

鸡粪对黑水虻幼虫生长及脂肪酸和蛋白质等营养成分积累影响*

潘峰^{1,2**} 彭松崑¹ 喻昌燕^{1,2} 朱欣婷² 李三华^{1,2} 刘云^{1,2***}

(1. 遵义医科大学生命科学研究院, 遵义 563000; 2. 遵义医科大学基础医学院, 遵义 563000)

摘要 【目的】明确饲料中添加鸡粪对黑水虻 *Hermetia illucens* 幼虫生长的影响, 确定最适添加比例。【方法】通过添加不同比例的鸡粪至豆粕饲养黑水虻幼虫, 通过称量体重及干物质变化评估其生长状况; 使用石油醚和蒸馏水结合超声波法分别提取幼虫脂肪酸和水溶性成分, 并采用二喹啉甲酸法和苯酚-硫酸法分别测定水提物中的水溶性蛋白和糖类含量, 评价主营养成分积累; 运用 GC-MS 和 HPGPC-ELSD 技术分别分析脂肪酸化学组成和水溶性大分子化合物分子量分布, 以判断鸡粪添加对幼虫生长的影响。【结果】黑水虻幼虫生长测定显示, 饲料中鸡粪比例超 30% 时, 体重增长显著减少; 超过 50% 时, 折干率显著下降 ($P < 0.05$)。营养成分积累分析揭示, 鸡粪比例 $\leq 30\%$ 时, 幼虫脂肪酸含量显著升高, 但比例增加后, 含量下降, 而可溶性蛋白质和糖类成分含量稳定 ($P < 0.05$), 说明适量鸡粪促进脂肪酸积累。GC-MS 分析未发现油脂化学成分显著变化, 主要成分为月桂酸、油酸和棕榈酸, 且均为共有成分。HPGPC-ELSD 结果显示, 鸡粪 $\leq 30\%$ 时, 色谱图上, 在保留时间 16.5 和 20 min 处均有明显的色谱峰, 40% 和 50% 时第一个主峰出现峰裂, 比例达到 80% 时, 第二个主峰消失, 表明高比例鸡粪可能导致大分子断裂或抑制低分子聚合或产生。【结论】黑水虻幼虫的生长和营养积累受鸡粪豆粕配比影响, 过高的鸡粪比例对幼虫生长不利, 而鸡粪含量不超过 30% 时, 对幼虫生长和营养积累的影响不显著。因此, 综合考虑鸡粪利用率的前提下, 30% 鸡粪添加比例最适宜黑水虻幼虫饲养。

关键词 黑水虻; 鸡粪; 饲料; 营养成分; GC-MS; HPGPC-ELSD

Effects of chicken manure on *Hermetia illucens* larvae and accumulation of fatty acids, proteins and other nutrients

PAN Feng^{1,2**} PENG Song-Yin¹ YU Chang-Yan^{1,2}
ZHU Xin-Ting² LI San-Hua^{1,2} LIU Yun^{1,2***}

(1. Life Sciences Institute, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China;

2. School of Basic Medical Science, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China)

Abstract 【Aim】To evaluate the effect of chicken manure supplementation on the growth of *Hermetia illucens* larvae (HiL), and determine the optimal proportion of chicken manure (PCM) to add to feed. 【Methods】Different ratios of chicken manure were added to soybean meal and fed to HiL. The growth status of HiL was evaluated by measuring changes in larvae weight and dry matter. Fatty acids and water-soluble components were extracted from larvae using petroleum ether and distilled water, respectively, combined with ultrasonic technology. To investigate the accumulation of key nutrients in the larvae extract, the bicinchoninic acid and phenol-sulfuric acid methods were used to measure the water-soluble protein and sugar content, respectively. To determine the effect of chicken manure feed supplementation on larval growth, Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) and a High-Performance Gel Permeation Chromatography-Evaporative Light

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金 (82260850); 贵州省基础研究计划 (自然科学类) 项目 (黔科合基础-ZK[2023]一般 524); 贵州省科技计划项目 (黔科平台人才[2019]-035)

**第一作者 First author, E-mail: fpan2015@foxmail.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: liyunzy@126.com

收稿日期 Received: 2023-02-21; 接受日期 Accepted: 2024-03-11

Scattering Detector (HPGPC-ELSD) were used to analyze the chemical composition of fatty acids and the molecular weight distribution of water-soluble macromolecules in larvae, respectively. **[Results]** Growth measurements from HiL indicated a significant decrease in larval weight gain when the proportion of chicken manure in the feed exceeded 30%. Additionally, when the proportion exceeded 50%, the dry weight ratio significantly decreased ($P<0.05$). Nutrient accumulation analysis revealed that when the proportion of chicken manure added to feed was $\leq 30\%$, the fatty acid content of the larvae significantly increased, but decreased as the proportion increased. However, the content of soluble protein and sugar components remained stable ($P<0.05$), indicating that moderate chicken manure supplementation promotes fatty acid accumulation. GC-MS analysis did not find any significant changes in the chemical composition of lipids, with lauric acid, oleic acid, and palmitic acid identified as common primary components. The HPGPC-ELSD results demonstrated obvious chromatographic peaks at retention times of 16.5 min and 20 min when the feed included $\leq 30\%$ chicken manure. However, the first main chromatographic peak appeared to split when the proportion was increased to 40% and 50%. At 80%, the second main peak disappeared, indicating that a high proportion of chicken manure may cause macromolecular fracture or inhibit low molecular weight polymerization or production. **[Conclusion]** The quantity of chicken manure added to soybean meal influences the HiL growth and nutrient accumulation. A high proportion of chicken manure can inhibit larval growth. However, when the proportion of chicken manure does not exceed 30%, its effect on larval growth and nutrient accumulation is not significant. Therefore, based on the findings of this study, a maximum of 30% chicken manure is considered the optimal proportion for supplementing HiL feed.

Key words *Hermetia illucens*; chicken manure; feed; nutritional composition; GC-MS; HPGPC-ELSD

亮斑扁角水虻 *Hermetia illucens* (Black soldier fly), 俗称黑水虻, 属双翅目水虻科扁角水虻属昆虫, 是一种分布于热带和暖温带地区重要昆虫资源 (纪佳雨等, 2021)。黑水虻具有产卵量大, 繁殖迅速, 世代间隔短等特点 (李顺才等, 2020), 且其幼虫营养丰富, 粗蛋白质含量占干重的 37%-63%, 油脂含量占干重的 7%-39%, 灰分占干重的 9%-28%, 钙质占干重的 4.8%-5.1%, 磷占干重的 0.60%-0.63%, 成为高营养价值的饲料来源 (陈杰等, 2014; Barragan-Fonseca *et al.*, 2017; 袁国莉和韩学能, 2019)。目前, 欧洲等地区已经开始工厂化养殖 (张杰等, 2019)。研究发现, 黑水虻能有效转换粪便为自身蛋白质和脂肪, 使环境中粪便排放量降低 33%-58%, 氮排放量减少 30%-80%, 磷排放量减少 44%以上 (刘韶娜和赵智勇, 2016; Beskin *et al.*, 2018; Rehman *et al.*, 2023), 也能将所有挥发性有机化合物的排放量减少 87%以上, 帮助养殖场解决恶臭问题 (Beskin *et al.*, 2018)。此外, 黑水虻还可以杀死或抑制革兰氏阴性菌, 减少家蝇数量 (Erickson *et al.*, 2004; Gold *et al.*, 2018)。并且, 经过黑水虻饲养处理后的残留物对植物生长有良好的促进作用, 可以替代化肥用于蔬菜等农作物 (袁华冠等, 2022)。随着我国家禽业向规模化、集约化转变, 禽粪处理成为挑战, 处理不当

会造成严重环境污染 (赵玥和李翠霞, 2021)。利用禽粪饲养黑水虻, 不仅能转化废物为蛋白质和脂肪, 再回用于家禽养殖, 补充饲料和生产有机肥, 还有助于粪污处理, 减少环境负担和饲料成本, 具有显著的环保和经济效益 (刘韶娜和赵智勇, 2016; Cutrignelli *et al.*, 2018)。

