ISSN - 1692-3561 Versión impresa ISSN - 1909-9959 Versión electrónica

BIOTECNOLOGÍA EN EL SECTOR AGROPECUARIO Y AGROINDUSTRIAL

Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias · Universidad del Cauca

PUBLICACIÓN ANTICIPADA EN LÍNEA

El Comité Editorial de Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial informa que este manuscrito ha cumplido los requisitos editoriales y científicos y ha sido aprobado para publicación, con base en los conceptos emitidos por los pares evaluadores. Se publica anticipadamente, en versión pdf, de manera provisional, con base en la última versión electrónica del manuscrito y sin haber sido sometido a los procesos de edición, diagramación y corrección de estilo.

La versión anticipada de este manuscrito puede ser descargada, usada y citada, aclarando que la versión definitiva que se va a encontrar en la plataforma de la revista, puede diferir de ésta e aspectos de forma.

Harina de larva de Mosca soldado negra (*Hermetia Illucens*) fermentada con *Lactobacillus bulgaricus* como pienso probiótico*

Black soldier fly (*Hermetia Illucens*) larvae meal fermented with *Lactobacillus bulgaricus* as probiotic feed

MEDINA-HERRERA, PIERO-ALEXANDER[1]; HUACASI-BELLIDO, ANGGELI-SOLANSH[2]; ROLDÁN-APAZA, MARIA-JOSÉ[3]; MENDOZA-MAMANI, EDITH-EVELIN[4]; TEJADA-MEZA, KEVIN[5]

RESUMEN

---

[1]* Proyecto de investigación de origen: "Fermentación de mezclas de harina de larva de *Hermetia Illucens* (Mosca soldado negra) con probiótico *Lactobacillus bulgaricus* para la producción de piensos probióticos". Financiación: Universidad Católica de Santa María de Arequipa. Culminación: 29 de julio de 2024.

Universidad Católica de Santa María, Facultad de ciencias farmacéuticas, bioquímicas y biotecnológicas. Estudiante de Ingeniería biotecnológica. Arequipa. Perú. https://orcid.org/0009-0008-2405-2346

[2] Universidad Católica de Santa María, Facultad de ciencias farmacéuticas, bioquímicas y biotecnológicas. Bachiller de Ingeniería biotecnológica. Arequipa. Perú. https://orcid.org/0000-0002-7242-9805

[3] Universidad Católica de Santa María, Facultad de ciencias farmacéuticas, bioquímicas y biotecnológicas. Estudiante de Ingeniería biotecnológica. Arequipa. Perú. https://orcid.org/0009-0002-3218-1064

[4] Universidad Católica de Santa María, Facultad de medicina humana. Estudiante de Medicina Humana. Arequipa. Perú. https://orcid.org/0009-0008-9575-1021

[5] Universidad Católica de Santa María, Facultad de ciencias farmacéuticas, bioquímicas y biotecnológicas. Grupo de investigación MEMTECH. Magíster en Ingeniería biotecnológica. Arequipa. Perú. https://orcid.org/0000-0002-9716-7821

Correspondencia: piero.medina@ucsm.edu.pe

Cómo citar este artículo

MEDINA-HERRERA, PIERO ALEXANDER; HUACASI BELLIDO, ANGGELI SOLANSH; ROLDAN-APANZA, MARIA JOSÉ; MENDOZA-MAMIAN, EDITH EVELIN; TEJADA-MEZA, KEVIN. Harina de larva de Mosca soldado negra (Hermetia Illucens) fermentada con Lactobacillus bulgaricus como pienso probiótico. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, v. 24, n. 1, 2026, p. xx-xx. Doi:

Historial del artículo

Recibido para evaluación: 7 de marzo 2025

Aprobado para publicación: 9 de julio 2026

El uso exacerbado de antibióticos en ganado desarrolla patógenos súper resistentes, lo que exige la producción de piensos probióticos para el ganado y que a su vez sean sostenibles. Por ello, en el estudio el objetivo fue fermentar con el probiótico *Lactobacillus Bulgaricus* 5 mezclas de harina de larva de mosca soldado negra (HLMSN) y soya en diferentes proporciones a fin de determinar cuál permite mayor crecimiento de *Lactobacillus Bulgaricus* y representar una nueva alternativa de alimentación para una ganadería sustentable. Para lograr ello, se determinó la curva de crecimiento de *Lactobacillus Bulgaricus* en caldo MRS, en la fase exponencial de crecimiento este fue añadido a las 5 formulaciones de HLMSN y soya y finalmente se determinaron UFC producidas por cada formulación. Se obtuvo que la concentración de HLMSN posee un efecto estadísticamente significativo ($p<0,05$) sobre la concentración de *Lactobacillus Bulgaricus*, siendo que en el tratamiento de HLMSN pura se obtuvo el doble de UFC del probiótico que en el tratamiento de soya pura. Dichos resultados revelan que *Lactobacillus Bulgaricus* es capaz de metabolizar y producir mayor biomasa teniendo de sustrato HLMSN en vez de soya, de modo que esta formulación puede ser usada en estudios posteriores en pruebas antimicrobianas *in vitro* e *in vivo*.

PALABRAS CLAVE: Harina de larva de mosca soldado negra; HLMSN; Pienso probiótico; Harina de soya; Fermentación; Probiótico; Antimicrobiano; *Lactobacillus*; Ganadería sostenible; Economía circular.

