner per l'accoppiamento. Le femmine feconde depongono le uova su una cavità asciutta vicino un substrato organico in decomposizione, così inizia un nuovo ciclo (Diciaro & Kaufman, 2021).



*Figura 5 - Adulto di H. illucens [5]*

La larva è lo stadio più interessante grazie alla sua ottima composizione nutrizionale, che lo rende adatto alla dieta animale e umana e la sostanza secca varia dal 20 al 45% (Diener et al., 2009a).

La composizione corporea delle larve è molto influenzata da due principali fattori:

- Lo stadio di sviluppo larvale: il contenuto di proteine diminuisce con l'avanzare dell'età larvale, passando dal 61% della sostanza secca dopo 5 giorni di sviluppo al 40-45% dopo 20 giorni (Liu et al., 2017);
- La dieta fornita alle larve: la tipologia e la quantità di alimento fornito alle larve ne influenza molto il contenuto in proteine e grassi (Aristi et al., 2020).

Sebbene dal punto di vista mangimistico la componente proteica delle larve sia considerata di maggiore interesse, questa è in equilibrio (inteso come rapporto percentuale espresso su sostanza secca) con il contenuto lipidico. Sulla base di ciò possono essere considerati egualmente interessanti i processi di valorizzazione alimentare/zootecnica, quanto quelli energetici che focalizzano principalmente sulla possibilità di estrazione dei lipidi (componente macromolecolare a più elevata concentrazione energetica).

### **1.3 Estrazione di olio**

L'estrazione di olio e grassi, più frequentemente, è attuata su materie prime vegetali, ad esempio su semi di oleaginose, come il girasole o il colza, o su olive da spremitura.

La frazione lipidica contenuta nelle cellule è sempre accompagnata da una frazione proteica di supporto e contenimento del grasso. Attraverso processi estrattivi idonei, si può ottenere la separazione delle due matrici, con un grado di purezza più o meno elevato, in base alla metodologia utilizzata.

In linea generale, i metodi di estrazione comprendono due categorie: estrazione meccanica, mediante presse, ed estrazione chimica, mediante solventi. La scelta tra due opzioni è data dalla quantità di olio presente nella matrice, visto che contenuti lipidici al di sotto del 20% sono difficilmente estraibili tramite spremitura. Altro fattore vincolante sono i costi e il

personale qualificato, che rendono l'estrazione chimica non sostenibile in realtà imprenditoriali di piccola scala.

Inoltre, tra le due tecniche di estrazione si hanno differenze a livello di efficienza e di qualità dell'olio: attraverso la spremitura è possibile estrarre al massimo l'85-90%, ma l'olio che ne deriva, in seguito a semplici processi come la filtrazione, può essere utilizzato tal quale; per quanto riguarda l'estrazione chimica, invece, si può ottenere fino al 99% di olio, tuttavia, questo deve poi necessariamente essere raffinato, così da eliminare tutte le sostanze estranee (D. Guazzarotti, 2010).

### 1.3.1 Estrazione chimica

Questo tipo di estrazione viene principalmente attuata su oli vegetali destinati a uso alimentare.

Molto importanti sono le caratteristiche del solvente utilizzato, che deve avere un elevato potere estraente, basso calore latente di evaporazione, basso calore specifico, bassa temperatura di ebollizione; il principale solvente utilizzato e che meglio rispecchia queste qualità è l'esano, un idrocarburo che appartiene al gruppo degli alcani.

L'estrazione, più frequentemente, può essere realizzata con due diverse metodologie: estrazione in continuo, che può essere messa in atto con il sistema a percolazione o con quello ad immersione; estrazione in discontinuo (D. Guazzarotti, 2010).

### 1.3.2 Estrazione meccanica

Questo tipo di estrazione viene principalmente utilizzata per la produzione di olio destinato a uso energetico. Anche se ha una resa inferiore, viene molto utilizzata per via della sua semplicità di funzionamento e adattabilità alle differenti tipologie di materie prime.

L'estrazione meccanica viene applicata ai semi con contenuto in olio superiore al 20%, e ha come coprodotto il pannello di estrazione, che contiene un residuo lipidico più o meno elevato. Questo residuo di norma viene recuperato tramite estrazione chimica, così da recuperare tutto l'olio e contenere i costi di estrazione con solventi.

L'efficienza della spremitura è influenzata da vari fattori: l'effetto drenaggio, se si è in presenza di parti rigide nel materiale trattato, il grado di dispersione dei costituenti colloidali,



il contenuto in acqua, la granulometria e la forma del materiale introdotto, la durata e i cicli di compressione.

Ci sono due tipi di presse che possono essere utilizzate: presse idrauliche discontinue o presse continue. La differenza principale tra le due apparecchiature è la modalità di lavorazione del ciclo di spremitura.

Le presse discontinue sono utilizzate per lo più da piccoli impianti, per ottenere oli pregiati. Sono caratterizzate da un tipo di lavorazione a step: tra due cicli è necessario aspettare che la compressione sia completa prima di inserire nuovo materiale. Gli svantaggi sono: la necessità dell'impiego di più tempo e di manodopera.

Le presse continue vengono utilizzate a livello industriale per la loro praticità e velocità. Il materiale viene inserito attraverso una tramoggia, e una vite senza fine lo comprime contro le pareti del cilindro, dove si trovano dei piccoli fori da cui esce l'olio. Questo tipo di presse lavorano senza interruzione (D. Guazzarotti, 2010).

#### **1.4 Scopo della tesi**

Rispetto a lavori precedenti (Straccia 2018) nei quali si è evidenziato come l'efficienza di estrazione di grasso da insetti aumenti con pressioni fino a 200bar a temperatura ambiente, in questo lavoro di tesi si è voluto andare oltre. Partendo dai precedenti risultati, si è valutata l'efficienza di estrazione meccanica del grasso a pressioni uguali e superiori su larve alimentate con scarti dell'agroindustria; inoltre, sono state eseguite prove per valutare l'influenza nell'efficienza di estrazione della presenza di fibre vegetali nel campione da estrarre.

Inoltre, si è cercato di valutare una possibile applicazione industriale di questo sistema di valorizzazione del sottoprodotto, analizzando le problematiche che potrebbero insorgere lungo tutto il processo, a partire dalla fornitura delle larve, passando per i parametri di allevamento, fino alla spremitura.

## Capitolo 2

### MATERIALI E METODI

#### 2.1 Allevamento

Le larve di *Hermetia illucens* (di età dai 2 ai 6 giorni) sono state fornite da Smart Bugs srl.

Il substrato di alimentazione utilizzato è stato fornito dalla filiera agroindustriale, in particolare spinacio (scarto della produzione di alimenti surgelati) dell'azienda OrtoVerde scapa, consorzio che racchiude diverse realtà produttive italiane dell'area adriatica e cece (scarto di cernita ottica) fornito dall'azienda AGROSERVICE spa, una rinomata ditta sementiera del territorio marchigiano.

##### 2.1.1 Stima del numero di larve

Per stimare il numero complessivo di larve è stato eseguito il seguente procedimento: con l'ausilio di una bilancia è stato registrato il peso complessivo di tutte le larve. In seguito, queste sono state campionate e poi contate; il campione è stato pesato nuovamente, e attraverso un rapporto si è risaliti alla stima del numero totale:

$$\text{Massa larve totali} : \text{Numero larve totali} = \text{Massa larve campionate} : \text{Numero larve campionate}$$

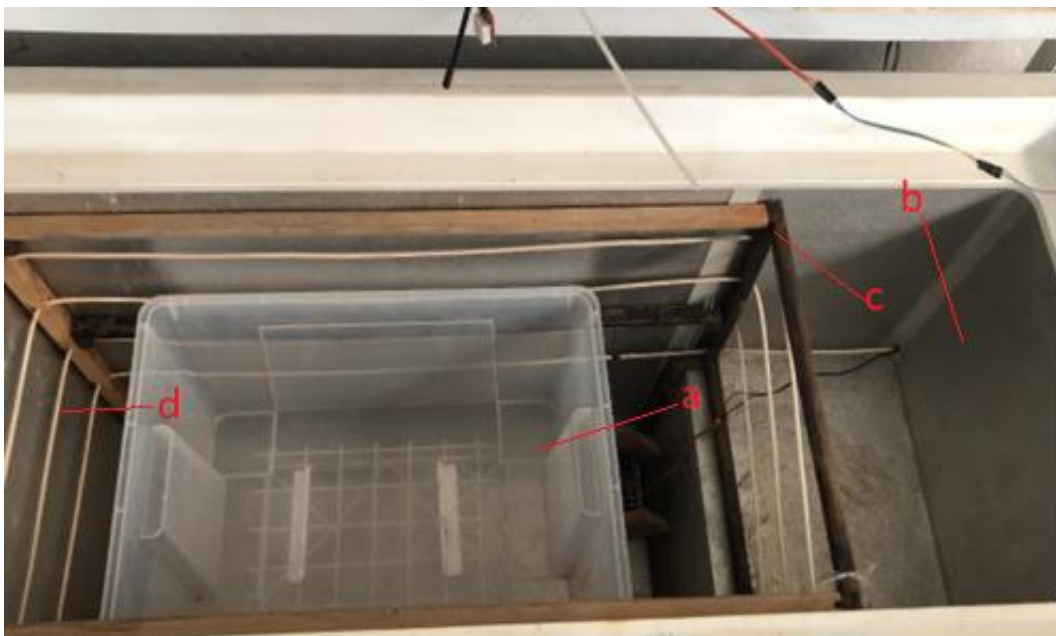
##### 2.1.2 Camera di allevamento

Le larve, una volta pesate, sono state alloggiate in un contenitore plastico, di dimensioni 53 x 40 x 27,5 cm (Figura 6a).

La camera di allevamento è rappresentata da un congelatore a pozzetto (Figura 6b), con alcune modifiche apportate: all'interno è presente una struttura rettangolare in legno (Figura 6c), posizionata lungo la superficie interna del congelatore, a cui è fissata una resistenza

elettrica riscaldante (Figura 6d). Inoltre, è presente una sonda collegata a un termostato. In questo modo, scegliendo una determinata temperatura, nel nostro caso 27°, il termostato regola l'accensione e lo spegnimento sia del cavetto riscaldante, sia del congelatore stesso, quando la temperatura va al di sopra o al di sotto della temperatura preimpostata. Nella camera è inoltre presente un ventilatore che contribuisce ad uniformare la temperatura in tutto il volume interessato dall'allevamento.