在我国, 家禽养殖业广泛分布于多个地区, 但鸡粪的初步处理和运输面临诸多挑战。由于地区间鸡的品种、饲料成分及环境微生物的差异, 鸡粪的性质也存在显著不同, 从而影响黑水虻生物转换效率。为解决这一问题, 本研究选取了贵州省遵义市养鸡场所产的新鲜鸡粪作为研究对象, 通过与豆粕不同比例混合养殖黑水虻幼虫, 旨在深入研究鸡粪对黑水虻幼虫生长状况及营养组成的影响。本研究不仅为遵义地区鸡粪的无害化处理提供了科学依据, 也为黑水虻的养殖提供了实践指导, 并且探索了一种“鸡-粪-虫-鸡”的绿色环保循环养殖模式, 有望为家禽养殖业带来经济和环境双重利益。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料: 黑水虻幼虫 (1日龄, 约 2 000 只) 购买于四川雷剑科技有限公司成都黑水虻繁育

基地。幼虫饲养盒为方型塑料材质，容积为 750 mL (盒底长宽为 14 cm×9.4 cm，盒顶长宽为 16.8 cm×11.3 cm，高 4.5 cm)。鸡粪采集自贵州省遵义市汇川区松林镇红冠农业发展有限公司乌鸡养殖场。

主要试剂：二喹啉甲酸二钠盐 (纯度>98%，Bicinchonic acid disodium salt, BCA) 购买于 Sigma 公司；氢氧化钠、酒石酸甲钠、无水碳酸钠、硫酸铜、石油醚 (30-60 °C)、苯酚、浓硫酸等购买自西陇科学股份有限公司，均为分析纯。高效液相流动相用水为娃哈哈公司生产的纯净水。

主要仪器：百分之一精度和万分之一精度电子秤均由上海浦春计量仪器有限公司生产；WGL-65D 电热鼓风干燥箱由天津市泰斯特仪器厂生产；HDL-40B 水平台式离心机由常州市鸿科仪器厂生产；SB25-12D 超声波清洗机由宁波新芝生物科技股份有限公司生产；LYOQUEST PLUS-85 真空冷冻干燥机由西班牙泰事达科技公司生产；DZKW-S-6 由双列 6 孔电热恒温水浴锅由上海浦东物理光学厂生产；HDL-40B 台式低速水平离心机由金坛市鸿科仪器厂生产；I3X 多功能酶标仪由美国美谷分子仪器有限公司生产；905-ULTS 超低温冰箱由美国赛默飞世尔科技有限公司生产；9000-7000D 气相色谱-三重四级杆质谱仪由美国安捷伦科技有限公司生产；LC-20AT 高效液相色谱仪由日本岛津株式会社生产；ELSD 检测器由美国奥泰科技有限公司生产。

1.2 黑水虻幼虫饲养，鲜重及折干率测定

鸡粪与豆粕干燥后粉碎，过 18 目筛 (孔径 1 mm)，混合，配置成鸡粪占比为 0%、20%、30%、40%、50%、60%和 80%的饲料，随后加入蒸馏水浸泡至少 12 h，使其湿度为 75%，自封袋分别封装后，4 °C 保存。挑选体型相似、重量相近的孵化后第 3 天黑水虻幼虫，共 630 条用豆粕适应性饲养 1 d，随后随机分 21 组，每组 30 条，组间幼虫重量差异不超过 0.1 g，装入饲养盒 (盒顶部打孔器开孔约 10 个，孔直径 0.6 cm)，同时加入之前配好的 7 种比例的鸡粪饲料 (每盒

12 g)，相同比例鸡粪饲料饲养重复 3 次，室温饲养。用百分之一精度电子秤于分组饲养第 1 天开始，间隔 3 d 称量每组黑水虻个体总鲜重 (30 条总重量，后续称重均为每组 30 条总重量)，清洗打包盒、更换新制成的鸡粪饲料，至黑水虻幼虫 3 龄后饲养终止 (分组饲养第 13 天时)。每组分别收集幼虫，用纯水冲洗干净，吸水纸吸干水分后称重。烘箱 50 °C 烘至恒重，用百分之一精度电子秤称量每组总干重，按照如下公式计算折干率：折干率 (%) = 每组幼虫总干重 (g) / 每组幼虫总鲜重 (g) × 100。

1.3 主要营养成分提取

1.3.1 脂肪酸提取 取烘干的黑水虻幼虫，每组 20 条，研钵中研磨后全部置于 10 mL 具塞试管中，百分之一精度电子秤称量加入样品重量，加入 9 mL 石油醚，密封后，置于连续超声波清洗仪中进行超声提取。超声功率为 1 000 W，频率为 40 kHz，提取总时间 1 h。4 °C 冰箱冷却后 4 000×g 离心 10 min，收集上清液。重复提取 2 次，离心后，收集并合并上清液，通风窗室温挥发干净石油醚后，千分之一精度电子秤称重。

1.3.2 水溶性成分提取 取上述脱脂肪酸后黑水虻幼虫剩余残渣，继续保留于 10 mL 具塞试管中，加入蒸馏水 7 mL，与脂肪酸相同超声提取参数下超声提取 1 h，4 °C 冰箱冷却，4 000×g 离心 10 min 后，收集上清液，重复提取 2 次，合并上清液，-80 °C 冷冻后，置于真空冷冻干燥机中冻干，千分之一精度电子秤称重。

1.4 水溶性总蛋白质、总多糖含量测定

1.4.1 水溶性提取物溶液配置 去上述冻干的水提物，用纯水溶解，配置成浓度约为 2 mg/mL 供试样品，放置于 4 °C 冰箱，待用。

1.4.2 水溶性蛋白质含量测定 蛋白质含量采用二喹啉甲酸法 (Bicinchonic acid, BCA) (Walker, 2009) 测定，主要步骤为，取水溶性提取物 20 μL，加入到 96 孔平板，随后加入新配置的 BCA 工作液 200 μL，轻轻震荡混匀，37 °C 恒温育 30 min。每个样品至少重复 3 次。随后置

于酶标仪测定 560 nm 波长吸光度。同时以牛血清蛋白为标准品, 确定其线性回归方程和相关系数。根据回归方程和样品吸光度值, 计算蛋白质含量。

1.4.3 水溶性总糖含量测定 多糖含量采用苯酚-硫酸法测定, 参考(金建华等, 2020), 并略作修改。主要为精密吸取 100 μL 新配水溶性提取物溶液, 依次加入 5% 苯酚 200 μL 及浓硫酸 1 mL, 摇匀, 煮沸 10 min, 冷却后取 200 μL 于 96 孔板, 每个样品至少重复 3 次。随后置于酶标仪测定 490 nm 波长吸光度。同时以干燥至恒重的葡萄糖为标准品, 采用相同步骤, 测定吸光度, 绘制线性回归方程和相关系数。根据回归方程和样品吸光度值, 计算总糖含量。

1.5 GC-MS 分析

1.5.1 分析条件 气相色谱条件: 色谱柱为 HP-5MS 弹性石英毛细管柱 (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm); 升温方式采用程序升温: 初始柱温 80 $^{\circ}\text{C}$, 以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 150 $^{\circ}\text{C}$, 再以 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 200 $^{\circ}\text{C}$, 最后以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 280 $^{\circ}\text{C}$, 保持 5 min; 进样量 1 μL ; 载气为氦气, 流速为 1 mL/min。

质谱条件: 离子源为 EI 源, 电子能量 70 eV 离子源温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 接口、进样口温度均为 250 $^{\circ}\text{C}$, 气化室温度为 250 $^{\circ}\text{C}$, 四极杆温度为 150 $^{\circ}\text{C}$; 扫描质荷比 (m/z) 范围为 50-550, 扫描方式为全扫描。从第 6 秒开始记录质谱信号。