ABSTRACT

The overuse of antibiotics in livestock is leading to the development of super-resistant pathogens, necessitating the production of probiotic feed for livestock that is also sustainable. Therefore, the study aims to ferment five mixtures of black soldier fly larvae meal (BSLM) and soy in different proportions with the probiotic Lactobacillus bulgaricus in order to determine which allows the greatest growth of Lactobacillus bulgaricus and represent a new feed alternative for sustainable livestock farming. To achieve this, the growth curve of Lactobacillus bulgaricus in MRS broth was determined. In the exponential growth phase, this broth was added to the five formulations of BSMLM and soy, and finally, the CFU produced by each formulation was determined. It was found that the concentration of HLMSN has a statistically significant effect ($p<0,05$) on the concentration of Lactobacillus bulgaricus, with twice as many CFU of the probiotic obtained in the pure HLMSN treatment than in the pure soy treatment. These results reveal that Lactobacillus bulgaricus is capable of metabolizing and producing greater biomass with HLMSN as a substrate instead of soy, so this formulation can be used in subsequent studies for in vitro and in vivo antimicrobial testing.

KEYWORDS: Black soldier fly larvae meal; BSFLM; Probiotic meal; Soy flour; Fermentation; Probiotic; Antimicrobial; *Lactobacillus*; Sustainable livestock farming; Circular economy.

INTRODUCCIÓN

La resistencia microbiana a los antibióticos es uno de los principales problemas del siglo XXI, el incremento de patógenos súper resistentes es un problema a nivel mundial que se debe principalmente al uso exacerbado e inadecuado de antibióticos (Bhardwaj *et al.,* 2022; Akram *et al.,* 2023) que provoca que determinados patógenos desarrollen vías de resistencia a los fármacos cuya eficiencia va decayendo *(*Akram *et al.*, 2023)**.** Los antibióticos han sido usados ampliamente tanto por personas como animales, siendo el uso en este segundo grupo tanto para promover su crecimiento como para combatir una infección bacteriana (Jian *et al*., 2021). Así, los patógenos a través del desarrollo de genes de resistencia antimicrobiana (en inglés; ARG) que

permanecen en el ambiente incluso después de muerto el microorganismo y utilizando mecanismos moleculares de sobrevivencia a través de reproducción horizontal o vertical provocan la actual crisis sanitaria (Ajayi *et al.,* 2024)**.** Estudios en Perú evidenciaron dicho incremento de patógenos súper resistentes en animales (Cabrera *et al*., 2023), y al presentarse patógenos súper resistentes en la microbiota del ganado también se espera su presencia en los alimentos que producen (Hassani *et al*., 2022; Negi and Sharma, 2024), como posteriormente mostraron análisis microbiológicos de los quesos producidos en la localidad de Canta, Lima, Perú (Reyes *et al.*, 2023). Lo tratado anteriormente muestra la relación de los antibióticos en el ganado y sus efectos adversos que en indirectamente incrementan casos de morbilidad, mortalidad, duración de enfermedades, el desarrollo de comorbilidades y epidemias en los humanos (Bava *et al.*, 2024). Respecto a la carne que proporcionan los animales, su producción, en la actualidad, se ha visto insostenible afectando el ambiente (Kumar *et al*., 2022), lo que evoca el interés en la búsqueda de fuentes alimenticias alternativas (Xiong, 2023; Caputo *et al*., 2024). Una alternativa para superar los problemas mencionados es el uso de piensos basados en insectos para la alimentación de ganado (Sogari *et al*., 2019; Sogari *et al*., 2023), los insectos poseen pequeña huella ecológica, tasas elevadas de crecimiento, reproducción en condiciones sencillas y capacidad de convertir variedad de desechos orgánicos en productos de alto valor y altamente nutritivos (generando economía circular) (Elahi *et al*., 2022), presentan beneficios para la nutrición de animales de ganado y tienen un perfil nutricional altamente proteico, lipídico, de aminoácidos y minerales (Fu *et al*., 2024) que, dependiendo de las condiciones de crianza, pueden verse incrementados, por ejemplo, en el caso de la mosca soldado negra (*Hermetia illucens*) pueden hallarse entre 35 y 60 %, seguido de lípidos con un contenido de 25 a 50 %, minerales y todos los aminoácidos esenciales (Smets *et al*., 2020; Lu *et al*., 2022).

Además del aporte nutricional, la administración de alimentos enriquecidos con insectos es beneficiosa para la salud animal, puesto que componentes presentes en el insecto como la quitina muestran estimular el sistema inmunológico y presentan actividad antimicrobiana (Manniello *et al*., 2021; Rahman *et al*., 2023), además que pueden ser fermentados probióticamente para incrementar más el beneficio antimicrobiano contra patógenos intestinales como *Salmonella, Klebsiella* y *Escherichia coli* (Islam and Yang, 2017). Dichos estudios que evaluaron actividad antimicrobiana evidencian que debe hacerse énfasis en realizar pruebas antimicrobianas con fermentados de alimentos basados en insectos por probióticos como *Lactobacillus sp.* (Song *et al*., 2015; Sarica *et al.*, 2024). Ante lo expuesto anteriormente, es probable que la harina de larva de mosca soldado negra (HLMSN) pueda ser un buen sustrato para el crecimiento del probiótico. Con el escenario y los argumentos planteados, en este estudio se determinó la capacidad de *Lactobacillus Bulgaricus*, un estudiado probiótico gastrointestinal, para usar harina de larva de mosca soldado negra (HLMSN) como sustrato adecuado en comparación con formulaciones de diferentes concentraciones de soya, siendo la soya un pienso de uso extendido en el mundo cuyo cultivo masificado dejó de ser sostenible (Pendrill *et al.,* 2022). Para lograr tal objetivo se investigó la cinética microbiana de *Lactobacillus Bulgaricus* en caldo MRS (De Man, Rogosa y Sharpe), planteando 5 formulaciones diferentes en su proporción de HLMSN y harina de soya, se inocularon cada una de estas, tras dejarlas incubar se extrajo una alícuota para ser diluida y sembrada en placas de agar MRS, se contaron las unidades formadoras de colonias (UFC) generadas por cada mezcla y finalmente se realizó un análisis estadístico de diseño completamente al azar (DCA) para determinar si existía un efecto significativo por la concentración de HLMSN en las UFC/g.