La temperatura del substrato è stata misurata attraverso a un termometro a immersione, e dal ventesimo giorno si è notato un incremento di questa; quindi, la temperatura del termostato è stata ridotta, così da permettere il raggiungimento di un equilibrio termico tra la temperatura del substrato e quella della camera di allevamento.



**Figura 6 - Camera di allevamento (b); vasca di allevamento (a); struttura in legno (c); Cavo riscaldante (d)**

### 2.1.3 Preparazione del substrato

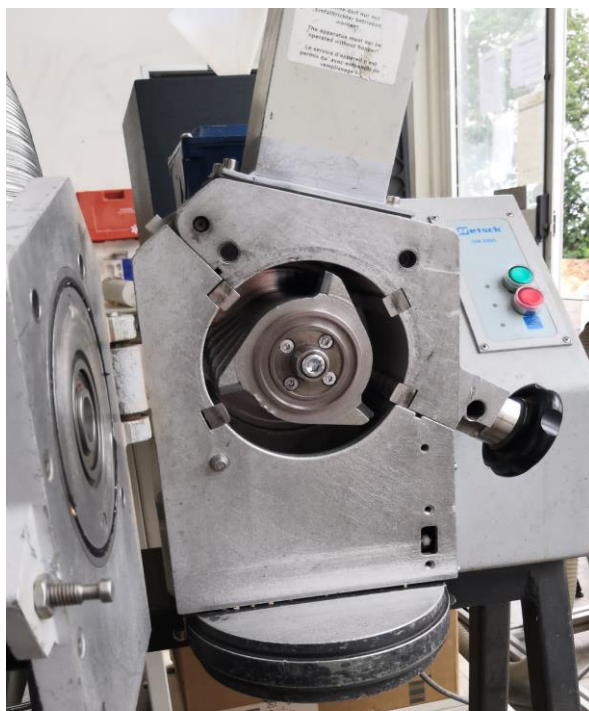
Il substrato di alimentazione è stato fornito giornalmente.

Per facilitare il processo di ingestione delle larve, il cece e lo spinacio sono stati trattati in modo da ridurre la granulometria delle particelle dell'alimento. Il cece ha subito un processo di macinazione, con l'aiuto di due mulini, il primo (Figura 8) ha permesso la riduzione del

diametro delle particelle fino ai 5 millimetri (Figura 7), mentre il secondo (Figura 9) fino a 1 millimetro. La farina che ne deriva è stata posta in sacchetti di plastica e stoccata in uno scaffale.



*Figura 7 - A sinistra cece macinato vaglio a 5mm; a destra cece intero*



*Figura 8 - Mulino con vaglio 5mm*



*Figura 9 - Mulino con vaglio 1mm*

Lo spinacio è stato ridotto in particelle fini con l'aiuto di un coltello, per poi essere trasformato in poltiglia grazie a un frullatore ad immersione. In seguito, la massa verde prodotta è stata inserita in sacchetti di plastica e conservata in congelatore, così da disporre di un prodotto con caratteristiche organolettiche quasi invariate per tutto il ciclo larvale.

La quantità di dieta somministrata è stata valutata sulla base della densità delle larve e considerando una dose giornaliera pari a 0,1 g/larva. In questo modo, si ha una maggiore efficienza di conversione del substrato in massa larvale, un accrescimento più rapido, maggior peso secco allo stadio prepupale (Supriyatna et al., 2016).

Il contenuto in acqua all'interno del cece è dell'11%, mentre nello spinacio del 90%. Quindi, considerando l'umidità iniziale delle due componenti, per avere un'umidità del substrato al 50%, la massa giornaliera di spinacio somministrata è di 484,75g (Figura 10) mentre quella di cece è di 475,25g (Figura 11).

La procedura, ripetuta giornalmente, prevede l'utilizzo di due becker di capienza 500ml e una bilancia, dove vengono pesate le due componenti. Successivamente, le due matrici vengono inserite in un contenitore in metallo. Dopo un'accurata miscelazione delle



componenti (Figura 12), il substrato viene inserito omogeneamente all'interno del contenitore di allevamento, dove sono presenti le larve.



*Figura 11 - Dieta giornaliera spinacio*



*Figura 10 - Dieta giornaliera cece*



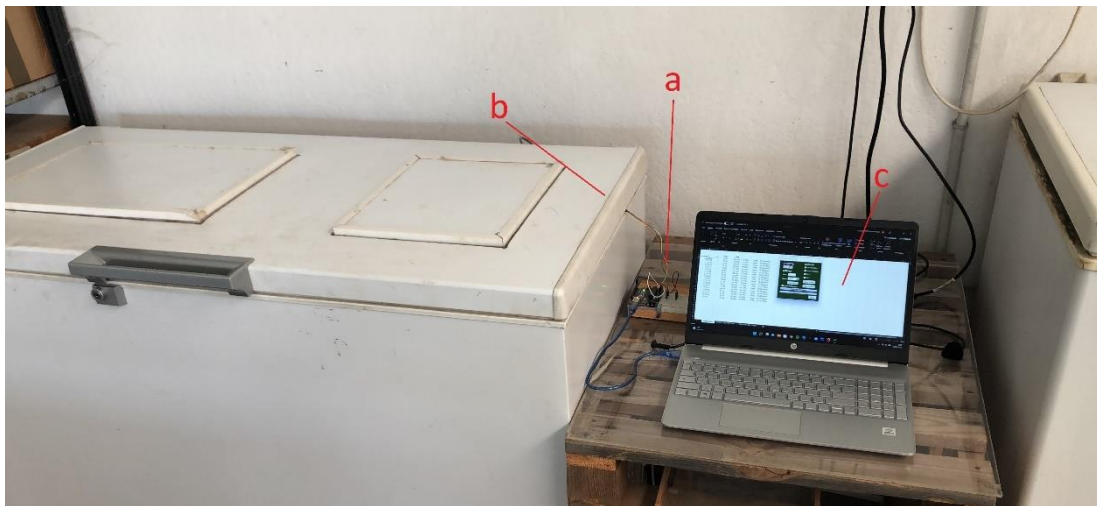
*Figura 12 - Le due componenti della dieta (spinacio e cece) miscelati*

#### 2.1.4 Arduino

I dati di umidità e temperatura all'interno della camera di allevamento, sono stati raccolti attraverso un sistema di acquisizione costruito con una scheda Arduino.

Arduino è una scheda programmabile con microcontrollore e compresa di una parte software, detta IDE, che, eseguita su un computer, viene usata per scrivere e caricare un codice informatico (in linguaggio "C") nella scheda stessa.

Attraverso una scheda elettronica collegata da una parte a un sensore e dall'altra a un computer (Figura 13), è possibile raccogliere i dati e riportarli su un foglio Excel, scegliendo anche la frequenza con cui questi vengono rilevati. Il range di tempo adottato è stato di 42 secondi, in modo tale da avere una panoramica realistica dell'andamento del microclima all'interno della camera di allevamento.



**Figura 13 - Arduino (a) collegato alla camera di allevamento (b) e al computer (c)**

#### 2.1.5 Raccolta

La raccolta delle larve è stata eseguita quando circa il 5% di prepupe (stadio tra la larva e la pupa) erano visibili, limite raggiunto dopo 26 giorni di allevamento.

Le larve sono state separate dal substrato residuo utilizzando prima un vaglio (Figura 14) così da separare la porzione più grossolana del substrato, poi delle pinzette, in modo tale da avere dei campioni con un grado di purezza il più elevato possibile.

In seguito, larve e substrato, sono stati inseriti in dei sacchi di plastica e sono stati posti in congelatore a una temperatura di  $-18^{\circ}$ , così da preservare le caratteristiche fisico/chimiche di entrambe le matrici.



*Figura 14 - Separazione delle larve dal substrato con un vaglio*

## 2.2 Caratterizzazione dei campioni

Il substrato rimasto dopo la crescita larvale è stato analizzato così da determinare il livello di umidità e di ceneri. Per quanto riguarda le larve, invece, sono state sottoposte ad analisi per la determinazione dell'umidità e analisi Soxhlet.

### 2.2.1 Determinazione dell'umidità del substrato

Per analizzare il contenuto di acqua del substrato, una volta separato dalle larve, si è proceduto nel seguente modo: dalla intera massa è stato prelevato un campione rappresentativo poi posizionato in una vaschetta di alluminio, identificata da un codice univoco. Con l'aiuto di una bilancia, è stata prima pesata la vaschetta di alluminio (tara), e, in seguito, il campione. La vaschetta con il substrato viene poi posizionata in una stufa termoventilata a una temperatura di  $105^{\circ}\pm 2^{\circ}$ , per 24 ore (fino a stabilità del peso) (Figura 15).



Il giorno seguente, la vaschetta viene pesata di nuovo per differenza con il peso iniziale, e, avendo cura di sottrarre la tara delle vaschette, viene calcolata la massa di acqua presente nel substrato.

### *2.2.2 Determinazione dell'umidità delle larve*

Una parte delle larve, dopo essere state separate dal substrato e prima di essere congelate, è stata sottoposta ad analisi per la determinazione dell'umidità, in modo da avere chiara la quantità di acqua presente in esse, fattore determinante per le prove successive.

La procedura eseguita è la seguente: si è prelevato un campione di larve rappresentativo successivamente posizionato su un vassoio di alluminio, di massa nota (tara), e con l'ausilio di una bilancia si è pesato il campione. In seguito, il vassoio è stato inserito in una stufa termoventilata a 105°. Trascorse 24 ore, il vassoio viene nuovamente pesato, così da conoscere la massa di acqua contenuta all'interno delle larve per differenza con la massa iniziale (Figura 15).

Sono state effettuate tre repliche, con una massa larvale iniziale rispettivamente di 118,4g, 112,2g e 118,2g.