1.5.2 定性分析方法 分别将上述 7 种不同脂肪酸提取样品溶解于石油醚 (30-60 $^{\circ}\text{C}$), 配置成浓度约为 1 mg/mL, 过 0.22 μm 有机系滤头, 进样分析, 经 GC-MS 分析鉴定, 生成样品总离子流色谱图。对总离子流色谱图各峰进行色谱扫描后得到该峰质谱图。利用计算机质谱数据系统, 结合 NIST2.0 质谱图数据库检索, 对电离产生的离子碎片进行比对鉴定(赵瑶兴和孙祥玉 2010)。最后, 采用面积归一化法计算并确定各成分的相对含量。

1.6 分子量的分布

利用高效液相凝胶渗透色谱-蒸发光散射检

测器 (HPGPC-ELSD) 法检测黑水虻幼虫水溶性提取物大分子成分的分子量分布。用日本岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪系统配以 TSK-gel GMPWxl 凝胶 (7.80 mm ID \times 30.00 cm) 色谱柱及 ELSD 检测器。流动相为水, 流速 0.50 mL/min; ELSD 检测器参数: 以氮气为载气, 压力在 350-370 kPa, 漂移管温度 115 $^{\circ}\text{C}$; 进样 15 μL 。样品进样前过 0.22 μm 水系滤头。

1.7 数据分析

测试重复 3 次, 显著性检验采用 SPSS 29.0 Duncan's 多重比较检验分析 ($P<0.05$); 试验结果以平均值 \pm 标准差表示。统计分析作图均在 Office Excel 2016 软件上进行。

2 结果与分析

2.1 饲料中添加鸡粪对黑水虻幼虫物质积累的影响

在适应性养殖背景下, 选取体型和重量相近的黑水虻幼虫, 选用向豆粕中加入不同比例鸡粪饲料进行饲养。如图 1 所示, 对照组 (无鸡粪添加) 幼虫在 1 至 4 d 快速生长, 至第 10 天生长率达到峰值后开始减缓。对于添加鸡粪的各组, 在第 4 天时, 除 80% 鸡粪组外, 其他组的生长率与对照组无显著差异 ($P<0.05$)。到第 7 天, 只有 20% 和 30% 鸡粪组的生长率与对照组无显著差异 ($P>0.05$), 其它组的生长率均显著下降。至第 10 天, 仅 20% 鸡粪组的生长率与对照无显著差异。到了第 13 天, 所有添加鸡粪组的生长率均有所下降, 尤其是高比例 (超过 50%) 鸡粪组下降速率最为明显。此外, 第 10 天时, 高比例鸡粪组中出现少量黑化黑水虻幼虫。这些结果表明, 鸡粪的添加比例显著影响黑水虻幼虫的生长, 鸡粪添加比例不宜超过 30%。

2.2 饲料中添加鸡粪对黑水虻幼虫营养组分积累的影响

在添加鸡粪饲养 10 d 后, 收集黑水虻幼虫, 称重 (鲜重), 随后烘干, 称重 (干重), 并计算折干率, 结果如图 2 所示。20% 鸡粪组的黑水虻幼虫的鲜重和干重均高于其它组, 通过计算折干

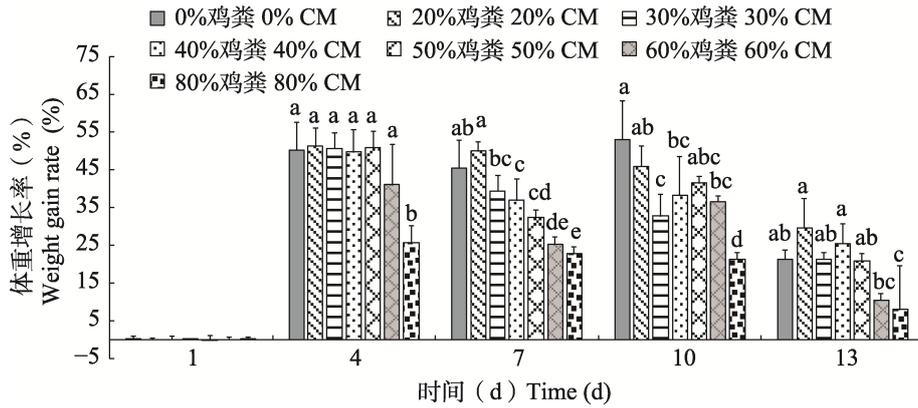


图 1 饲料中添加不同比例鸡粪饲养黑水虻幼虫的体重增长

Fig. 1 The weight gain of the larvae of *Hermetia illucens* reared with different proportions of chicken manure in feed

柱 (折线) 上标有不同小写字母表示在相同饲养时间不同处理组间差异显著 ($P < 0.05$, Duncan's 多重比较检验)。下图同。

Histograms (Broken line) with different letters indicate significantly different for the different groups at the same cultural time ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test). CM: Chicken manure. The same below.

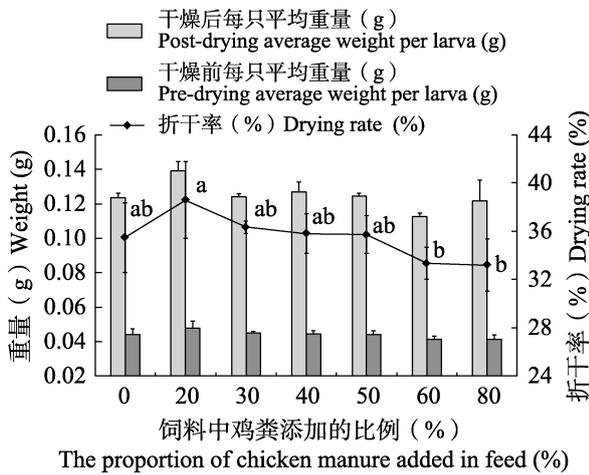


图 2 饲料中添加不同比例鸡粪饲养黑水虻幼虫的干物质积累及其折干率

Fig. 2 The dry matter accumulations and drying rate values of the larvae of *Hermetia illucens* reared with different proportions of chicken manure in feed

率, 并进行差异显著性分析发现, 低比例鸡粪 (低于 50%) 和对照组虽有数值差异, 但统计上不显著 ($P > 0.05$)。然而, 当鸡粪比例高于 50% 时, 折干率显著下降 ($P < 0.05$)。如果单以折干率判断, 建议鸡粪在黑水虻幼虫饲养中的添加比例应控制在 50% 以下。

2.3 饲料中添加鸡粪对黑水虻幼虫营养组分含量的影响

脂肪酸、蛋白质、糖类等为黑水虻幼虫主要

的营养成分。本研究使用石油醚和水分别对幼虫的脂肪酸类和水溶性成分进行了提取, 结果如图 3 所示。图 3 (A) 显示, 黑水虻幼虫含有丰富的油脂类成分 (提取率均高于 15%), 且油脂含量随鸡粪饲养比例的不同而显著变化。对照组的油脂提取率为 $15.71\% \pm 0.98\%$, 20% 和 30% 鸡粪组的油脂提取率显著增加 ($P < 0.05$), 但随着鸡粪比例进一步增加, 油脂含量开始下降, 说明低比例鸡粪可以刺激黑水虻油脂成分积累。由图 3 (B) 所示, 水溶性提取物含量以对照组为最高, 低比例鸡粪 (低于 50%) 对含量影响不显著 ($P > 0.05$), 而当鸡粪比例达到 60% 及以上时, 水溶性成分含量则显著下降 ($P < 0.05$)。这表明, 低于 50% 鸡粪并不显著影响黑水虻幼虫水溶性成分的积累。可溶性蛋白质为水溶性成分的主要组成成分, 对其含量测定发现, 该类成分含量均在 40% 以上, 且不同比例的鸡粪均可提高其含量, 但差异不显著 ($P > 0.05$)。水溶性提取物中的总糖含量进行测定结果 (图 3: D) 显示, 水溶性提取物中糖类成分含量明显低于蛋白质含量, 但仍有 10% 左右, 其中以对照组含量最高, 20% 鸡粪组含量略低, 但差异不显著 ($P > 0.05$), 而 30% 及以上鸡粪组, 其总糖类成分显著下降 ($P < 0.05$)。综合分析水溶液提取物含量、可溶性蛋白质和总糖含量表明, 饲料中添加低于 30%