MÉTODO

Localización geográfica

Cada uno de los métodos descritos a continuación fueron realizados durante los meses de enero a junio de 2024 en los laboratorios de uso multidisciplinario de investigación de la Universidad Católica de Santa María (Arequipa, Arequipa, Perú) a 2.335 msnm con temperatura media de 22 °C.

Adquisición de la harina de larva de mosca soldado negra (HLMSN) y harina de soya

La harina de larva de mosca soldado negra (HLMSN) fue adquirida de KAWAT S.A.C., Rioja, Nueva Cajamarca, Perú, y la harina de soya se obtuvo de un distribuidor local de Arequipa, Arequipa, Perú.

Obtención de *Lactobacillus Bulgaricus* y conservación

La cepa fue proporcionada por el laboratorio de microbiología de la Universidad Católica de Santa María, Arequipa, Arequipa, Perú. El cultivo madre de *Lactobacillus Bulgaricus*, una bacteria ácido láctica (BAL) ampliamente estudiada, se preparó en placas de medio MRS del distribuidor HiMedia, las cuales fueron incubadas a 37 ºC durante 24 horas, para posteriormente refrigerarlas a 4 °C.

Determinación de curva de crecimiento por espectrofotometría Visible

Se comenzó inoculando 5 mL de caldo MRS de marca HiMedia a fin de alcanzar la máxima cantidad de biomasa en el inóculo y así poder ser utilizado el día siguiente en la realización de la curva de crecimiento, luego fue incubado durante la noche a 33 °C. Al día siguiente, se prepararon 100 mL de caldo MRS de HiMedia para la obtención de la curva de crecimiento, previo a la inoculación se determinó la solución blanco, para ello se extrajeron 5 mL del caldo y se midió su absorbancia por espectrofotometría en rango visible a 480 nm. Posteriormente, al caldo MRS se añadieron los 5 mL del inóculo incubado toda la noche, se procedió a agitar vigorosamente y se incubó a 37 °C.

Durante las 20 horas que duró la incubación, se extrajo, cada dos horas, una alícuota de 5 mL para medir su absorbancia y así formar la curva de crecimiento, estos 5 mL se utilizaron también para la determinación de células vivas, según el conteo por cámara de Neubauer mejorado, tal como se detalla a continuación.

Conteo de células vivas por método de Neubauer mejorado

A la par que se realizaban las mediciones de biomasa por absorbancia, se guardaron los 5 mL extraídos del caldo general para ser refrigerados a 4 °C para contar, posteriormente, las células vivas según el método de Neubauer mejorado (Zhang *et al*., 2020): se le denomina método mejorado de conteo debido a que demuestra resultados más cercanos a los obtenidos por instrumentos tecnológicos especializados en conteo.

Al igual que por el método convencional, las células muertas se tiñen de azul mientras que las vivas permanecen relativamente transparentes, sin embargo, en el método optimizado se cuentan todas las células de los cuatro bordes y no solo del borde superior y del borde izquierdo, y luego al conteo de todos los bordes se le ha de dividir entre dos, y el resto de los cálculos son los que dependen del factor de dilución realizado.

Preparación de las formulaciones de HLMSN y harina de soya para la fermentación

Una vez conocido el momento en el cual hay mayor crecimiento del *Lactobacillus Bulgaricus* en el caldo MRS bajo las condiciones indicadas, se prepararon 5 mezclas para fermentar y comparar conforme a lo establecido en el cuadro 1; cada mezcla tuvo un total de 28 g, 10 g de los cuales corresponden a los del caldo MRS añadido y el resto a la fracción sólida. Tras pesar ambas harinas, homogeneizar y añadir el caldo MRS en estado de crecimiento exponencial, se dejó fermentar cada sistema por 48 horas en un sistema cerrado a 33 °C.

Cuadro 1. Composición las formulaciones de HLMSN y harina de soya

Prueba	% de Harina de soya	% de HLMSN
1	0	100
2	25	75
3	50	50
4	75	25
5	100	0

Diluciones seriales y siembra en placa para el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC)

Pasadas las 48 horas, se abrieron los fermentadores cerrados y se prepararon tubos falcon para hacer diluciones (1/10, 1/100, 1/1000 y 1/10000) con solución salina al 1 % usando el método convencional y, a partir de cada una de las diluciones, se sembró en placas con medio MRS por triplicado; las placas fueron incubadas a 33 °C durante 24 horas para posteriormente contar las colonias definidas.

Diseño experimental

Para determinar una diferencia significativa en la cantidad de UFC, se siguió un diseño completamente al azar (DCA) con el modelo matemático ANOVA de un solo factor en el software Excel 2016 en el sistema operativo Windows 12.