*Figura 15 - Stufa termoventilata con campioni di substrato e larve*

### 2.2.3 Thermo-Gravimetric Analysis (TGA) del substrato

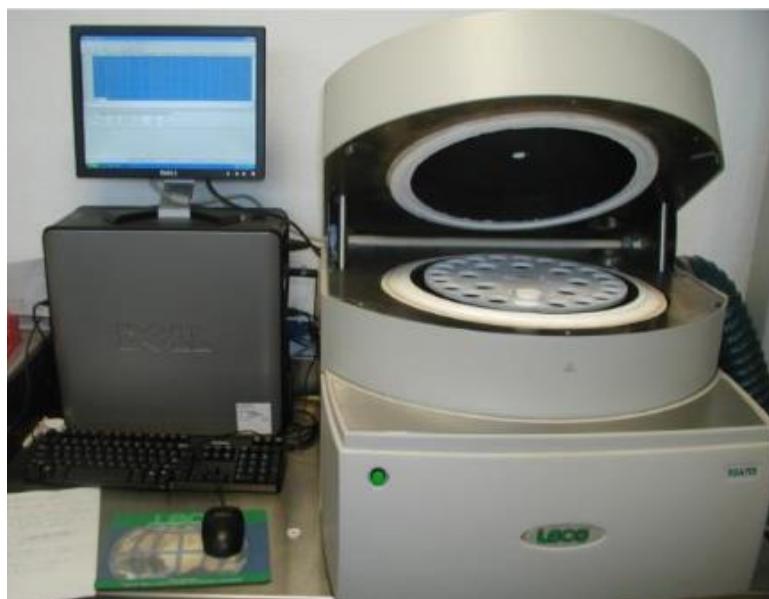
L'analisi del contenuto in ceneri (TGA, Thermo-Gravimetric Analysis) determina la percentuale di matrice inorganica di una biomassa, cioè quella parte che, insieme all'acqua, non fornisce energia nei processi termici.

Il risultato dell'analisi viene espresso in percentuale su sostanza secca. La determinazione si basa sulla metodologia definita dalla normativa UNI EN 14775.

La strumentazione necessaria si compone di un analizzatore termo-gravimetrico (Figura 16). Questo presenta al suo interno un carosello porta-campioni, dove sono posti 19 crogioli in ceramica. Il primo di questi non viene riempito, ma è utilizzato dall'apparecchio per riportare il peso della tara degli altri crogioli, dove invece vanno inseriti i campioni da analizzare.

Prima di procedere all'analisi, il campione è stato macinato con un mulino a vagliatura 1mm. In seguito, la biomassa viene posta nei crogioli (circa 1 g), e il sistema provvede a pesare i campioni. Una volta impostato il programma, si fa partire il macchinario che analizzerà i campioni in due fasi: nella prima la temperatura viene stabilizzata a 105°C per determinare l'umidità di correzione a stabilità di peso; la seconda fase, invece, la temperatura viene portata a 550°C, fino a raggiungere costanza di peso, per la determinazione delle ceneri.

A queste temperature tutta la sostanza viene trasformata in calore e gas di scarico, mentre, nel crogiolo rimane solo la parte inerte, cioè le ceneri. Infine, pesando ciò che resta nel crogiolo, lo strumento provvede a calcolare la percentuale di sostanza inorganica presente.

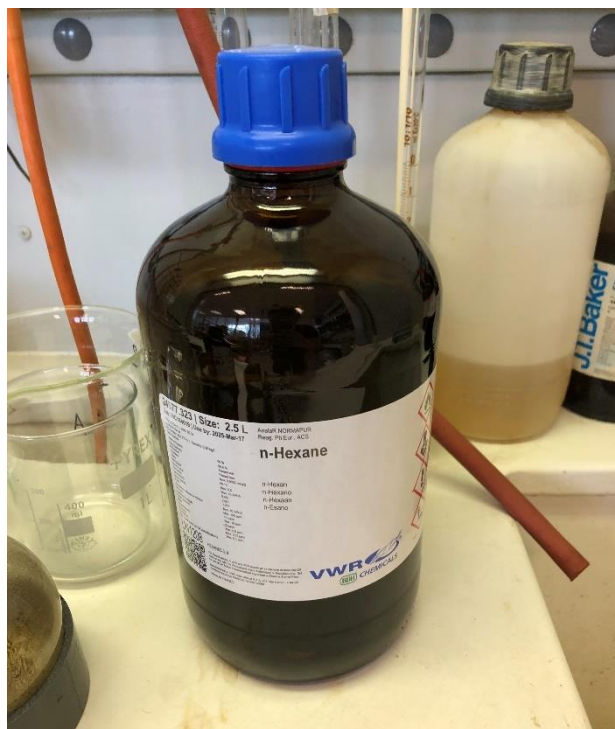


**Figura 16 - Analizzatore Termogravimetrico**

#### 2.2.4 Analisi Soxhlet

Lo scopo di questa analisi è di valutare la percentuale di lipidi potenzialmente estraibili dalla biomassa larvale e dalla fibra di girasole, al fine di poter verificare l'efficienza di estrazione della pressa meccanica.

Questo metodo è basato sull'estrazione della frazione lipidica da una biomassa, tramite l'utilizzo di un solvente apolare, in questo caso esano al 99,9% di purezza (Figura 17). Questo alcano si presenta come un liquido incolore, mobile, leggero e non solubile in acqua, che solidifica a  $-95^{\circ}\text{C}$  e bolle a  $69^{\circ}\text{C}$ ; è facilmente infiammabile e, se è in forma gassosa, le sue interazioni con l'aria possono provocare esplosioni, per questo tutte le operazioni vengono effettuate sotto cappa. Questa sostanza si ottiene dalla distillazione frazionata del petrolio.



**Figura 17 - Bottiglia contenente esano**

L'estrattore Soxhlet è composto da diverse parti: mantello riscaldante, pallone, estrattore, condensatore a bolle, pompa a membrana (Figura 18). L'esano viene posizionato nel pallone, mentre il campione nell'estrattore. Il condensatore a bolle presenta all'esterno un involucro cilindrico, mentre all'interno un setto a forma di ampolla, separati da un'intercapedine che favorisce il raffreddamento. Infatti, all'interno di questo spazio vi è un circolo continuo di

acqua a temperatura ambiente, creato dalla pompa a membrana, così da diminuire la temperatura dell'esano evaporato e permettere la sua condensazione.

Le operazioni di estrazione prevedono l'accensione del mantello riscaldante dove sono posizionati i palloni contenenti l'esano, che inizia a evaporare. L'esano, quindi, sale fino al condensatore a bolle, dove viene raffreddato e, tornato allo stato liquido, passa nella camera di estrazione. Qui è presente il campione, che viene gradualmente sommerso dal solvente, così da permettere il discioglimento dei lipidi delle larve. Una volta che l'esano raggiunge il foro di uscita, passa nel sifone e ricade nel pallone, dove, evaporando, inizia un nuovo ciclo.



**Figura 18 - Estrattore Soxhlet (c); mantello riscaldante (a); pallone (b); condensatore a bolle (d)**

Contestualmente è stato analizzato un campione tal quale di fibra di semi di girasole (si spiegherà successivamente il suo utilizzo), mentre le larve sono state preventivamente essiccate in stufa termoventilata ad una temperatura di 70°C. Successivamente, sono stati pesati due campioni diversi e inseriti in due provette di carta, la cui estremità superiore viene chiusa con cellulosa, prima di essere adagiate nei due estrattori.

Vengono quindi pesati i due palloni, prima e dopo aver versato il solvente all'interno, in modo da conoscere la tara e la massa di esano. Dopo aver assemblato tutte le varie componenti

del Soxhlet, viene acceso il sistema e lasciato procedere per 24 ore, così da garantire l'estrazione completa della frazione lipidica presente nelle larve e nella fibra.

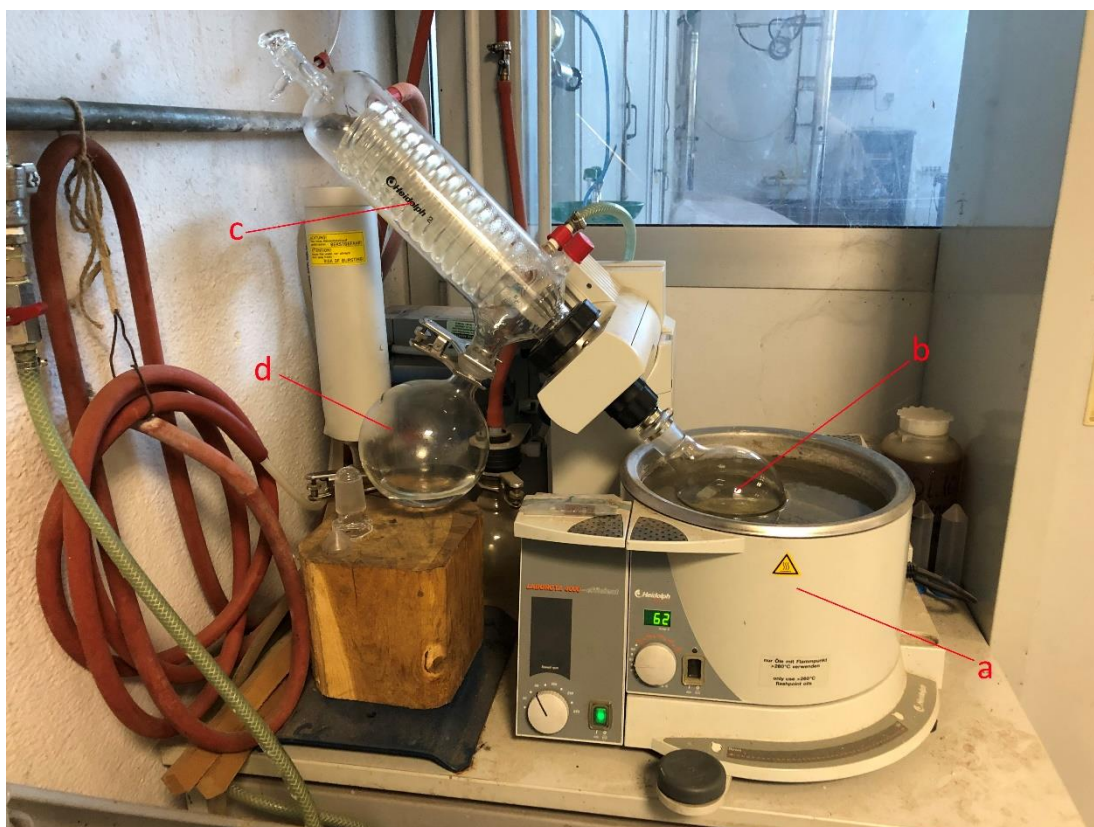
Sono state effettuate due repliche per le due matrici, con una massa delle larve rispettivamente di 11,19g e 10,73g, e di 3,45g e 3,48g per quanto riguarda la fibra di semi di girasole.