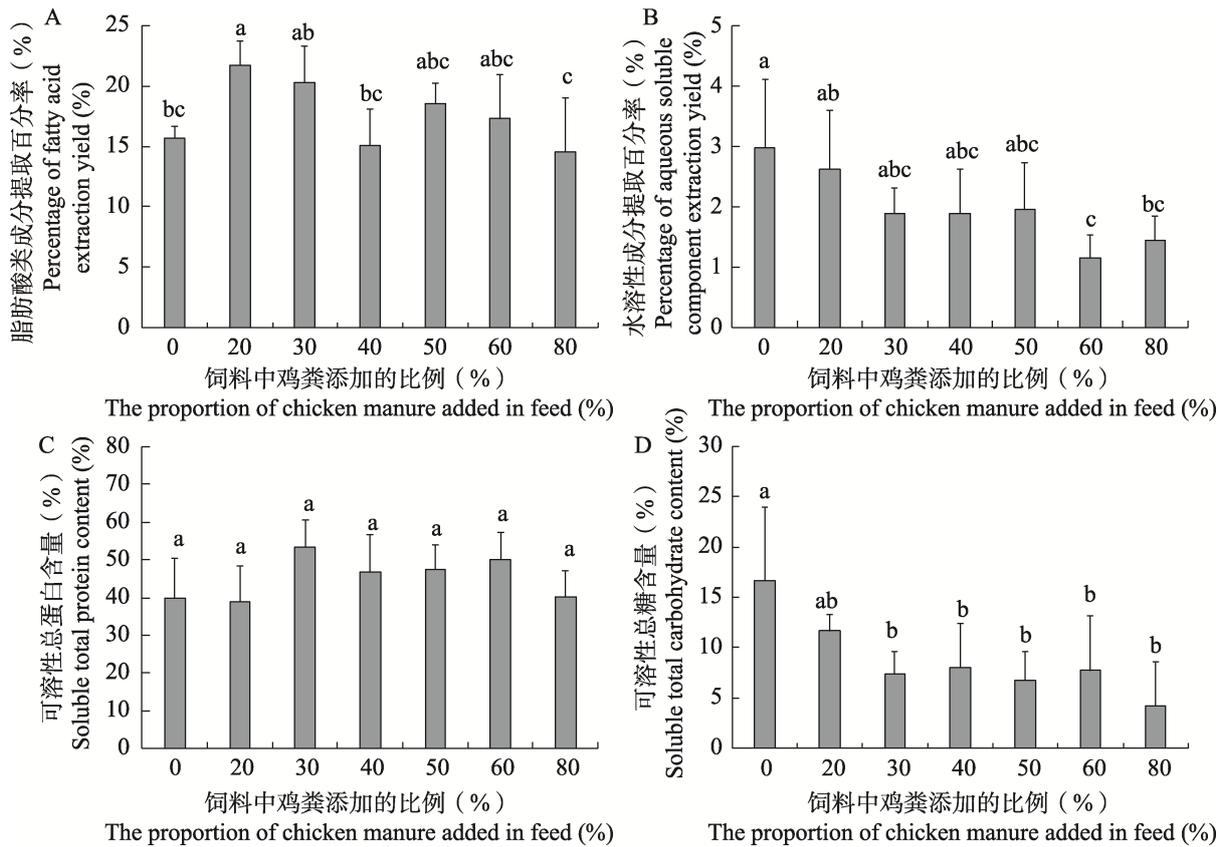


图 3 饲料中添加不同鸡粪比例鸡粪添加不同比例鸡粪饲养黑水虻幼虫的脂肪酸提取率 (A), 水溶性成分提取率 (B), 水溶性成分中可溶性总蛋白质含量 (C) 和可溶性总糖含量 (D)

Fig. 3 The percentages of fatty acid extraction yield (A) and aqueous soluble component extraction yield (B), soluble total protein content (C) and soluble total carbohydrate content (D) of the larvae of *Hermetia illucens* reared with different proportions of chicken manure in feed

的鸡粪对黑水虻幼虫的水溶性提取物提取率及其主要成分均无显著不良影响 ($P>0.05$)。

2.4 饲料中添加鸡粪对黑水虻幼虫油脂化学成分的影响

为了分析向豆粕中添加不同比例鸡粪饲养对黑水虻幼虫油脂成分的影响,本研究采用 GC-MS 对其进行了分析,得到总离子流图(图 4)。通过比对不同组黑水虻幼虫油脂样品的总离子流峰图,发现峰形基本相似,主要成分出峰保留时间、峰高等相近,表明不同提取油脂样品主成分一致。随后,通过自动积分各样品的总离子流图,并采用峰面积归一化法计算各组分的相对百分含量,并将各化合物质谱图通过质谱分析和 NIST2.0 标准谱库检索,要求相似度 85%以上,并结合参考文献进行鉴定,结果如表 1 所示。7

个组分别鉴定出 30、32、24、31、33、28、30 种成分,所鉴定成分含量占总成分的 41.57%、43.93%、47.73%、65.03%、72.45%、65.88%和 72.2%。所有样品共有的 15 种成分包括月桂酸、油酸、棕榈酸、亚油酸、邻苯二甲酸二异辛酯、2,4-二叔丁基苯酚、硬脂酸、癸酸、邻苯二甲酸二丁酯、2-十二烷醇、1-十九碳烯、正癸酸、1-二十二烯、十四烷和(Z)-7-十六碳烯醛。这些成分含量在 7 种比例鸡粪饲养黑水虻幼虫样品中占鉴定出成分含量百分比分别为: 87.06%、87.48%、44.18%、83.73%、92.74%、93.09%和 93.71%。由此可见,除个别样品外,鸡粪饲养并不会引起油脂化学成分显著改变。其中,30%鸡粪组含量百分比为 44.18%,明显低于其它组,这可能是由于该组部分成分与相邻化合物未实现较好的基线分离导致。总体而言,月桂酸含量

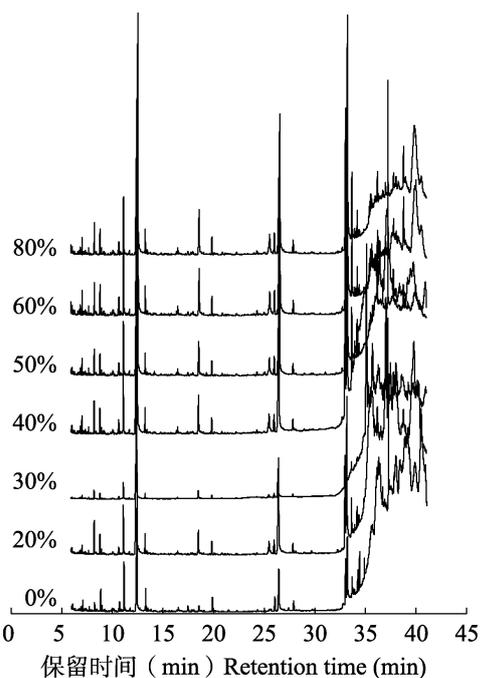


图 4 饲料中添加不同比例鸡粪饲养黑水虻幼虫脂肪成分的 GC-MS 总离子流图

Fig. 4 Total ion chromatogram of the chemical components from the fat extracted from the larvae of *Hermetia illucens* reared with different proportions of chicken manure by GC-MS