Para determinar una diferencia significativa con el DCA en al menos uno de los tratamientos, se aplicó la prueba de rango múltiple Fisher LSD (Diferencia mínima significativa) con un nivel de confianza del 95 % para hallar el fuente o fuentes estadísticas de la diferencia de medias paramétricas.

RESULTADOS

Curva de crecimiento de *L. Bulgaricus* en caldo MRS

Se cultivó en sistema cerrado *L. Bulgaricus* en caldo MRS (de Man, Rogosa y Sharpe) del distribuidor HiMedia, cuyo crecimiento de biomasa corresponde al consumo de sustrato dentro del quimiostato.

La curva muestra el incremento de biomasa y turbidez a través de las 20 horas programadas, dándose cerca a las 6 horas el comienzo de la fase exponencial y de las 18 horas la fase estacionaria. El crecimiento máximo se da a las 12 horas como presenta la figura 1, de modo que dicho tiempo fue seleccionado para realizar la inoculación de las mezclas de HLMSN y soya para su posterior fermentación.

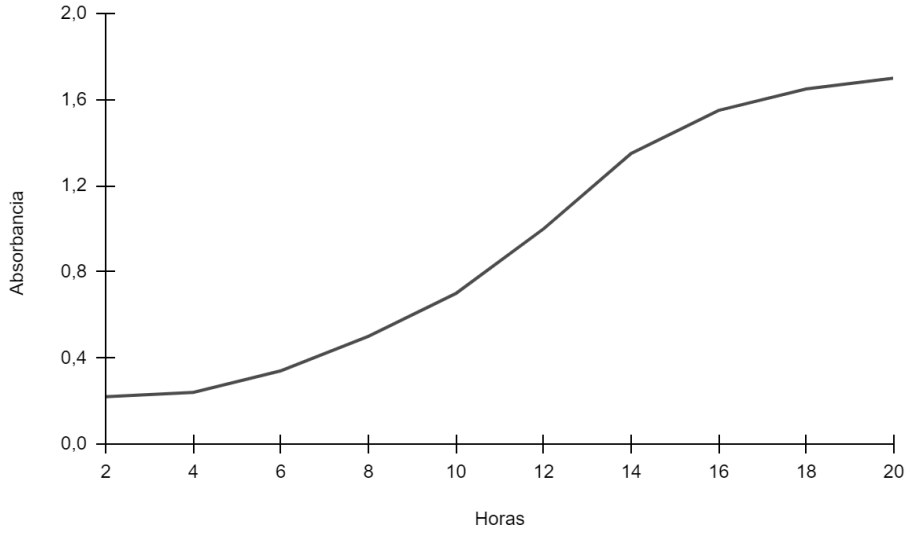

Figura 1. Curva de crecimiento de *Lactobacillus Bulgaricus* en medio MRS, durante 20 horas de incubación a 37 °C en función a medición espectrofotométrica

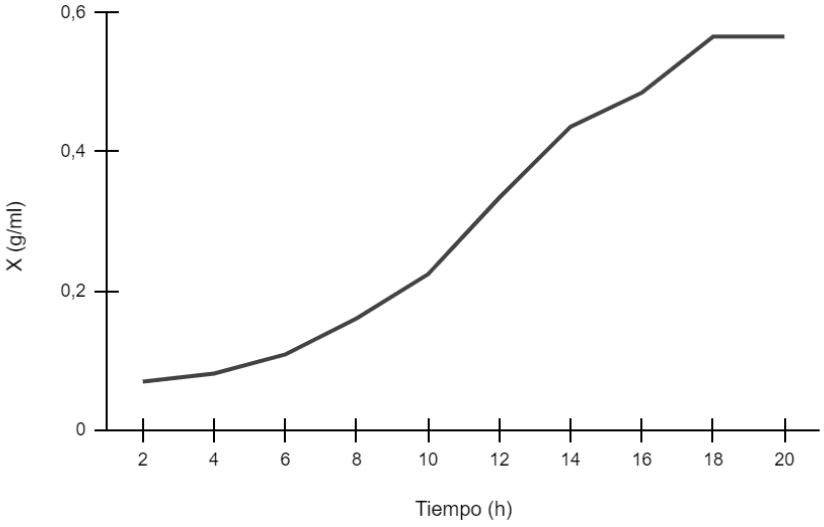

Figura 2. Aumento de biomasa

Conteo por cámara de Neubauer

Se contaron las células vivas según el método optimizado de cámara de Neubauer (Zhang *et al*., 2020). De este modo la dilución 1:10000 dió la figura 4 como resultado de las células vivas por cada 0,1 µl. Conforme a estos resultados se puede calcular que por cada mililitro inoculado se alcanzó la cantidad de $4{,}2 \times 10^8$ células de *Lactobacillus Bulgaricus* al llegar a la fase estacionaria, lo que mantiene coherencia con otros resultados producidos por otros estudios de crecimiento de *Lactobacillus spp.* en condiciones óptimas (Silva *et al*., 2018).