Trascorse le 24 ore, vengono recuperati i palloni con l'esano, che, visto il grasso disciolto in esso, ora appare di colore tendente al giallo.

La fase successiva consiste nel recupero del solvente separandolo dalla miscela esano-grasso tramite l'utilizzo di un rotavapor (Figura 19). Questo apparecchio è formato da: un bagno riscaldante termostato, pallone, condensatore a spirale, pallone di raccolta del solvente e pompa a membrana. Il pallone contenente la miscela viene immerso nel bagno termostato.

L'evaporazione viene favorita in due modi, oltre che con la regolazione della temperatura: applicazione di un'opportuna depressione e rotazione del pallone. Il vuoto è molto importante perché diminuisce la temperatura di ebollizione del solvente; la rotazione, invece, crea un moto nella soluzione che aumenta la superficie di evaporazione, e di conseguenza la velocità del processo.



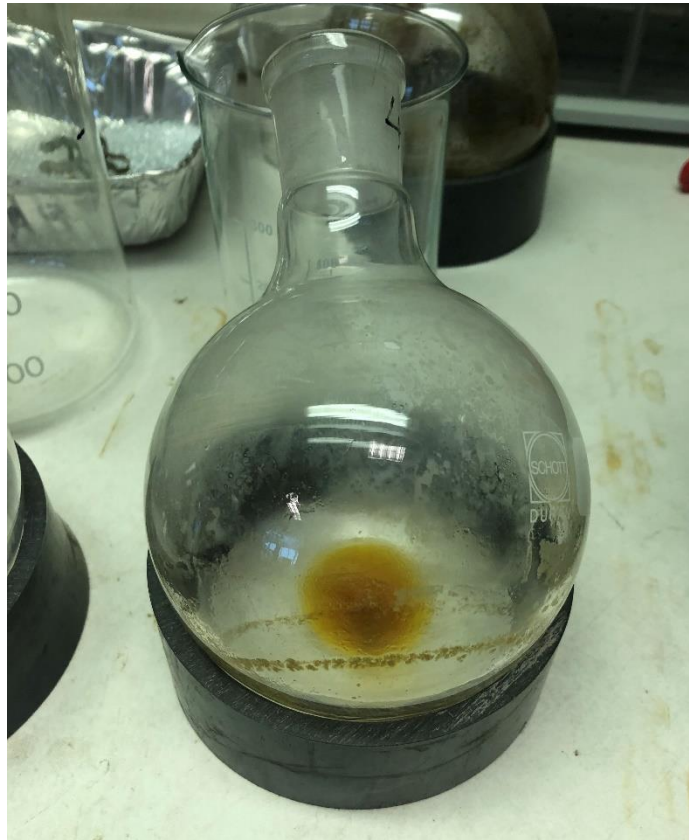


**Figura 19 - Rotavapor; bagno riscaldante (a); pallone (b); condensatore a spirale (c); pallone di raccolta del solvente (d)**

Il solvente evaporato entra nel condensatore, dove, a contatto con la serpentina, in cui scorre acqua, passa allo stato liquido e cade nel pallone raccogliatore.

Il termostato del bagno viene impostato a 60°C e si crea il vuoto portando la pressione a -0,5 bar, mantenendo costantemente il pallone in rotazione a 120 giri/minuto. Quando l'esano non condensa più, si svuota il pallone di recupero. A questo punto si procede con l'estrazione dell'esano residuo adottando condizioni più spinte: temperatura di circa 90°C e vuoto (almeno -0,9bar). Dopo circa 10 minuti, si rompe il vuoto e si toglie il pallone, che ora contiene solo grasso (Figura 20). Il pallone viene pesato una volta raffreddato.

Dalla differenza tra la massa del pallone contenente il grasso e del pallone vuoto si ottiene la quantità di grasso estratto. Questa viene poi messa in rapporto col peso iniziale del campione in modo da calcolare il contenuto di grasso espresso in percentuale.



*Figura 20 - Pallone contenente il grasso estratto*

### 2.3 Estrazione meccanica

Viste le prove effettuate precedentemente (Francesca Straccia, 2017), dove si è riscontrato un effetto negativo per quanto riguarda l'uso di un mantello riscaldante, che va a ridurre l'efficienza di estrazione, le prove di spremitura sono state condotte a temperatura ambiente. Tuttavia, per permettere il passaggio allo stato liquido dei lipidi contenuti nella massa larvale, i campioni sono stati condizionati in stufa termoventilata.

La procedura ha previsto un primo condizionamento a 40°C, che ha portato l'umidità delle larve al 14,7%, e un secondo e ultimo condizionamento a 70°C, così da ridurre l'umidità dei campioni a 8,7% (Matthäus et al., 2019)

L'attrezzatura utilizzata per l'estrazione meccanica è composta da vari elementi: pressa oleodinamica manuale, cilindro, pistone, contro-pistone, crogiolo, griglie, e bilancia (Figura 21).

La pressa è un'apparecchiatura meccanica che sfrutta il principio di trasmissione della pressione in un fluido. Si compone di: serbatoio carburante, pompa idraulica, fascio tubiero ad alta pressione, valvola a due vie, pistone idraulico e manometro.

Una pompa idraulica ad azionamento manuale fornisce olio pressurizzato al pistone, che è regolato da una valvola a due vie. Il pistone comprime il materiale. Al termine della compressione, la valvola viene azionata nella seconda posizione per mandare olio nella parte anteriore del pistone, facendolo muovere in senso opposto così da riportarlo a riposo.

La pressa utilizzata può raggiungere una pressione massima di 400 bar. Il cilindro è in acciaio inossidabile, con un diametro esterno di 73,5 mm, un diametro interno di 39,8 mm e un'altezza totale di 134,6 mm. Nella parte inferiore presenta una cavità atta all'inserimento del contro-pistone, con un diametro di 58,1 mm e una profondità di 31 mm. La tenuta di quest'ultimo è garantita da una guarnizione in gomma tipo o-ring.



*Figura 21 - Pressa oleodinamica*



Anche il pistone è costituito da acciaio inox, ha un diametro di 40 mm ed una lunghezza complessiva di 100,1 mm; la lunghezza della porzione che si inserisce nel cilindro è di 80 mm.

Il contro-pistone presenta un foro centrale passante con diametro di 15 mm, un anello di sostegno di 4 mm di larghezza ed una camera nella parte bassa che serve ad alloggiare un crogiolo in ceramica con diametro di 31,8 mm e profondità di 26,5 mm, con un rompigoccia nella parte più alta della cavità. L'altezza complessiva del contro-pistone è di 60,5 mm, di cui 27 mm entrano nella parte bassa del cilindro, mentre la restante parte alloggia in parte nella cavità relativa del cilindro stesso.

Nella parte superiore del contro-pistone, su di un sostegno ad anello, vengono posizionati la griglia e il filtro. Subito sotto è presente un restringimento a forma conica rovesciata che permette la discesa del grasso nel crogiolo, come un imbuto.

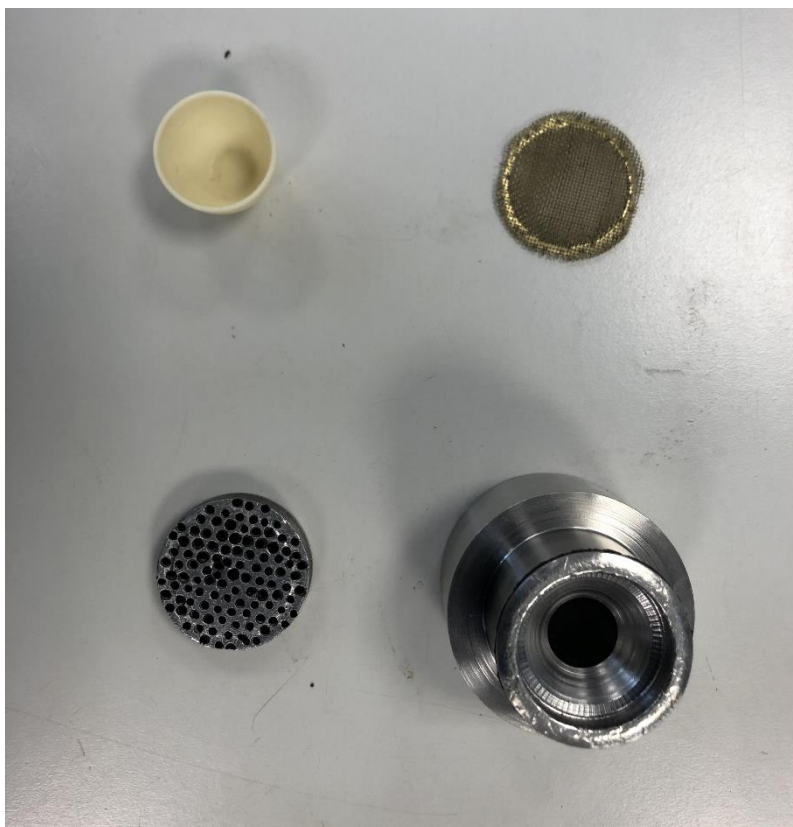
La griglia utilizzata è in ottone, mentre il filtro in acciaio inox, con uno spessore di 0,93 cm.

Nella parte superiore del cilindro viene inserito il pistone; nella parte inferiore, invece, il contro-pistone.

Le prove effettuate meccanicamente hanno previsto la compressione a pressioni di 200 e 230 bar inserendo unicamente larve di *H. illucens*, e pressioni di 180 e 200 bar con l'aggiunta di fibra di girasole a diverse percentuali: 5%, 8% e 11% per favorire la trasmissione della pressione e ostacolare la fuoriuscita del pannello di estrazione dai setti.

La procedura eseguita è la seguente: inizialmente vengono pesati il contro-pistone, la griglia ed il crogiolo, così da avere le tare di sistema (Figura 22). Si assemblano poi tutte le varie componenti: il crogiolo viene inserito nella sede del contro-pistone, che a sua volta viene introdotto nel cilindro. Vengono poi posizionate rispettivamente la griglia e il filtro. In seguito, si preleva il campione (condizionato in stufa a 70°C), e si pesa ottenendo circa 20 g di biomassa; nelle prove dove era previsto, si pesa la quantità calcolata di fibra di girasole e si miscela con le larve. Vengono poi immessi il campione ed il pistone nel cilindro e si procede alla compressione. La pressione è stata fornita attraverso 3 ripetizioni da 30 secondi ognuna, trascorso questo tempo la pressione sul campione veniva azzerata per poi riapplicarla.