最高，其次是油酸和棕榈酸，这些是所有样品共有的主要成分。这表明，鸡粪饲养不会显著改变黑水虻幼虫油脂成分的含量，也不会对其主要成分产生明显影响。

2.5 饲料中添加鸡粪对黑水虻幼虫水溶性成分分子量分布的影响

对水溶性成分提取率、总蛋白质含量和总糖含量研究表明，低比例鸡粪饲养对黑水虻幼虫水溶性化学成分含量影响较小。为了深入了解其对主要水溶性成分分子量分布的影响，本研究采用 HPGPC-ELSD 技术对水溶性提取成分进行了分析。如图 5 所示，对照组、20%、30%、40%、50%和 60%比例的鸡粪饲养黑水虻幼虫水溶性提取物在 16.5 和 20 min 处均有两个主峰，而 80% 比例鸡粪组仅 16.5 min 处有一个主峰，这表明黑水虻幼虫在过高比例鸡粪饲养后，大分子代谢产物发生改变。进一步分析发现，在 30%及以下鸡粪饲养黑水虻幼虫时，16.5 min 主峰尽管开始出现肩峰，但是比例较低，而在 40%和 50%比例的

表 1 饲料中添加不同比例鸡粪饲养黑水虻幼虫脂肪 GC-MS 成分分析及其相对含量

Table 1 Analysis results of the fat extract components and relative contents of the larvae of *Hermetia illucens* reared with different proportions of chicken manure in feed by GC-MS

编号 No.	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	饲料中鸡粪比例 (%)							
			Proportion of chicken manure in feed (%)							
			0	20	30	40	50	60	80	
1	十一烷 Undecane	C ₁₁ H ₂₄	-	-	-	-	0.16	-	-	
2	正十五烷 Pentadecane	C ₁₅ H ₃₂	0.16	0.08		0.12	-	0.17	0.14	
3	2,6-二甲基十一烷 Undecane, 2,6-dimethyl-	C ₁₃ H ₂₈	-	-	-	-	-	0.06	0.04	
4	2-丁基辛醇 1-Octanol, 2-butyl-	C ₁₂ H ₂₆ O	-	-	-	-	-	0.06	0.04	
5	正十七烷 Heptadecane	C ₁₇ H ₃₆	0.11	0.05	0.1	0.04	-	0.09	0.05	
6	4,4-二丙基庚烷 4,4-Dipropylheptane	C ₁₃ H ₂₈	-	-	-	-	-	0.18	-	
7	反式-2-癸烯醛 2-Decenal, (E)-	C ₁₀ H ₁₈ O	-	-	-	-	-	0.07	0.06	
8	2,6,11-三甲基十二烷 Dodecane, 2,6,11-trimethyl-	C ₁₅ H ₃₂	-	0.15	-	-	-	-	-	
9	2-甲基癸烷 Decane, 2-methyl-	C ₁₁ H ₂₄	-	-	-	0.30	-	-	-	
10	正十六烷 Hexadecane	C ₁₆ H ₃₄	-	-	-	-	0.42	-	-	
11	3,3-二甲基己烷 Hexane, 3,3-dimethyl-	C ₈ H ₁₈	-	-	-	-	-	0.44	0.33	
12	甲氧基乙酸, 3-十三烷基酯 Methoxyacetic acid, 3-tridecyl ester	C ₁₆ H ₃₂ O ₃	0.07	-	-	-	-	-	-	
13	十二甲基环六硅氧烷 Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	C ₁₂ H ₃₆ O ₆ Si ₆	0.07	-	-	-	-	-	-	

续表 1 (Table 1 continued)

编号 No.	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	饲料中鸡粪比例 (%)						
			Proportion of chicken manure in feed (%)						
			0	20	30	40	50	60	80
14	2-己基-1-辛醇 2-Hexyl-1-octanol	C ₁₄ H ₃₀ O	0.08	0.06	-	0.11	0.14	-	0.15
15	正癸酸 n-Decanoic acid	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	0.32	0.90	0.35	0.84	1.01	1.01	1.05
16	廿二烷基三氯硅烷 Silane, trichlorodocosyl-	C ₂₂ H ₄₅ Cl ₃ Si	-	-	-	-	-	0.09	-
17	2-己基-1-癸醇 1-Decanol, 2-hexyl-	C ₁₆ H ₃₄ O	-	-	-	0.05	0.08	-	-
18	1-十六烷醇 1-Hexadecanol	C ₁₆ H ₃₄ O	0.81	0.44	-	0.56	0.68	0.71	0.63
19	十四烷 Tetradecane	C ₁₄ H ₃₀	0.20	0.11	0.04	0.13	0.16	0.16	0.15
20	O-癸基羟胺 Hydroxylamine, O-decyl-	C ₁₀ H ₂₃ NO	0.05	0.07	-	0.05	0.12	0.03	0.22
21	1-十八烷基磺酰氯 1-Octadecanesulphonyl chloride	C ₁₉ H ₄₀	0.07	0.03	-	0.05	0.04	-	-
22	6-甲基十八烷 Octadecane, 6-methyl-	C ₁₉ H ₄₀	-	-	-	-	0.09	-	-
23	1-溴二十烷 1-Bromoeicosane	C ₂₀ H ₄₁ Br	-	-	-	0.06	-	-	-
24	正二十四烷 Tetracosane	C ₂₄ H ₅₀	-	-	-	0.10	0.23	-	-
25	2,6-二甲基十七烷 Heptadecane, 2,6-dimethyl-	C ₁₉ H ₄₀	0.19	-	-	0.10	0.17	-	-
26	癸烷,2,3,5,8-四甲基氢氧化铵 Decane, 2,3,5,8-tetramethyl-	C ₁₄ H ₃₀	0.48	-	-	-	-	-	-
27	正十六烷 Hexadecane	C ₁₆ H ₃₄	-	-	-	0.07	-	-	-
28	甲氧基乙酸-3-十三烷基酯 Methoxyacetic acid, 3-tridecyl ester	C ₁₆ H ₃₂ O ₃	-	-	-	-	0.03	-	-
29	2,4-二叔丁基苯酚 2,4-Di-tert-butylphenol	C ₁₄ H ₂₂ O	3.03	1.78	0.97	2.33	2.93	2.71	2.42
30	月桂酸 Dodecanoic acid	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	8.79	12.82	8.31	18.53	21.52	18.16	22.41
31	2-十二烷醇 2-Dodecanol	C ₁₂ H ₂₆ O	1.27	0.70	0.31	0.84	1.05	1.04	0.97
32	正十九烷 Nonadecane	C ₁₉ H ₄₀	0.15	0.08	0.02	0.09	0.12	-	0.12
33	十六烷基环八硅氧烷 Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl-	C ₁₆ H ₄₈ O ₈ Si ₈	-	-	-	-	0.21	-	-
34	2-甲基十八烷 Octadecane, 2-methyl-	C ₁₉ H ₄₀	-	-	0.07	0.06	0.12	-	-
35	1-碘十四烷 Tetradecane, 1-iodo-	C ₁₄ H ₂₉ I	-	-	-	-	-	0.40	0.30
36	二苄胺 Dibenzylamine	C ₁₄ H ₁₅ N	0.50	-	-	-	-	-	-
37	癸酸 Undecanoic acid	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	0.41	1.15	0.62	1.83	2.44	2.56	2.65
38	1, 1, 1, 5, 7, 7, 7-七甲基-3, 3-双(三甲基硅氧基)四硅氧烷 1,1,1,5,7,7,7-Heptamethyl-3,3-bis(trimethylsiloxy) tetrasiloxane	C ₁₃ H ₄₀ O ₅ Si ₆	-	-	-	-	0.17	-	-
39	1-十九碳烯 1-Nonadecene	C ₁₉ H ₃₈	1.08	0.65	0.27	0.73	1.00	0.95	0.92
40	2-十五烷基二氯乙酸酯 Dichloroacetic acid, 2-pentadecyl ester	C ₁₇ H ₃₂ Cl ₂ O ₂	-	0.03	-	-	-	-	-
41	3,5,24-三甲基四十烷 Tetracontane, 3,5,24-trimethyl-	C ₄₃ H ₈₈	-	-	-	-	-	-	0.05
42	1-Gala-1-ido-octose	C ₈ H ₁₆ O ₈	-	0.08	-	-	-	-	-
43	9, 9-二甲氧基双环[3.3.1]壬-2, 4-二酮 9,9-Dimethoxybicyclo[3.3.1]nona-2,4-dione	C ₁₁ H ₁₆ O ₄	-	0.06	-	-	0.09	-	0.09