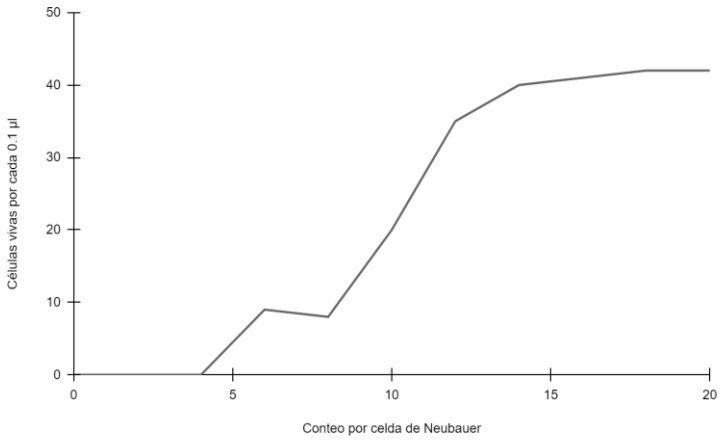

Figura 4. Células vivas por cada 0.1 µl de la dilución 1:10000

UFC del conteo en placa de las diluciones seriales

En la figura 5 se puede apreciar una comparación entre las UFC promedio de los triplicados de cada formulación y la superioridad de la formulación 1 (HLMSN pura) sobre la 5 (Harina de soya pura).

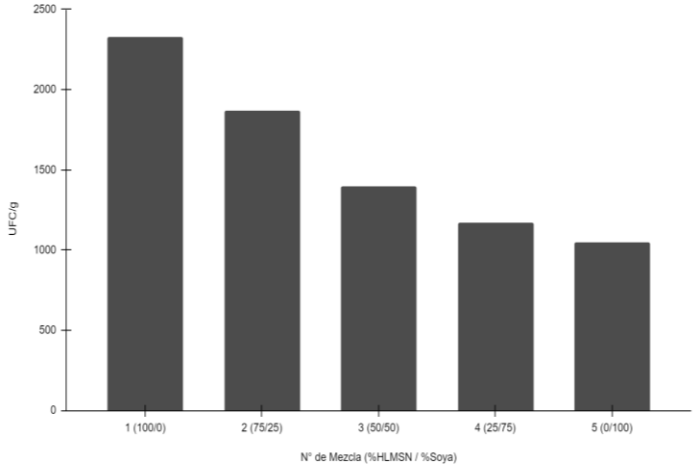

Figura 5. Media aritmética de las UFC/g de cada mezcla hecha

Cómo se puede apreciar en la figura 5, hay notablemente mayor cantidad de UFC en las formulaciones que tenían una mayor proporción de HLMSN frente a la harina de soya.

Diseño experimental

La matriz experimental se observa en el cuadro 2, y la tabla ANOVA en el cuadro 3, arrojando un valor F estadístico de 130,14, un valor F crítico de 3,48 y el valor p de 1,40 x 10^{-8}, lo que claramente evidencia una diferencia significativa en al menos uno de los tratamientos, motivo por el que se procedió con la prueba de contraste múltiple Fisher-LSD.

Cuadro 2. UFC/g en cada cultivo por cada mezcla hecha

	Mezclas				
UFC/g en cada placa de MRS cultivada	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**
	2262	1789	1340	1266	1156
	2270	1854	1375	1200	1100
	2234	1633	1460	1199	1242

Cuadro 3. UFC/g en cada cultivo por cada mezcla hecha

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2462968,67	4	615742,17	130,14	1,40E-08	3,48
Dentro de los grupos	47312,67	10	4731,27			
Total	2510281,33	14				

La prueba Fisher-LSD arrojó un valor LSD de 125,14 y se lo comparó con cada una de las diferencias de los valores absolutos de las medias de cada grupo, dando un total de 10 contrastes que, de ser mayores que el valor LSD, evidenciaron diferencia estadísticamente. Tras la comparación se concluyó que cada uno de los tratamientos es diferente del resto a excepción de los tratamientos 4 y 5, por lo que se puede afirmar que a concentraciones de HLMSN superiores o iguales al 50 % se puede evidenciar mayor producción de *Lactobacillus bulgaricus*, mientras que concentraciones iguales o menores al 25 % no afectan significativamente la concentración máxima de este probiótico.

Las bacterias ácido-lácticas (BAL) son probióticos que contribuyen al aporte nutricional de un alimento y la inhibición del crecimiento de patógenos en estos por la producción de antimicrobianos, beneficiando la salud gastrointestinal de humanos y animales (Ansari *et al*., 2023). Las BAL como el resto de los probióticos pueden ser usados en sinergia con alimentos basados en insectos para alimentar animales terrestres o acuáticos para consumo humano (Anany *et al*., 2023) y de este modo adquirir propiedades inmunoestimulantes beneficiosas para su salud (Hasan, *et al.,* en 2023).

Los estudios con harina de larva de mosca soldado negra con probióticos han sido estudiados anteriormente, por ejemplo, Phaengphairee, P. *et al*. (2023) analizaron el efecto de este sustrato con multi-probióticos (*Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* y *Saccharomyces cerevisiae*), obteniendo como resultados que la dieta compuesta de insectos y multi-probióticos incrementó la digestibilidad de nutrientes, los niveles de inmunoglobulina A y de glutatión peroxidasa, mientras redujo los niveles de citoquinas proinflamatorias en cerdos.

Durante el tiempo de fermentación no se observó el crecimiento de otros microorganismos más que la BAL, mostrando total dominio del género *Lactobacillus spp.* en la HLMSN fermentada, atal como enceontraron Meng *et al.* (2023) con el cual empleo del mismo tipo de sustrato y otra cepa del género *Lactobacillus spp.*; este dominio es atribuible al ácido láctico y el consecuente descenso de pH a 3,99 - 6,60 que vuelve inviable el crecimiento de otras bacterias, extendiendo así el tiempo de vida del producto e incluso mejorando el sabor, de hecho, en este estudio, el pH alcanzado al final de la fermentación en el tratamiento 1 fue de 5,20, lo que contrasta con el pH de 6,20 del tratamiento 5, lo que tiene sentido considerando que a mayor concentración de HLMSN hubo mayor concentración de *Lactobacillus Bulgaricus*.