Successivamente viene recuperato quanto più possibile il grasso dalle varie componenti con l'ausilio di una spatola di acciaio inox, depositandolo poi in una navicella di plastica già tarata. Poi si pesano il grasso raccolto, il contro-pistone, la griglia, il crogiolo ed il pannello. In questo modo, per differenza con i pesi iniziali, senza considerare il pannello, si ottiene il quantitativo di grasso estratto. Questo è stato poi rapportato con la massa iniziale del campione per ottenere il contenuto di olio in percentuale.



**Figura 22 - Da in alto a sx in senso orario: crogiolo, griglia, contro-pistone, filtro**

### 2.3.1 Fibra di girasole

La fibra vegetale necessaria per le prove di estrazione è stata ottenuta in seguito a decorticazione, cioè la rimozione delle cuticole dal seme, in questo caso girasole.

La macchina decorticatrice utilizzata ha una potenza di 1,5kW e dimensioni di 60x62x32cm. Il principio di funzionamento è quello classico delle macchine decorticatrici per impatto: il seme è immesso in una tramoggia e precipita al centro di una girante, munita di

lame all'esterno; il movimento delle lame fa collidere il seme contro la parete, provocando la rottura della cuticola.

Il risultato del processo è l'insieme delle cuticole, con un grado di purezza più o meno elevato. Per questo la fibra è stata sottoposta ad analisi Soxhlet, in modo da valutare l'incidenza dell'olio di girasole nell'estrazione del grasso delle larve (Figura 23).

Attraverso il seguente calcolo è stato possibile determinare la percentuale di olio di girasole presente nel grasso estratto:

$$(media \% \text{ del grasso estratto da larve prive di fibra } \times \% \text{ olio cuticola}) / \% \text{ grasso tot larve}$$

In seguito, il valore ricavato viene rapportato alla percentuale di cuticola presente nei campioni, e il risultato viene sottratto alla quantità di lipidi estratta.



***Figura 23 - Campione da sottoporre a estrazione meccanica con larve e cuticola di girasole***

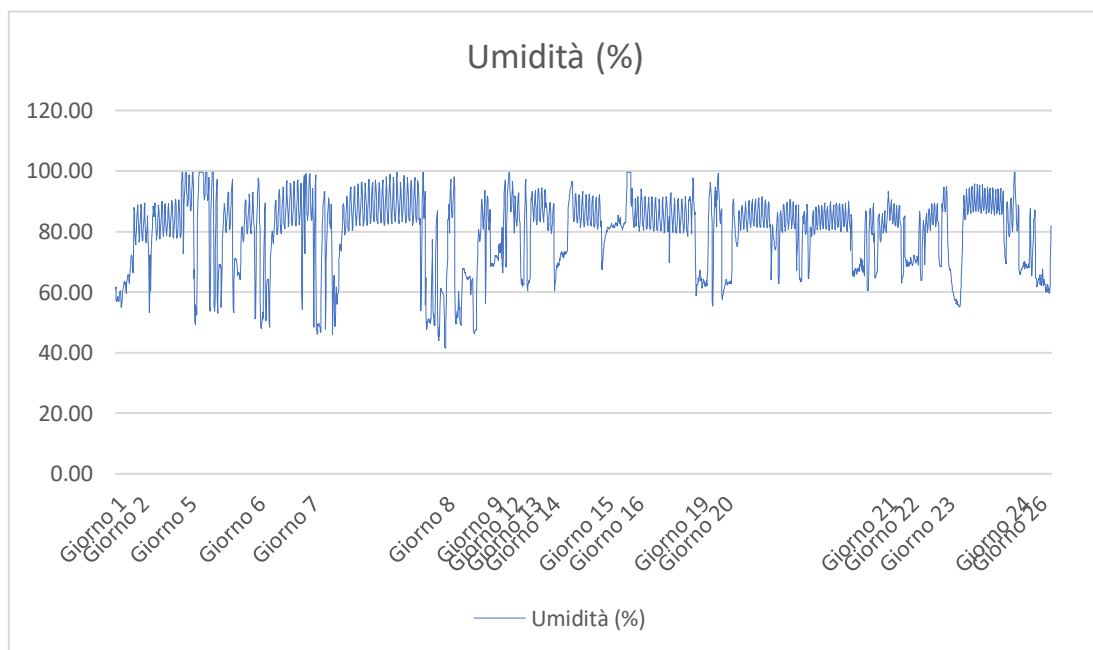
# Capitolo 3

## RISULTATI

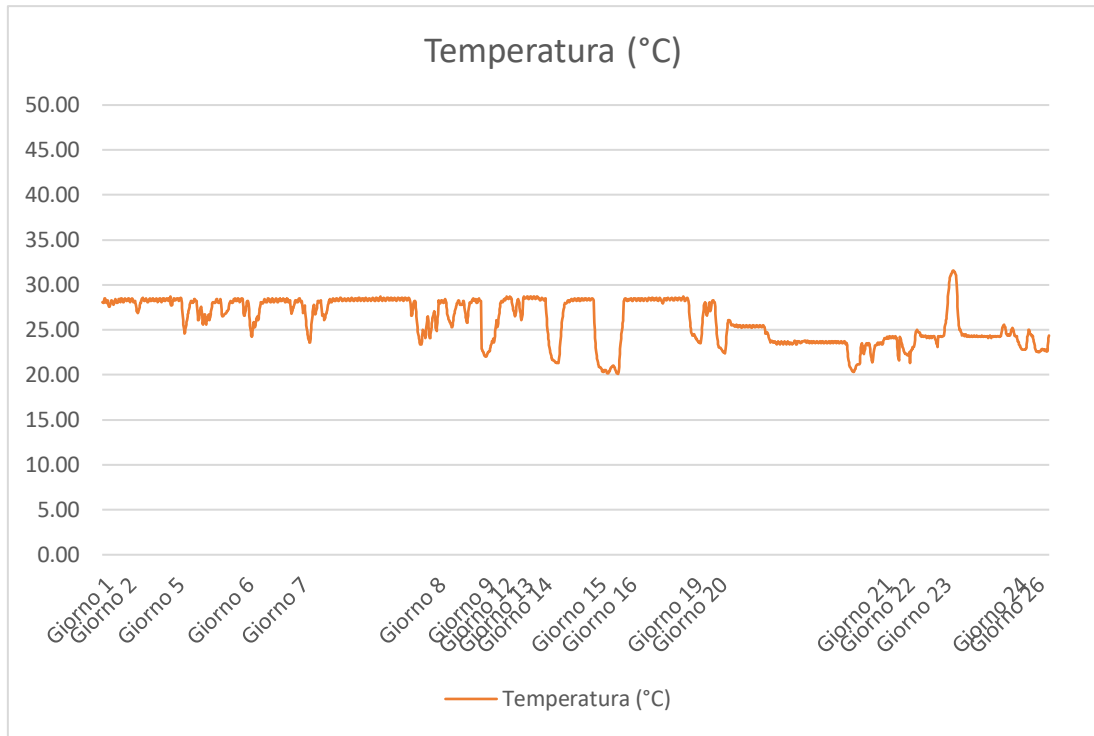
### 3.1 Allevamento

Nei due grafici seguenti (Tabella 1 e Tabella 2) sono riportati i dati riguardo l'andamento rispettivamente di umidità e temperatura all'interno della camera di allevamento, entrambi rilevati grazie alla sonda collegata alla scheda Arduino.

L'umidità è espressa in percentuale, mentre la temperatura in gradi celsius.