续表 1 (Table 1 continued)

编号 No.	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	饲料中鸡粪比例 (%)							
			Proportion of chicken manure in feed (%)							
			0	20	30	40	50	60	80	
44	2, 2, 2-三氟乙酯 9-十八烯酸 9-Octadecenoic acid, 2,2,2-trifluoroethyl ester	C ₂₀ H ₃₅ F ₃ O ₂	-	-	0.26	-	-	-	-	
45	9-二十烯酸 9-Eicosenoic acid	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	0.16	-	-	-	-	-	-	
46	顺式-11-十六碳二烯酸_Hexadecenoic acid, Z-11-	C ₁₆ H ₃₀ O ₂		0.81		0.91	1.56	1.48	1.53	
47	邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	1.33	0.81	0.35	0.98	1.53	1.32	1.29	
48	棕榈酸 n-Hexadecanoic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	3.86	5.41	2.88	7.52	9.37	8.04	9.11	
49	1-二十二烯 1-Docosene	C ₂₂ H ₄₄	0.93	0.52	0.19	0.56	0.84	0.77	0.78	
50	正二十四烷 Tetracosane	C ₂₄ H ₅₀	-	0.1	-	-	-	-	-	
51	亚油酸 Linoelaidic acid	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	2.94	3.78	1.35	6.97	7.25	6.78	7.27	
52	油酸 9-Octadecenoic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	4.27	6.3	2.07	10.25	11.51	11.28	12.50	
53	硬脂酸 Octadecanoic acid	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1.23	1.3	2.93	2.25	2.71	2.56	2.94	
54	(Z)-7-十六碳烯醛 7-Hexadecenal, (Z)-	C ₁₆ H ₃₀ O	0.31	0.21	1.20	0.14	0.53	0.89	0.43	
55	1-二十九(碳)烯 Nonacos-1-ene	C ₂₉ H ₅₈	0.91	-	-	-	-	-	-	
56	10-二十一碳烯 10-Heneicosene (c,t)	C ₂₁ H ₄₂	1.57	0.54	-	-	0.83	0.77	0.79	
57	芥酸酰胺 13-Docosenamide, (Z)-	C ₂₂ H ₄₃ NO	-	-	19.43	-	-	-	-	
58	十七烷, 2,3-二甲基 Heptadecane, 2,3-dimethyl-	C ₁₉ H ₄₀	-	0.45	-	-	-	-	-	
59	1-碘-2-甲基十一碳烷 1-Iodo-2-methylundecane	C ₁₂ H ₂₅ I	-	1.12	0.78	-	-	-	-	
60	2,6,10-三甲基十二烷 Dodecane, 2,6,10-trimethyl-	C ₁₅ H ₃₂	-	-	2.16	8.46	-	-	-	
61	邻苯二甲酸二异辛酯 Diisooctyl phthalate	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	6.22	1.99	2.13	3.37	3.34	3.1	2.77	
62	二十八烷 Octacosane	C ₂₈ H ₅₈	-	1.35	-	-	-	-	-	
63	正三十一烷 Hentriacontane	C ₃₁ H ₆₄	-	-	6.20	-	-	-	-	
64	正二十六烷 Hexacosane	C ₂₆ H ₅₄	-	-	1.27	-	-	-	-	

- : 未检测到。 - : Not detected.

鸡粪饲养时, 在 17 min 处出现一个明显的肩峰。由于 HPGPC 色谱图上, 保留时间越短, 表明化合物分子量越大, 结合实验结果, 可以发现, 较高比例鸡粪可能会引起大分子成分的断裂, 或者是抑制了低分子量化合物聚合。当鸡粪比例进一步增加至 60% 和 80% 时, 其甚至可以影响较低分子量蛋白质或多糖等化合物的产生。

3 讨论

黑水虻可将禽畜粪便转化为自身的脂肪和粗蛋白 (刘韶娜和赵智勇, 2016; Cutrignelli *et al.*, 2018), 但是其转换能力有限, 寻找合适的鸡粪

添加比例对于最大限度运用黑水虻幼虫生物转换生产脂肪和蛋白质等营养成分非常重要。为此, 本研究首先利用添加不同比例的鸡粪饲料饲养黑水虻幼虫, 发现鸡粪添加比例对黑水虻幼虫的生长有显著影响。当鸡粪添加比例超过 30%, 幼虫体重出现显著下降, 当鸡粪比例超过 50%, 幼虫折干率显著下降。因此, 为了获取最大干物质产量, 鸡粪添加比例不宜超过 30%。杨安妮等 (2019) 曾研究发现, 黑水虻幼虫在 30% 鸡粪添加比例时, 黑水虻幼虫体重增加不显著, 与本研究结果一致, 这进一步证明 30% 的鸡粪添加并不影响黑水虻幼虫正常生长。

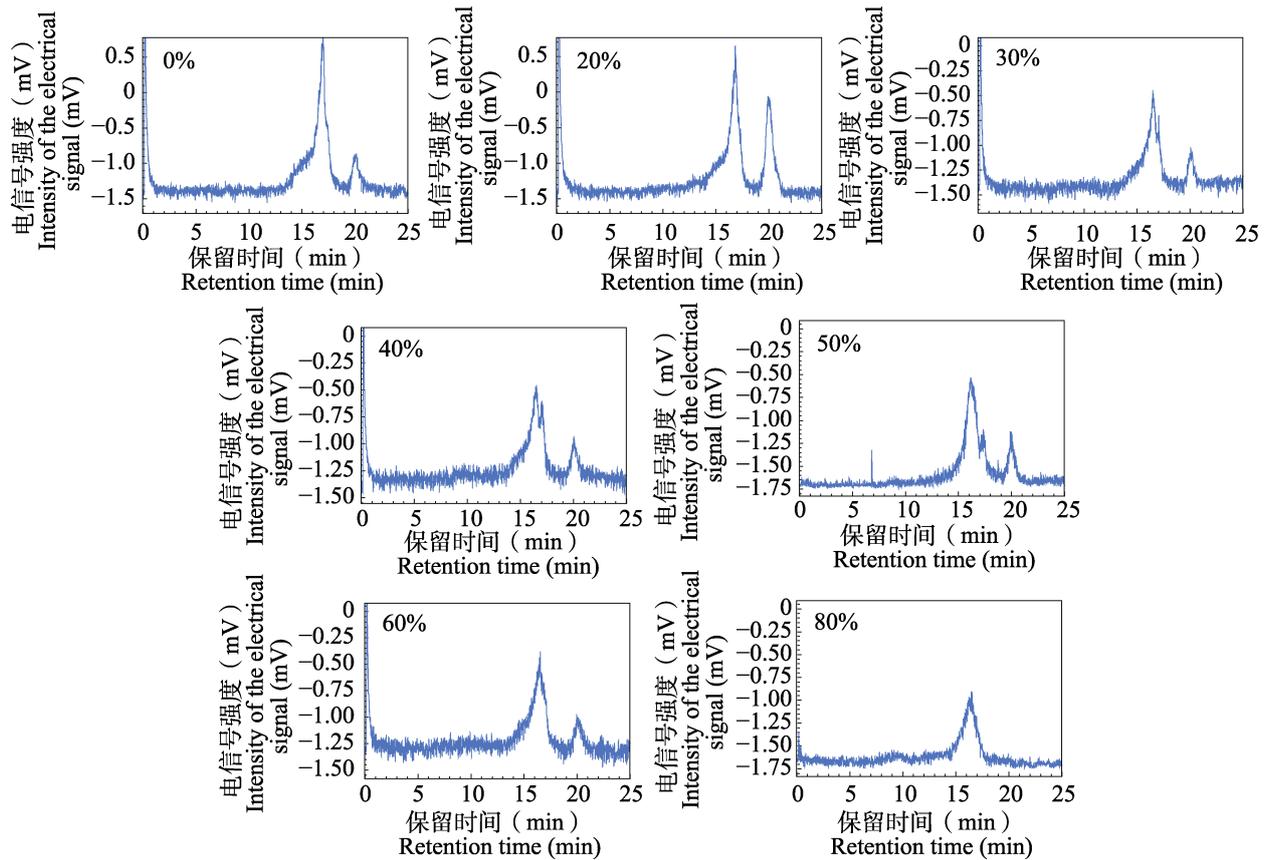


图 5 饲料中添加不同比例鸡粪饲养黑水虻幼虫水溶性成分高效液相凝胶色谱图

Fig. 5 HPGPC chromatograms of water-soluble components from the larvae of *Hermetia illucens* reared with different proportions of chicken manure in feed