Pese a que se logró una concentración considerable del probiótico en el tratamiento 1 de este estudio, la viabilidad de *Lactobacillus bulgaricus* se redujo de aproximadamente 8 Log UFC/g en el inóculo inicial a 3,35 Log UFC/g de de fermentado de HLMSN tras las 48 h dadas, lo que representa una disminución aproximada de 4,65 Log CFU/g (equivalente a una pérdida de ~ 99,998 % de las células viables). Este resultado tiene consistencia con reportes previos que evidencian que algunos sustratos de la mosca soldado negra, particularmente en estado de prepupa o harina desgrasada, pueden desfavorecer el crecimiento de ciertas cepas de *Lactobacillus*, e incluso inducir su inhibición (Meng *et al*., 2023). Entre los factores que podrían explicar esta reducción se encuentran la presencia de compuestos antimicrobianos naturales en la harina (ej., péptidos derivados de quitina), la baja disponibilidad de carbohidratos fermentables, y posibles efectos de pH, actividad de agua, compuestos lipídicos residuales o incluso que no se le dió tiempo suficiente de fermentación, motivo por el cual se sugiere para próximos estudios considerar diseños experimentales de optimización considerando factores como la cepa de Lactobacillus, actividad de agua y el estado exacto de la larva de mosca soldado negra que será fermentada.

Consecuentemente con estos resultados e impactos de la literatura actual, el poder generar un pienso con una gran concentración de *Lactobacillus Bulgaricus* como el que se logró el presente estudio, se traduce en oportunidades de innovación en la deseada ganadería sustentable (Chisoro *et al*., 2023; Corentin Biteau *et al.,* 2024), motivo por el cual, pese a que aún no se realizan pruebas *in vitro* o *in vivo* para afirmar que se va a regular positivamente la salud en general, se tienen fundamentos que conforman una base de que lo harán cuando se realicen tales pruebas. De hecho, el sustrato usado en sí mismo fue demostrado por Reátegui *et al*. en 2020 que es una fuente nutritiva digerible por el cuy (*Cavia porcellus*) para su desarrollo óptimo, por lo que otros estudios reafirman de que hay potencial de aplicación biotecnológico en el escenario ganadero propuesto.

CONCLUSIONES

El estudio demostró que la fermentación dada por *Lactobacillus Bulgaricus* que emplea como sustrato harina de larva de mosca soldado negra pura tiene una mayor concentración de dicho probiótico estadísticamente significativa ($p<0,05$) en comparación con el resto de mezclas hechas en proporciones diferentes con harina de soya, siendo que hay evidencia para afirmar que con concentraciones iguales o inferiores al 25 % p/p de HLMSN ya no hay incremento significativo. Por otro lado, pese a que el tratamiento de HLMSN puro tuvo mayor concentración de biomasa se dió una disminución aproximada de 4,65 Log UFC/g (equivalente a una pérdida de ~ 99,998 % de las células viables) del inóculo de caldo MRS al fermentado obtenido, lo que exige optimizar dicho proceso previo a poder ser escalado, sin embargo hemos podido brindar evidencia de que *Lactobacillus Bulgaricus* puede no ser una BAL adecuada para la HLMSN o que el estado larval es crítico a tener en cuenta en las fermentaciones probióticas de este pienso, no obstante la contribución brindada espera poder ser utilizada para próximos estudios para la producción de piensos probióticos y el desarrollo de un futuro con ganadería sostenible.

AGRADECIMIENTOS

La Universidad Católica de Santa María de Arequipa, Perú, permitió y financió la realización de este trabajo. A su vez, agradecimientos especiales a Percy Alfredo Barbachán Medina de la institución educativa San Juan Bautista de La Salle, Arequipa, Perú, por su ejemplo impreso en uno de sus estudiantes.

REFERENCIAS

AJAYI, AYODELE-OLUWASEUN; ODEYEMI, ADEBOWALE-TOBA; AKINJOGUNLA, OLAJIDE-JOSEPH; ADEYEYE, AKINWOLE-BABAFENWA; AYO-AJAYI, IBIWUMI. Review of Antibiotic-Resistant Bacteria and Antibiotic Resistance Genes within the One Health Framework. Infection Ecology & Epidemiology, v. 14, n. 1, 2024. https://doi.org/10.1080/20008686.2024.2312953

AKRAM, FATIMA; IMTIAZ, MEMOONA; HAQ, IKRAM-UL. Emergent crisis of antibiotic resistance: A silent pandemic threat to 21st century. Microbial Pathogenesis, v. 174, 2023. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105923

ANANY, E.M.; IBRAHIM, M.A.; EL-RAZEK, I.M.A.; EL-NABAWY, E.M.; AMER, A.A.; ZAINELDIN, A.I.; GEWAILY, M.S.; DAWOOD, M.A.O. Combined Effects of Yellow Mealworm (*Tenebrio molitor*) and Saccharomyces cerevisiae on the Growth Performance, Feed Utilization Intestinal Health, and Blood Biomarkers of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fed Fish Meal-Free Diets. Probiotics and antimicrobial proteins, 2023. https://doi.org/10.1007/s12602-023-10199-8