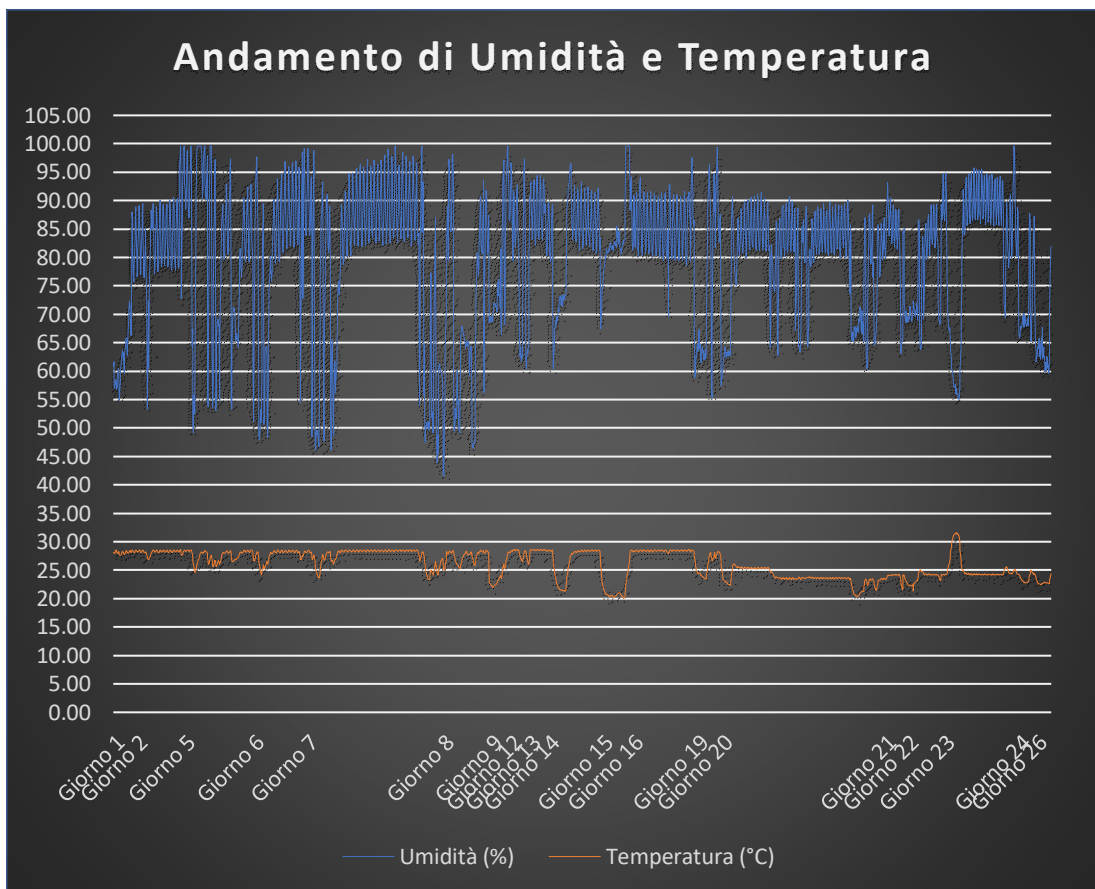


**Tabella 1 - Andamento umidità**



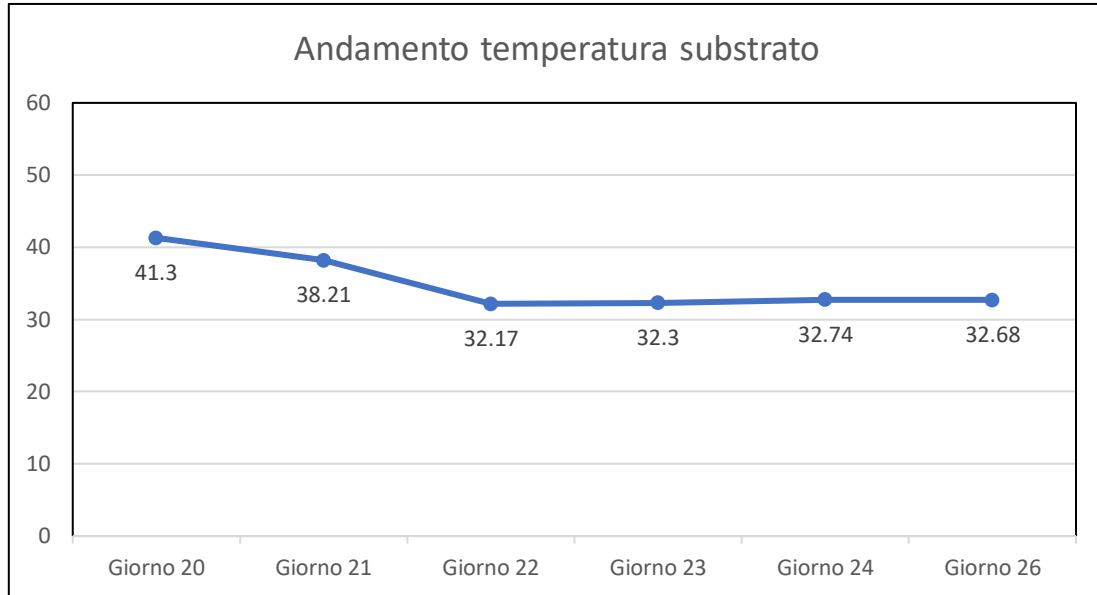
**Tabella 2 - Andamento temperatura**

Nella Tabella 3 troviamo i dati di umidità e temperatura messi a confronto.



**Tabella 3 - Andamento di umidità e temperatura**

Nella Tabella 4, invece, si trovano i valori dell'andamento termico del substrato, a partire dal 20° giorno fino al 26°.



**Tabella 4 - Andamento temperatura substrato**

### 3.1.1 Stima del numero di larve

La stima è stata effettuata attraverso il seguente rapporto:

$$302,1g : X = 3,76g : 742$$

Dove 302,1g è la massa delle larve totali (appena acquistate), 3,76g è la massa delle larve campionate e 742 è il numero delle larve campionate.

$$X = \text{numero di larve totali} = (302,1 \times 742) / 3,76 = 59616$$

### 3.2 Caratterizzazione dei campioni

Nella Tabella 5 vengono riportati i risultati delle analisi effettuate sulle larve, sul substrato e sulla fibra ricavata dalla decorticazione del girasole.

	Umidità <sup>a</sup>	Umidità di correzione <sup>a</sup>	Ceneri <sup>b</sup>	Contenuto lipidico <sup>b</sup>
<i>Larve</i>	40,23	-	-	22,57
<i>Fibra girasole</i>	-	-	-	14,9
<i>Substrato</i>	25,14	0,68	7,61	-

**Tabella 5 - Risultati caratterizzazione campioni (<sup>a</sup>=su contenuto umido; <sup>b</sup>=su contenuto secco)**

### 3.3 Estrazione meccanica

La maggior efficienza di estrazione media si ha con spremitura a pressioni di 200 bar e con l'aggiunta dell'11% di fibra di girasole, dove si è estratto il 3,88% di grasso.

La minor efficienza, invece, si ha con estrazione a pressioni di 200 bar di campione tal quale, senza aggiunta di fibra di girasole, con una percentuale del 2,87%.

Pressione (bar)	Campione		Grasso (g)	Grasso (%)	Media Grasso (%)
	Fibra (%)	Replica			
200	-	I	0,56	2,79	
200	-	II	0,57	2,80	2,87
200	-	III	0,63	3,01	
230	-	I	0,65	3,23	
230	-	II	0,57	2,75	3,25
230	-	III	0,78	3,77	
180	5	I	0,68	2,93	
180	5	II	0,76	3,31	3,20
180	5	III	0,78	3,35	



180	8	I	0,42	2,14	
180	8	II	0,77	3,79	2,90
180	8	III	0,56	2,78	
180	11	I	0,67	3,32	
180	11	II	0,96	4,60	3,32
180	11	III	0,51	2,52	
180	11	IIII	0,58	2,84	
200	5	I	0,80	3,98	
200	5	II	0,65	3,23	3,72
200	5	III	0,79	3,94	
200	8	I	0,69	3,41	
200	8	II	0,78	3,80	3,77
200	8	III	0,85	4,11	
200	11	I	0,84	4,13	
200	11	II	0,77	3,81	3,88
200	11	III	0,77	3,70	

**Tabella 6 - Risultati estrazione meccanica**

### 3.3.1 Fibra di girasole

Il calcolo eseguito per la determinazione del contenuto lipidico della fibra di girasole estratto insieme al contenuto lipidico della biomassa larvale è il seguente:

$$(3,06 \times 14,9) / 22,57 = 2,02\%$$

In seguito, attraverso un rapporto con la massa di cuticola inserita nel campione da estrarre, si risale al quantitativo di olio da sottrarre alla massa lipidica estratta:

$$(Mc \times 2,02) / 100$$

Dove “Mc” è la massa di cuticola inserita in diverse percentuali nelle varie prove. Il risultato di questo calcolo viene sottratto alla massa totale della matrice estratta.

## Capitolo 4

### DISCUSSIONE

#### 4.1 Allevamento

Come si può notare dalla Tabella 3 l'andamento di temperatura e umidità è oscillatorio. Questo è dato dai cicli di accensione e spegnimento del congelatore e del cavetto riscaldante, comandati dal termostato.

Ne consegue che si ha un ciclo di riscaldamento, dato dalla resistenza accesa, che innalza la temperatura e l'umidità, fino ai 27°C, e un ciclo di raffreddamento, dato dal congelatore stesso, che riduce la temperatura e fa condensare l'acqua presente nell'atmosfera della camera di allevamento, con conseguente riduzione dell'umidità.

Inoltre, combinando i due grafici, è possibile osservare degli avvallamenti di entrambi i parametri, che coincidono nello stesso momento: questo è dovuto alle operazioni di somministrazione del substrato che comportano l'apertura della camera di allevamento, con conseguente dispersione del calore e dell'umidità interni.

Inoltre, in corrispondenza del ventesimo giorno, si nota una riduzione della temperatura e dell'umidità, anche se in forma minore. La causa è da imputare alla riduzione della temperatura impostata nel termostato, che è stata necessaria per via dell'incremento eccessivo della temperatura del substrato.

L'innalzamento della temperatura del substrato è dovuto al movimento continuo delle larve: agli inizi del ciclo le larve hanno una dimensione ridotta quindi il calore da loro sviluppato non è sufficiente ad aumentare la temperatura; tuttavia, tenendo in considerazione l'elevata densità, sommata all'aumento della dimensione del corpo, il calore creato va a incidere molto di più rispetto agli inizi, e si raggiungono picchi di 40°C (Uknowledge & Mceachern, 2018).

#### 4.1.1 Stima delle larve

Le larve sono state richieste al fornitore in numero di 9600, ma procedendo con la stima del numero reale di larve iniziali, attraverso il calcolo riportato nel capitolo 3.1.1, si è notato che il numero era molto più grande di quanto ci si aspettava (circa 59600 larve). Tuttavia, si è optato di somministrare un quantitativo di dieta rapportato al numero inizialmente richiesto di larve (9600), così da simulare un possibile scenario all'interno di un sistema industriale di valorizzazione del sottoprodotto.

## 4.2 Caratterizzazione dei campioni

### 4.2.1 Analisi TGA e umidità substrato

Nella Tabella 7 sono riportati i dati di umidità e ceneri trovati in letteratura.

<b>Campione</b>	<b>Umidità (%)</b>	<b>Ceneri (%)</b>	<b>Autore</b>
<i>Substrato</i>		6,6	(Yildirim-Aksoy et al., 2020)
	51,4		(Setti et al., 2019)
		9,6	(Gärttling et al., 2020)
<i>Larve</i>	62,35		(Salomone et al., 2017)

**Tabella 7 - Dati su umidità e ceneri trovati in letteratura**

Come si può notare, il contenuto in ceneri del substrato è tra i range dei dati trovati in letteratura. La percentuale di sostanza inorganica è in funzione del substrato somministrato.

Il livello di umidità è di molto inferiore rispetto ai dati trovati in letteratura, questo è principalmente dovuto all'elevata densità delle larve e al ridotto apporto di alimento e acqua,

visto che la dieta somministrata è rapportata a un numero sei volte inferiore di larve, che si traduce in un maggiore consumo idrico del substrato da parte delle larve.

Per quanto riguarda le larve, in letteratura non sono presenti molti dati riguardo il contenuto di umidità. Tuttavia, paragonando i dati con i risultati di Salomone et al., si può notare una differenza di più del 20%; la causa di ciò può essere imputata in parte al contenuto idrico del substrato fornito (50%), inferiore a quello ideale (60%) (Dobermann et al., 2019) che ha comportato una minor disponibilità di acqua. Inoltre, questo è notevolmente accentuato dalla densità larvale sei volte superiore, che implica una disponibilità idrica inferiore.