黑水虻幼虫的生长和体重增加并不直接反映其主要营养组分的稳定性。在幼虫正常生长情况下,保持营养组分的稳定转换,才能达到饲养的最终目的。因此,本研究对黑水虻幼虫的油脂、水溶性蛋白质和糖类成分进行了分析。油脂含量分析显示,20%和30%鸡粪饲养不仅不会影响黑水虻幼虫油脂含量的降低,而且还会刺激其产生更高含量的油脂,且差异显著($P < 0.05$),其油脂提取率均超过了20%。而当鸡粪比例超过30%时,油脂含量显著下降,但与对照无显著差异($P > 0.05$),在80%鸡粪添加量时脂肪提取率为 $14.58\% \pm 4.41\%$ 。这与李俊波等(2019)用鸡粪直接饲养黑水虻幼虫检测的脂肪含量 $15.94\% \pm 1.24\%$ 结果接近,但是明显低于刘复荣等(2020)利用响应面法对黑水虻幼虫油脂的提取率(28%),这可能是由于黑水虻幼虫幼龄和提取方法的多重影响导致(孔凡等,2021)。随后,本研究利用GC-MS对油脂成分种类和相对百分

含量进行了分析,结果发现,有15种成分为不同比例鸡粪饲养后的共同脂肪成分,且其含量占各种鉴定总成分含量的比例除30%鸡粪组外,均高于80%。进一步分析发现,在鉴定的成分中,月桂酸含量最高,其次是油酸和棕榈酸,也是所有鸡粪饲养组的共有成分。黄苓(2008)曾研究发现,在黑水虻虫蛹中,月桂酸、油酸和棕榈酸为其最主要脂肪酸,王国卿等(2022)对黑水虻幼虫研究也发现月桂酸、油酸和棕榈酸是其主要的脂肪酸。此外,油脂类成分具有抗氧化等多种生理活性(刘西岭等,2023),也是重要能量来源。由此可见,以上脂肪酸类成分在黑水虻幼虫生长发育中具有重要功能,不同比例鸡粪对黑水虻幼虫进行饲养,并不改变其主要的脂肪成分。

昆虫虫体水溶性成分中通常含有丰富的蛋白质(多肽),多糖,氨基酸等成分,具有抗氧化、抗炎等广泛的生物活性(黄显章等,2016; Chatsuwana *et al.*, 2018; Mattia *et al.*, 2019)。本研

究中,对添加不同比例鸡粪饲养黑水虻幼虫的水溶性成分提取率发现,低于 50%鸡粪组并不显著影响黑水虻幼虫水溶性成分的积累。而在水溶性提取物中,以蛋白质为主,其次是糖类,但是不同比例鸡粪添加量均不会引起可溶性蛋白质含量下降,当鸡粪添加比例 30%及以上时,却会引起总糖含量的下降,但是由于糖类成分本身所占比例较低,其对水溶性成分影响较小。此外,已有研究发现,水提取物中,大分子化合物也表现出广泛的生理活性。如:家蚕水溶性成分中,其分子量为 37、64 和 75 kD 的蛋白质为其主要成分,并且表现出较高的抗氧化活性(Chatsuwan *et al.*, 2018); 虻虫中提取的多糖成分分子量约为 15 kD, 其为虻虫抗凝血的主要活性成分(金伟和王亚威, 2000); Ali 等(2019)在研究黑水虻幼虫活性成分时,发现了一个新的多糖成分,其分子量约为 147 kD, 并且表现免疫激活作用。为此,本研究利用 HPGPC-ELSD 技术对添加不同比例鸡粪饲养黑水虻幼虫的水溶性成分按照分子量分布进行结构特征分析,结果表明在添加 30%及以下比例鸡粪饲养的样品中,大分子成分均未发生明显的改变。可见,30%及以下比例鸡粪饲养对黑水虻幼虫水溶性成分影响较小。

综上,黑水虻幼虫展现出极强的鸡粪生物转换能力,能够产生丰富的中链脂肪酸(以月桂酸为主)、多不饱和脂肪酸、蛋白质和多糖等活性成分,适宜作为家禽养殖的补充饲料。通过添加不同比例鸡粪饲养黑水虻幼虫对比研究发现,鸡粪添加比例不超过 30%时,黑水虻幼虫的生长,营养成分含量及种类均未受到不利影响,甚至还有利于脂肪等成分的积累。因此,本研究表明,利用鸡粪养殖黑水虻幼虫时,鸡粪添加比例设为 30%较为适宜。本研究不仅进一步明确了添加不同比例鸡粪对黑水虻幼虫生长、干物质积累、脂肪和水溶性成分含量和种类的影响,还为建立黑水虻幼虫养殖工厂提供了理论基础。

参考文献 (References)

Ali MFZ, Ohta T, Ido A, Miura C, Miura T, 2019. The dipterose of black soldier fly (*Hermetia illucens*) induces innate immune response through toll-like receptor pathway in mouse macrophage

raw 264.7 cells. *Biomolecules*, 9(11): 677.

Barragan-Fonseca KB, Dicke M, Loon JJV, 2017. Nutritional value of the black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) and its suitability as animal feed—a review. *Journal of Insects as Food and Feed*, 3(2): 105–120.

Beskin KV, Holcomb CD, Cammack JA, Crippen TL, Knap AH, Sweet ST, Tomberlin JK, 2018. Larval digestion of different manure types by the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) impacts associated volatile emissions. *Waste Management*, 74: 213–220.

Chatsuwan N, Puechkamut Y, Pinsirodom P, 2018. Characterization, functionality and antioxidant activity of water-soluble proteins extracted from *Bombyx mori* Linn. *Current Applied Science and Technology*, 18(2): 83–96.

Chen J, Kuang ZS, Xiao M, Zhao XJ, Lin XL, 2014. High quality insect for animal manure treatment—*Hermetia illucens*. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 42 (24): 8180–8182. [陈杰, 邝哲师, 肖明, 赵祥杰, 林显丽, 2014. 畜禽粪便处理的优质昆虫黑水虻. *安徽农业科学*, 42(24): 8180–8182.]

Cutrignelli MI, Messina M, Tulli F, Randazzo B, Olivetto I, Gasco L, Loponte R, Bovera F, 2018. Evaluation of an insect meal of the black soldier fly (*Hermetia illucens*) as soybean substitute: Intestinal morphometry, enzymatic and microbial activity in laying hens. *Research in Veterinary Science*, 117: 209–215.

Erickson ME, Mahbub I, Craig S, Jean LPDM, 2004. Reduction of *Escherichia coli* o157: H7 and *Salmonella enterica* Serovar enteritidis in chicken manure by larvae of the black soldier fly. *Journal of Food Protection*, 67(4): 685–690

Gold M, Tomberlin JK, Diener S, Zurbrügg C, Mathys A, 2018. Decomposition of biowaste macronutrients, microbes, and chemicals in black soldier fly larval treatment: A review. *Waste Management*, 82: 302–318.