ANSARI, F.; BAHADORI, A.; SAMAKKHAH, S.A.; PIROUZIAN, H. R.; POURJAFAR, H. Probiotic Lactic Acid Bacteria. Handbook of Food Bioactive Ingredients, 2023, p. 1473-1503. https://doi.org/10.1007/978-3-031-28109-9_41

BAVA, ROBERTO; CASTAGNA, FABIO; LUPIA, CARMINE; POERIO, GIUSI; LIGUORI, GIOVANNA; LOMBARDI, RENATO; NATURALE, MARIA-DIANA; MERCURI, CATERINA; BULOTTA, ROSA-MARÍA; BRITTI, DOMENICO; PALMA, ERNESTO. Antimicrobial Resistance in Livestock: A Serious Threat to Public Health. Antibiotics, v. 13, n. 6, 2024, p. 551. https://doi.org/10.3390/antibiotics13060551

BHARDWAJ, S.; MEHRA, P.; DHANJAL, D. S.; SHARMA, P.; SHARMA, V.; SINGH, R.; NEPOVIMOVA, E.; CHOPRA, C.; KUČA, K. Antibiotics and Antibiotic Resistance-Flipsides of the Same Coin. Current pharmaceutical design, v. 28, n. 28, 2022, p. 2312–2329. https://doi.org/10.2174/1381612828666220608120238

CABRERA-GONZÁLEZ, M.A.; VÁSQUEZ-PÉREZ, H.V.; QUILCATE-PAIRAZAMÁN, C.; BAZÁN-ARCE, J.; CUEVA-RODRÍGUEZ, M. Assessment of antibiotic resistance in fecal samples from calves with diarrhea in the Cajamarca region, Perú. Revista mexicana de ciencias pecuarias, v. 14, n. 4, 2023, p. 782-795.

CHISORO, P.; JAJA, I.F.; ASSAN, N. Incorporation of local novel feed resources in livestock feed for sustainable food security and circular economy in Africa. Frontiers in Sustainability, v. 4, 2023. https://doi.org/10.3389/frsus.2023.1251179

CORENTIN, BITEAU; TOM, BRY-CHEVALIER; DUSTIN, CRUMMETT; REN, RYBA; MICHAEL, ST. JULES. Insect-based livestock feeds are unlikely to become economically viable in the near future. Food and Humanity, v. 3, 2024. https://doi.org/10.1016/j.foohum.2024.100383

ELAHI, U.; XU, C.C.; WANG, J.; LIN, J.; WU, S.G.; ZHANG, H.J.; QI, G.H. Insect meal as a feed ingredient for poultry. Animal bioscience, v. 35, n. 2, 2022, p. 332–346. https://doi.org/10.5713/ab.21.0435

FU, C.; CHEEMA, W.A.; MOBASHAR, M.; SHAH, A.A.; ALQAHTANI, M.M. Insects as Sustainable Feed: Enhancing Animal Nutrition and Reducing Livestock Environmental Impression. Journal of animal physiology and animal nutrition, 2024. https://doi.org/10.1111/jpn.14055

HASAN, I.; RIMOLDI, S.; SAROGLIA, G.; TEROVA, G. Sustainable Fish Feeds with Insects and Probiotics Positively Affect Freshwater and Marine Fish Gut Microbiota. Animals, v. 13, n. 10, 2023, p. 1633. https://doi.org/10.3390/ani13101633

HASSANI, S.; MOOSAVY, M.H.; GHARAJALAR, S.N.; KHATIBI, S.A.; HAJIBEMANI, A.; BARABADI, Z. High prevalence of antibiotic resistance in pathogenic foodborne bacteria isolated from bovine milk. Scientific reports, v. 12, n. 1, 2022, p. 3878. https://doi.org/10.1038/s41598-022-07845-6

JIAN, Z.; ZENG, L.; XU, T.; SUN, S.; YAN, S.; YANG, L.; HUANG, Y.; JIA, J.; DOU, T. Antibiotic resistance genes in bacteria: Occurrence, spread, and control. Journal of basic microbiology, v. 61, n. 12, 2021, p. 1049–1070. https://doi.org/10.1002/jobm.202100201

KUMAR, P.; ABUBAKAR, A.A.; VERMA, A.K.; UMARAW, P.; ADEWALE-AHMED, M.; MEHTA, N.; SAZILI, A. Q. New insights in improving sustainability in meat production: opportunities and challenges. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 63, n. 33, 2022, p. 11830–11858. https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2096562

LEYING MENG, LIANGXIAO MA, JIAHUI XU, KEMING RONG, NAN PENG, SHUMIAO ZHAO. Effect of enzyme-assisted fermentation on quality, safety, and microbial community of black soldier fly larvae (Hermetia illucens L.) as a novel protein source. Food Research International, v. 174, n. 1, 2023. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113624

LU, S.; TAETHAISONG, N.; MEETHIP, W.; SURAKHUNTHOD, J.; SINPRU, B.; SROICHAK, T.; ARCHA, P.; THONGPEA, S.; PAENGKOUM, S.; PURBA, R.A.P.; PAENGKOUM, P. Nutritional Composition of Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens* L.) and Its Potential Uses as Alternative Protein Sources in Animal Diets: A Review. Insects, v. 13, n. 9, 2022, p. 831. https://doi.org/10.3390/insects13090831