#### 4.2.2 Estrazione dei lipidi

Nella Tabella 8 sono riportati i dati presenti in letteratura riguardo la percentuale di contenuto lipidico di larve di *Hermetia illucens*.

<b>Campione</b>	<b>Contenuto lipidico (%)</b>	<b>Autore</b>
<i>Larve</i>	39,2 (1,9)	(Zheng et al., 2012)
	29-30	(Li et al., 2011)
	28-34,8	(Manzano-Agugliaro et al., 2012)
	30-32	(Nguyen et al., 2017)
	35-40	(Sealey et al., 2011)
	35	(Sheppard et al., 2002b)

**Tabella 8 - Dati su contenuto lipidico trovati in letteratura (al netto del contenuto umido)**

Sottoposte ad analisi Soxhlet, il contenuto lipidico delle larve risulta essere del 22,57%, molto inferiore se confrontato con i dati trovati in letteratura.

Questo è causato da vari fattori:

- La densità di allevamento è di molto superiore alla densità consigliata (Barragan-Fonseca et al., 2018), ciò comporta un allungamento del ciclo vitale, e soprattutto una disomogeneità di crescita; quindi, alla raccolta, c'è una più bassa percentuale di larve che hanno raggiunto uno stadio con soddisfacente contenuto lipidico.

Inoltre, una densità elevata influenza negativamente l'accumulo di grassi e proteine nelle larve (Barragan-Fonseca et al., 2018)

- Il substrato fornito è rapportato a un numero di larve di molto inferiore (9600), di conseguenza la disponibilità alimentare è un fattore limitante, che si traduce in un minor accumulo di proteine e lipidi (Diener et al., 2009b).
- Il contenuto in grassi e proteine delle larve di *H. illucens* è molto influenzato dal substrato di crescita. Infatti, con un'alimentazione ricca di queste matrici, il loro contenuto nel corpo è superiore, rispetto a larve cresciute su alimenti poveri in contenuto proteico e lipidico. Di conseguenza, con una dieta a base di cece e spinacio, dove la componente lipidica è praticamente assente, il grasso accumulato non può raggiungere livelli elevati. (Aristi et al., 2020)

Il basso contenuto lipidico ha ovviamente influenzato anche l'estrazione meccanica, che, come detto nel capitolo 1.3.2, non può essere attuata su matrici che contengono meno del 20% di grasso o olio.

Le larve sottoposte a estrazione hanno un contenuto medio di grasso pari al 22,57%, di poco sopra al limite; di conseguenza l'efficienza estrattiva non può essere elevata.

La maggior efficienza media si ha con estrazione meccanica a pressioni di 200 bar e con l'aggiunta dell'11% di fibra di girasole, dove si è estratto il 3,88% di grasso, quantità di molto inferiore ai dati riportati in letteratura.

Sebbene non ci sia una differenza molto significativa tra le varie prove, possono essere fatte delle considerazioni:

- L'aumento della pressione di esercizio è direttamente proporzionale all'efficienza di estrazione, risultato in linea con le prove effettuate precedentemente (Francesca Straccia, 2017).
- L'inserimento di cuticola di girasole, una fibra vegetale solida, aumenta l'efficienza di estrazione in modo proporzionale all'aumento della percentuale inserita nel campione da estrarre (5% - 8% - 11%). La presenza di un materiale solido miscelato con le larve,

che hanno poca resistenza alla compressione, fa sì che all'atto della spremitura, la componente larvale venga compressa contro un materiale solido, con conseguente aumento dell'efficienza estrattiva.

### **Parametri di estrazione**

I campioni, prima di essere sottoposti a estrazione, sono stati condizionati in stufa termoventilata, a una temperatura prima di 40°C e poi di 70°C. Grazie a questo processo l'umidità del campione è stata portata a 8,7% (Matthäus et al., 2019); inoltre, i lipidi contenuti nelle larve si presentano solidi a temperatura ambiente, l'aumento di temperatura del campione, quindi, favorisce il passaggio allo stato liquido di questi, così da incrementare l'efficienza estrattiva.

I campioni sottoposti a estrazione avevano una massa di circa 20g. La scelta di questo peso è data dalla bassa percentuale lipidica presente nelle larve: effettuando un'estrazione su un campione di massa inferiore, la quantità di grasso estratto è quasi nulla, poiché viene disperso tra le varie componenti della pressa (cilindro, pistone, contro-pistone, griglia e filtro).

### **Scala industriale**

La prima problematica riscontrata è stata sul numero di larve iniziali fornite, che, come già detto nel capitolo 4.1.1, era di sei volte superiore il numero richiesto. Le larve sono state richieste in numero di 9600, ma già ad una prima stima visiva sembravano molte di più.

Per questo si è proceduto con la stima del numero reale di larve iniziali il risultato che ne è derivato è stato molto più alto di quello che ci si aspettava (circa 59600larve). Tuttavia, si è optato per somministrare un quantitativo di dieta giornaliero rapportato a 9600 larve, così da simulare un possibile scenario all'interno di un sistema industriale di valorizzazione del sottoprodotto.

Infatti, immaginando un sistema industriale e meccanizzato, dove le quantità di sottoprodotto da gestire sarebbero molto più grandi, e di conseguenza anche la biomassa larvale necessaria per la bioconversione, diventa di fondamentale importanza posizionare un numero esatto di larve dentro ciascun recipiente, calcolato in base agli spazi del contenitore e in base alla quantità di dieta fornita.

Questo soprattutto per la densità di allevamento, che si è visto essere un fattore limitante la velocità di crescita, con conseguente allungamento del ciclo vitale (Barragan-Fonseca et al., 2018), che tradotto in termini imprenditoriali equivale a perdita economica.

Inoltre, un altro fattore che potrebbe essere limitante, è la composizione della dieta stessa. Infatti, studi dimostrano come la percentuale dei nutrienti nelle larve si modifichi in relazione alla composizione della dieta fornita (Aristi et al., 2020).

Quindi, come si può intuire, è possibile influenzare la composizione dei nutrienti della biomassa larvale attraverso un attento studio delle componenti da fornire come alimento agli insetti.

## CONCLUSIONI

In conclusione, dai dati precedentemente descritti si può dedurre che:

- L'efficienza di estrazione è direttamente proporzionale all'aumento della pressione di esercizio; La presenza di cuticola nel campione da estrarre migliora l'efficienza di estrazione.
- La densità di allevamento è un fattore determinante della durata del ciclo, dell'accumulo di grassi e proteine e dell'indice di conversione; Se l'obiettivo è l'estrazione di grassi, è necessario fornire una dieta caratterizzata da un medio/alto contenuto lipidico.
- La metodologia seguita in questa prova non è applicabile su grande scala ma ha messo in risalto il fatto che in un ipotetico sistema industriale è necessario sviluppare nuovi metodi efficaci per immettere un numero definito di larve, in base alla grandezza del contenitore di allevamento.



## BIBLIOGRAFIA

- Aristi, H., Mudji, E. H., Soepranianondo, K., Haridjani, N., & Aprilia, Z. (2020). Levels of protein and fat produced by black soldier fly (*hermetia illucens*) larvae in the bioconversion of organic waste. *E3S Web of Conferences*, 151. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202015101041>
- Barragan-Fonseca, K. B., Dicke, M., & van Loon, J. J. A. (2018). Influence of larval density and dietary nutrient concentration on performance, body protein, and fat contents of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 166(9), 761–770. <https://doi.org/10.1111/eea.12716>
- Čičková, H., Newton, G. L., Lacy, R. C., & Kozánek, M. (2015). The use of fly larvae for organic waste treatment. In *Waste Management* (Vol. 35, pp. 68–80). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.09.026>
- de Souza-Vilela, J., Andrew, N. R., & Ruhnke, I. (2019). Insect protein in animal nutrition. In *Animal Production Science* (Vol. 59, Issue 11, pp. 2029–2036). CSIRO. <https://doi.org/10.1071/AN19255>
- Diclaro, J. W., & Kaufman, P. E. (2021). *Black Soldier Fly Hermetia illucens Linnaeus (Insecta: Diptera: Stratiomyidae) 1*. <https://d.lib>.
- Diego Guazzarotti. (2010). *Tesi sperimentale*. Università Politecnica delle Marche
- Diener, S., Studt Solano, N. M., Roa Gutiérrez, F., Zurbrügg, C., & Tockner, K. (2011). Biological treatment of municipal organic waste using black soldier fly larvae. *Waste and Biomass Valorization*, 2(4), 357–363. <https://doi.org/10.1007/s12649-011-9079-1>
- Diener, S., Zurbrügg, C., & Tockner, K. (2009a). Conversion of organic material by black soldier fly larvae: Establishing optimal feeding rates. *Waste Management and Research*, 27(6), 603–610. <https://doi.org/10.1177/0734242X09103838>
- Diener, S., Zurbrügg, C., & Tockner, K. (2009b). Conversion of organic material by black soldier fly larvae: Establishing optimal feeding rates. *Waste Management and Research*, 27(6), 603–610. <https://doi.org/10.1177/0734242X09103838>