Huang L, 2008. Influences of different light sources on the life history of the black soldier fly and the conversion of swine manure by the insect. Master dissertation. Wuhan: Huazhong Agricultural University. [黄苓, 2008. 不同光源对黑水虻生活史的影响及其对猪粪的转化. 硕士学位论文. 武汉: 华中农业大学.]

Huang XZ, Ding SC, Yuan L, Wang X, Hao PF, Zhang JJ, 2016. Analgesic and anti-inflammatory effect of water extract of dung beetle. *Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine*, 34(9): 2191–2194. [黄显章, 丁生晨, 袁林, 王旭, 郝鹏飞, 张景景, 2016. 蜣螂水提取物的镇痛抗炎作用. *中华中医药学刊*, 34(9): 2191–2194.]

Ji JY, Deng LC, Li GD, Li PY, Xu DJ, 2021. Advances in research on the resource valorization and development applications of black soldier fly. *Journal of Economic Animals*, 25(1): 42–50.

- [纪佳雨, 邓玲聪, 李广东, 李佩玉, 许道军, 2021. 黑水虻的资源价值化及其开发应用研究进展. *经济动物学报*, 25(1): 42–50.]
- Jin JH, Li YY, Cai XC, 2020. Optimization of the extraction process of polysaccharides from *Dracocephalum tanguticum* by response surface methodology. *Journal of Guizhou Normal University*, 38(5): 14–19. [金建华, 李永元, 才项措, 2020. 响应面法优化藏药唐古特青兰中多糖的提取工艺. *贵州师范大学学报*, 38(5): 14–19.]
- Jin W, Wang YW, 2000. Extraction and identification of anticoagulant substances from *Tabanus*. *Acta Chinese Medicine and Pharmacology*, 2000(3): 58–60. [金伟, 王亚威, 2000. 虻虫抗凝血物质的提取与鉴定. *中医药学报*, 2000(3): 58–60.]
- Kong F, Huang HF, Yang C, Lei FF, He DP, Zheng JC, 2021. Process optimization and quality comparison of black soldier fly larvae oils extracted by different methods. *China Oils and Fats*, 46(6): 15–20. [孔凡, 黄宏飞, 杨晨, 雷芬芬, 何东平, 郑竟成, 2021. 不同方法提取黑水虻油工艺优化及品质比较分析. *中国油脂*, 46(6): 15–20.]
- Li JB, Chen JH, Zhao ZY, 2019. Study on the utilization of chicken dung and pig dung, and the evaluation of the nutritional value of *Hermetia illucens* as a protein and energy feed resource. *Swine Industry Outlook*, 2019(2): 73–75. [李俊波, 陈吉红, 赵智勇, 2019. 亮斑扁角水虻对鸡粪、猪粪的利用以及水虻作为蛋白质、能量饲料资源的营养价值评价研究. *猪业观察*, 2019(2): 73–75.]
- Li SC, Ji ZX, Su F, Li JH, 2020. Growth characteristics and scientific utilization of *Hermertia illucens* (L.) as a resource insect. *Scientific Breeding and Cultivation*, 2020(3): 55–57. [李顺才, 吉志新, 苏绯, 李敬华, 2020. 资源昆虫黑水虻的生长特性与科学利用. *科学种养*, 2020(3): 55–57.]
- Liu FR, He JY, Luo T, Meng HL, Wu WH, Cui JM, 2020. Optimization of the extraction process of crude lipid from black soldier fly larvae by response surface methodology. *Food Industry*, 41(8): 173–176. [刘复荣, 何敬愉, 罗涛, 蒙海林, 吴伟浩, 崔金明, 2020. 响应面优化黑水虻幼虫粗油脂提取工艺. *食品工业*, 41(8): 173–176.]
- Liu SN, Zhao ZY, 2016. Development of animal manure treatment by black soldier fly. *Swine Production*, 2: 81–83. [刘韶娜, 赵智勇, 2016. 黑水虻对畜禽废弃物治理的研究进展. *养猪*, 2: 81–83.]
- Liu XL, Guo JF, Cheng N, Yu MJ, 2023. Study on the extraction process of citrus peel essential oil by ultrasound-microwave assistance and its antioxidant activity. *Journal of Guizhou Normal University (Natural Science)*, 41(2): 47–55. [刘西岭, 郭俊芳, 程楠, 喻明军, 2023. 超声-微波辅助提取柑橘皮精油工艺及抗氧化活性研究. *贵州师范大学学报(自然科学版)*, 41(2): 47–55.]
- Mattia CD, Battista N, Sacchetti G, Serafini M, 2019. Antioxidant activities *in vitro* of water and liposoluble extracts obtained by different species of edible insects and invertebrates. *Frontiers in Nutrition*, 6: 106.
- Rehman KU, Hollah C, Wiesotzki K, Rehman RU, Rehman AU, Zhang JB, Zheng LY, Nienaber T, Heinz V, Aganovic K, 2023. Black soldier fly, *Hermetia illucens* as a potential innovative and environmentally friendly tool for organic waste management: A mini-review. *Waste Management & Research*, 41(1): 81–97.
- Walker JM, 2009. The Protein Protocols Handbook. Springer Protocols Handbooks. Totowa, NJ: Humana Press. 11–15.
- Wang GQ, Zhang X, Zhu JY, Yuan QX, 2022. Effects of microwave-ultrasonic synergistic solvent extraction on oil yield and product properties of black soldier fly. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 41(4): 43–50. [王国卿, 张鑫, 朱俊宇, 袁巧霞, 2022. 微波-超声波协同溶剂萃取对黑水虻油脂产率及产物特性影响. *华中农业大学学报*, 41(4): 43–50.]
- Yang AN, Yang SL, Tang HJ, Bao J, Lu LB, Zheng JX, Zhang L, 2019. Studies on the growth and development of *Hermetia illucens* larvae in chicken dung. *Gansu Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 49(12): 46–49. [杨安妮, 杨石龙, 唐红军, 包洁, 陆龙波, 郑金仙, 张雷, 2019. 黑水虻幼虫在鸡粪中生长发育规律的研究. *甘肃畜牧兽医*, 49(12): 46–49.]
- Yuan GL, Han XN, 2019. Breeding and application prospect of *Hermetia illucens*. *Animal Industry and Environment*, 2019(10): 51–52. [袁国莉, 韩学能, 2019. 黑水虻的养殖及应用前景. *畜牧业环境*, 2019(10): 51–52.]
- Yuan HG, Yang C, Liu G, Pan YX, Yang AA, Meng FF, Peng Y, 2022. Effects of the application of *Hermetia illucens* sandworm on the growth, quality of three vegetables and soil nutrient contents. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 5: 99–106. [袁华冠, 杨成, 刘刚, 潘远雄, 杨爱爱, 孟凡非, 彭艳, 2022. 黑水虻虫沙施用对蔬菜生长、品质和土壤养分的影响. *中国土壤与肥料*, 5: 99–106.]
- Zhang J, Wen YT, Gao ZH, Lei CL, Zhu F, 2019. Progress in research on, and the utilization of *Hermetia illucens*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 56(5): 997–1006. [张杰, 温逸婷, 高正辉, 雷朝亮, 朱芬, 2019. 黑水虻的资源化利用研究现状. *应用昆虫学报*, 56(5): 997–1006.]
- Zhao Y, Li CX, 2021. The policy evolution of livestock and poultry manure governance. *Research of Agricultural Modernization*, 42(2): 232–241. [赵玥, 李翠霞, 2021. 畜禽粪污治理政策演化研究. *农业现代化研究*, 42(2): 232–241.]
- Zhao YX, Sun XY, 2010. Spectroscopic Identification of Organic Molecule Structures. Beijing: Science Press. 5–83. [赵瑶兴, 孙祥玉, 2010. 有机分子结构光谱鉴定. 北京: 科学出版社. 5–83.]