MANNIELLO, M.D.; MORETTA, A.; SALVIA, R. Insect antimicrobial peptides: potential weapons to counteract the antibiotic resistance. Cellular and molecular life sciences, v. 78, 2021, p. 4259–4282. https://doi.org/10.1007/s00018-021-03784-z

ISLAM, MANIRUL; CHUL-JU, YANG. Efficacy of mealworm and super mealworm larvae probiotics as an alternative to antibiotics challenged orally with Salmonella and E. coli infection in broiler chicks. Poultry Science, v. 96, n. 1, 2017, p. 27-34. https://doi.org/10.3382/ps/pew220

NEGI, S.; SHARMA, S. Ready to Eat Food: A Reason for Enhancement in Multidrug Resistance in Humans. Advanced pharmaceutical bulletin, v. 14, n. 3, 2024, p. 504–512. https://doi.org/10.34172/apb.2024.023

PENDRILL, F.; GARDNER, T.A.; MEYFROIDT, P.; PERSSON, U.M.; ADAMS, J.; AZEVEDO, T.; WEST, C. Disentangling the numbers behind agriculture-driven tropical deforestation. Science, v. 377, n. 6611, 2022. https://doi.org/10.1126/science.abm9267

PHAENGPHAIREE, P.; BOONTIAM, W.; WEALLEANS. Dietary supplementation with full-fat Hermetia illucens larvae and multi-probiotics, as a substitute for antibiotics, improves the growth performance, gut health, and antioxidative capacity of weaned pigs. BMC Veterinary Research, v. 19, n. 7, 2023. https://doi.org/10.1186/s12917-022-03550-8

RAHMAN, M.M.; BYANJU, B.; LAMSAL, B.P. Protein, lipid, and chitin fractions from insects: Method of extraction, functional properties, and potential applications. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 64, n. 18, 2023, p. 6415–6431. https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2168620

REÁTEGUI, J.; BARRIGA, X.; OBANDO, A.; MOSCOSO, G.; MANRIQUE, P.; SALAZAR, I. Harina de larva de *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) como ingrediente proteico de reemplazo parcial de harina de soja en la alimentación de *Cavia porcellus* (Cuy): efecto

en el consumo, ganancia de peso y conversión alimenticia. Scientia Agropecuaria, v. 11, n. 4, 2020, p. 513-519.

REYES-ARQUINIGO, MILAGROS-MELISSA. Determinación de la resistencia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* meticilina resistente aislado de quesos frescos de la localidad de Canta, Lima-Perú [Tesis Biología]. Lima (Perú): Universidad Ricardo Palma, Facultad de Ciencias Biológicas, 2023.

SARICA, Ş.; YAVUZ, M.; SANLI, E.; KATI, A.; ALTUNTAS, S.; ALATAS, M.; EKICI, M.; YAZAREL, S.; KESKINTAS, A. Effects of dietary fermented mealworm larvae and stocking density on performance, blood stress indicator and intestine parameters of broilers. Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society, v. 75, n. 3, 2024, p. 7887–7902. https://doi.org/10.12681/jhvms.35709

SILVA, ANA-PAULA; LONGHI, DANIEL-ANGELO; DALCANTON, FRANCIELI; FALCÃO-DE-ARAGÃO, GLÁUCIA-MARIA. Modelling the growth of lactic acid bacteria at different temperatures. Brazilian archives of biology and technology, v. 61, 2018, e18160159.

SMETS, R.; VERBINNEN, B.; VAN-DE-VOORDE, I.; AERTS, G.; CLAES, J.; VAN-DER-BORGHT, M. Sequential extraction and characterisation of lipids, proteins, and chitin from black soldier fly (Hermetia illucens) larvae, prepupae, and pupae. Waste and Biomass Valorization, v. 11, 2020, p. 6455-6466.

SOGARI, G.; AMATO, M.; BIASATO, I.; CHIESA, S.; GASCO, L. The Potential Role of Insects as Feed: A Multi-Perspective Review. Animals, v. 9, n. 4, 2019, p. 119. https://doi.org/10.3390/ani9040119

SOGARI, G.; AMATO, M.; PALMIERI, R.; HADJ-SAADOUN, J.; FORMICI, G.; VERNEAU, F.; MANCINI, S. The future is crawling: Evaluating the potential of insects for food and feed security. Current research in food science, 6, 2023, 100504. https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100504

SONG, M.; YUN, B.; MOON, J.H.; PARK, D.J.; LIM, K.; OH, S. Characterization of Selected Lactobacillus Strains for Use as Probiotics. Korean journal for food science of animal resources, v. 35, n. 4, 2015, p. 551–556. https://doi.org/10.5851/kosfa.2015.35.4.551

CAPUTO, VINCENZINA; SUN, JIAYU; STAPLES, AARON; TAYLOR, HANNAH. Market outlook for meat alternatives: Challenges, opportunities, and new developments, Trends in Food Science & Technology, v. 148, 2024. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104474

XIONG, Y. L. Meat and meat alternatives: where is the gap in scientific knowledge and technology?. Italian Journal of Animal Science, v. 22, n. 1, 2023, p. 482–496. https://doi.org/10.1080/1828051X.2023.2211988

ZHANG, M.; GU, L.; ZHENG, P.; CHEN, Z.; DOU, X.; QIN, Q.; CAI, X. Improvement of cell counting method for Neubauer counting chamber. Journal of clinical laboratory analysis, v. 34, n. 1, 2020. https://doi.org/10.1002/jcla.23024