- Dobermann, D., Field, L. M., & Michaelson, L. v. (2019). Using *Hermetia illucens* to process Ugandan waragi waste. *Journal of Cleaner Production*, 211, 303–308. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.11.176>
- Doelle, K., Oliveira, F., List, R., & O'reilly, J. R. (2015). 1758) using electron microscopy Article. *JOURNAL OF ENTOMOLOGY AND ZOOLOGY STUDIES*, 3(5), 147–152. <https://www.researchgate.net/publication/305378530>
- Dortmans, B. M. A., Egger, J., Diener, S., & Zurbrügg, C. (2021). Black Soldier Fly Biowaste Processing-A Step-by-Step Guide, 2 nd Edition. In *Bibliographic*.
- E.M. Costa Neto. (2013). *Insects as human food: an overview*.
- Francesca Straccia. (2017). *Tesi completa rev Ale 180917*. Università Politecnica delle Marche.
- Gärttling, D., Kirchner, S. M., & Schulz, H. (2020). Assessment of the n- And p-fertilization effect of black soldier fly (diptera: Stratiomyidae) by-products on maize. *Journal of Insect Science*, 20(5), 1–11. <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieaa089>
- Lalander, C., Diener, S., Magri, M. E., Zurbrügg, C., Lindström, A., & Vinnerås, B. (2013). Faecal sludge management with the larvae of the black soldier fly (*Hermetia illucens*) - From a hygiene aspect. *Science of the Total Environment*, 458–460, 312–318. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.033>
- Laufenberg, unther, Kunz, B., & Nystroem, M. (2003). *Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations*.
- Li, Q., Zheng, L., Cai, H., Garza, E., Yu, Z., & Zhou, S. (2011). From organic waste to biodiesel: Black soldier fly, *Hermetia illucens*, makes it feasible. *Fuel*, 90(4), 1545–1548. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2010.11.016>
- Liu, X., Chen, X., Wang, H., Yang, Q., Ur Rehman, K., Li, W., Cai, M., Li, Q., Mazza, L., Zhang, J., Yu, Z., & Zheng, L. (2017). Dynamic changes of nutrient composition throughout the entire life cycle of black soldier fly. *PLoS ONE*, 12(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182601>
- Manzano-Agugliaro, F., Sanchez-Muros, M. J., Barroso, F. G., Martínez-Sánchez, A., Rojo, S., & Pérez-Bañón, C. (2012). Insects for biodiesel production. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 16, Issue 6, pp. 3744–3753). <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.03.017>
- Matthäus, B., Piofczyk, T., Katz, H., & Pudiel, F. (2019). Renewable Resources from Insects: Exploitation, Properties, and Refining of Fat Obtained by Cold-Pressing from *Hermetia*

- illucens (Black Soldier Fly) Larvae. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121(7). <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800376>
- Mcalpine, J. F., Peterson, B. v, Shewell, G. E., Teskey, H. J., Vockeroth, J. R., & Wood, D. M. (1981). *Manual of Nearctic Diptera Volume 1 MORPHOLOGY AND TERMINOLOGY-ADULTS*.
- Miglietta, P. P., de Leo, F., Ruberti, M., & Massari, S. (2015). Mealworms for food: A water footprint perspective. *Water (Switzerland)*, 7(11), 6190–6203. <https://doi.org/10.3390/w7116190>
- Nguyen, H. C., Liang, S. H., Doan, T. T., Su, C. H., & Yang, P. C. (2017). Lipase-catalyzed synthesis of biodiesel from black soldier fly (*Hermetica illucens*): Optimization by using response surface methodology. *Energy Conversion and Management*, 145, 335–342. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.05.010>
- Ooninx, D. G. A. B., & de Boer, I. J. M. (2012). Environmental Impact of the Production of Mealworms as a Protein Source for Humans - A Life Cycle Assessment. *PLoS ONE*, 7(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051145>
- Ooninx, D. G. A. B., van Broekhoven, S., van Huis, A., & van Loon, J. J. A. (2015). Feed conversion, survival and development, and composition of four insect species on diets composed of food by-products. *PLoS ONE*, 10(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144601>
- Ooninx, D. G. A. B., van Itterbeeck, J., Heetkamp, M. J. W., van den Brand, H., van Loon, J. J. A., & van Huis, A. (2010). An exploration on greenhouse gas and ammonia production by insect species suitable for animal or human consumption. *PLoS ONE*, 5(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014445>
- PARLAMENTO EUROPEO E IL CONSIGLIO DELL'UNIONE EUROPEA. (2008). "DIRETTIVA 2008/98/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO Del 19 Novembre 2008 Relativa Ai Rifiuti e Che Abroga Alcune Direttive" 9: 3– 30.
- PARLAMENTO EUROPEO E IL CONSIGLIO DELL'UNIONE EUROPEA. (2010). "Decreto Legislativo 3 Dicembre 2010, n. 205 (Correttivo Al T.U. Ambientale in Materia Di Rifiuti)." *Diritto Penale Contemporaneo*, 1–78.
- Reg. UE 893. (2017). *REGOLAMENTO (UE) 2017/ 893 DELLA COMMISSIONE - del 24 maggio 2017 - che modifica gli allegati I e IV del regolamento (CE) n. 999/ 2001 del Parlamento europeo e del Consigli*

- o e gli allegati X, XIV e XV del regolamento (UE) n. 142/ 2011 della Commissione per quanto riguarda le disposizioni in materia di proteine animali.
- Reg. UE 1017. (2017).  
*REGOLAMENTO (UE) 2017/ 1017 DELLA COMMISSIONE - del 15 giugno 2017 - che modifica il regolamento (UE) n. 68/ 2013 concernente il catalogo delle materie prime per mangimi.*
- Ricci, A., Allende, A., Bolton, D., Chemaly, M., Davies, R., Fernández Escámez, P. S., Gironés, R., Herman, L., Koutsoumanis, K., Lindqvist, R., Nørrung, B., Robertson, L., Ru, G., Sanaa, M., Skandamis, P., Snary, E., Speybroeck, N., Kuile, B. ter, Threlfall, J., ... Simmons, M. (2018). Updated quantitative risk assessment (QRA) of the BSE risk posed by processed animal protein (PAP). *EFSA Journal*, 16(7).  
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5314>
- Rouse, Jonathan., Rothenberger, Silke., & Zurbrügg, Christian. (2008). *Marketing Compost : a guide for compost producers in low and middle-income countries*. EAWAG, Eidgenössische Anstalt für Wasserversorgung, Abwasserreinigung und Gewässerschutz.
- Salomone, R., Saija, G., Mondello, G., Giannetto, A., Fasulo, S., & Savastano, D. (2017). Environmental impact of food waste bioconversion by insects: Application of Life Cycle Assessment to process using *Hermetia illucens*. *Journal of Cleaner Production*, 140, 890–905. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.06.154>
- Sealey, W. M., Gibson Gaylord, T., Barrows, F. T., Tomberlin, J. K., McGuire, M. A., Ross, C., & St-Hilaire, S. (2011). Sensory Analysis of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, Fed Enriched Black Soldier Fly Prepupae, *Hermetia illucens*. In *JOURNAL OF THE WORLD AQUACULTURE SOCIETY* (Vol. 42, Issue 1).
- Setti, L., Francia, E., Pulvirenti, A., Gigliano, S., Zaccardelli, M., Pane, C., Caradonia, F., Bortolini, S., Maistrello, L., & Ronga, D. (2019). Use of black soldier fly (*Hermetia illucens* (L.), Diptera: Stratiomyidae) larvae processing residue in peat-based growing media. *Waste Management*, 95, 278–288. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.06.017>
- Sheppard, D. C., Tomberlin, J. K., Joyce, J. A., Kiser, B. C., & Sumner, S. M. (2002a). Rearing methods for the black soldier fly (diptera: Stratiomyidae). *Journal of Medical Entomology*, 39(4), 695–698. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-39.4.695>
- Sheppard, D. C., Tomberlin, J. K., Joyce, J. A., Kiser, B. C., & Sumner, S. M. (2002b). Rearing Methods for the Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae). In *J. Med. Entomol* (Vol. 39, Issue 4). <https://academic.oup.com/jme/article/39/4/695/904029>
- S.M. Schaub and J.J. Leonard. (1996). *Cornposting: An.*

- Supriyatna, A., Manurung, R., Esyanti, R. R., & Putra, R. E. (2016). Growth of black soldier larvae fed on cassava peel wastes, An agriculture waste. ~ 161 ~ *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4(6), 161–165.
- Surendra, K. C., Olivier, R., Tomberlin, J. K., Jha, R., & Khanal, S. K. (2016). Bioconversion of organic wastes into biodiesel and animal feed via insect farming. *Renewable Energy*, 98, 197–202. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2016.03.022>
- Uknowledge, U., & Mceachern, T. (2018). *DETERMINING HEAT PRODUCTION OF BLACK SOLDIER FLY DETERMINING HEAT PRODUCTION OF BLACK SOLDIER FLY LARVAE, LARVAE, HERMETIA ILLUCENS, TO DESIGN REARING, TO DESIGN REARING STRUCTURES AT LIVESTOCK FACILITIES STRUCTURES AT LIVESTOCK FACILITIES*. <https://doi.org/10.13023/etd.2018.479>
- van Dyk, J. S., Gama, R., Morrison, D., Swart, S., & Pletschke, B. I. (2013). Food processing waste: Problems, current management and prospects for utilisation of the lignocellulose component through enzyme synergistic degradation. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 26, pp. 521–531). <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.06.016>
- van Huis, A. (2013). Potential of insects as food and feed in assuring food security. In *Annual Review of Entomology* (Vol. 58, pp. 563–583). <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153704>
- Yildirim-Aksoy, M., Eljack, R., Schrimsher, C., & Beck, B. H. (2020). Use of dietary frass from black soldier fly larvae, *Hermetia illucens*, in hybrid tilapia (Nile x Mozambique, *Oreochromis niloticus* x *O. mozambique*) diets improves growth and resistance to bacterial diseases. *Aquaculture Reports*, 17. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100373>
- Zheng, L., Li, Q., Zhang, J., & Yu, Z. (2012). Double the biodiesel yield: Rearing black soldier fly larvae, *Hermetia illucens*, on solid residual fraction of restaurant waste after grease extraction for biodiesel production. *Renewable Energy*, 41, 75–79. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2011.10.004>

## SITOGRAFIA

[www.fao.org](http://www.fao.org)

[www.eurostat.ue](http://www.eurostat.ue)

[1] [https://www.alsia.it/opencms/opencms/agrifoglio/agrifoglio\\_online/dettaglio/articolo/Scarti-agricoli-da-problema-a-risorsa-grazie-alla-bioconversione/](https://www.alsia.it/opencms/opencms/agrifoglio/agrifoglio_online/dettaglio/articolo/Scarti-agricoli-da-problema-a-risorsa-grazie-alla-bioconversione/)

[2] <http://blacksoldierflys.blogspot.com/2015/02/caratteristiche-biologiche-della-mosca.html>

[3] <https://singapore.biodiversity.online/taxo4254/mainSpace/Hermetia%20Illucens.html>

[4] [https://entnemdept.ufl.edu/creatures/livestock/black\\_soldier\\_fly.htm](https://entnemdept.ufl.edu/creatures/livestock/black_soldier_fly.htm)

[5] <https://www.larcadinoe.com/insetti/ditteri/brachycera-mosche/hermetia-illucens>