



Groei, voederconversie, afvalreductie en samenstelling van BSF larven

Proef BSF swill September-Oktober 2017

Radius Thomas More en Lab4food KULeuven

Verslag: Lotte Froominckx, Mik Van Der Borght &
Laurens Broeckx

Uitvoering: Lotte Froominckx, Kim Vekemans & Laurens
Broeckx

Contactpersoon: lotte.froominckx@thomasmore.be



Interreg 
EUROPESE UNIE
Vlaanderen-Nederland
Europees Fonds voor Regionale Ontwikkeling

entomo **SPEED**

1 Beschrijving

Swill is een mix van restaurant en supermarktafval, opgehaald in bioboxen door Renewi en ontpakt en vermalen. Verkennende proeven hebben reeds aangetoond dat larven van de zwarte soldatenvlieg hier goed op kunnen groeien. In deze proef willen we nagaan wat de groei, voederconversie en samenstelling is van de larven gekweekt op swill, al dan niet ingedikt met kuikenmeel.

2 Literatuurstudie

Voederregime:

In de literatuur worden verschillende voederregimes teruggevonden. Gaande van 4,3 tot 200 mg (nat gewicht) voeder per larve per dag.

12,5, 25, 50, 100 en 200 mg/larve/dag (Diener, Zurbrugg, & Tockner, 2009)

20 kg/16000 larve verspreidt over 15 dagen => 83 mg/larve/dag (Tschirner & Simon, 2015)

4, 8, 16, 32 en 64 mg PKM (palm kernel meal => obv DM, DM is $\pm 92\%$!)/larve/dag. Nat dus (Caruso, Devic, Subamia, Talamond, & Baras, 2013)

Densiteit larven:

Densiteit van de larven varieert van 0,5 larven per cm^2 tot 6,7 larven per cm^2 .

200 larven in $14 \times 7 = 98 \text{ cm}^2$ => 2,04 larve / cm^2 (Diener et al., 2009)

16000 larven in $40 \times 60 \text{ cm}$ => 6,7 larve / cm^2 (Tschirner & Simon, 2015)

100 larven in $17,8 \times 11,4 = 202,9 \text{ cm}^2$ => 0,5 larve/ cm^2 (Oonincx, Van Broekhoven, Van Huis, & van Loon, 2015)

3 Proefopzet

3.1 Experimentele proefopzet

Zwarte soldatenvlieg larven van 8 dagen oud werden bekomen uit de kweek van Thomas More Hogeschool en gekweekt op kuikenmeel (60% vochtigheid, AVEVE, startmeel voor kuikens 259). Elke behandeling (drie herhalingen per behandeling) bevatte ongeveer 400 larven (bepaald o.b.v. gewicht) in een bakje van 15*9*6,5 cm (l*b*h, opp. 135 cm²). Hierdoor hadden de larven een 'densiteit' van 2,96 larven per cm². Er werd gefaseerd gevoederd met als voederregime 100 mg/larve/dag. Omgerekend dus 40 g per bakje per dag. Als behandeling werd er 35% droge stof kuikenmeel, 40% droge stof kuikenmeel, 20% droge stof swill, 30% droge stof swill, 35% droge stof swill en 40% droge stof swill gebruikt. Het droge stofgehalte van het kuikenmeel werd aangepast door toevoeging van water, voor het droge stofgehalte van de swill aan te passen werd er kuikenmeel gebruikt om in te dikken (verhouding swill-kuikenmeel: zie bijlage 1). 20% droge stof kuikenmeel en 30% droge stof kuikenmeel konden niet als behandeling gebruikt worden, omdat de larven uit de bakjes kropen bij dit substraat (zie bijlage 2). Swill werd bij -20°C bewaard en voor toediening op kamertemperatuur gebracht. Kuikenmeel en swill 'mixen' werden elke dag vers gemaakt. Er werd dagelijks bijgevoerd tot de eerste prepopen zichtbaar waren. Larven werden gekweekt bij een temperatuur van ±27°C en relatieve vochtigheid van ±66% RV (zie bijlage 3). Dagelijks werd het gewicht van 10 larven per object afgewogen, tot de eerste prepopen verschenen in het object. Als de eerste prepopen in het object verschenen, werden al de larven uit deze proef gescheiden van het resterende frass. Totale eindgewicht (droog en nat) van de larven en frass werd bepaald. De samenstelling van de larven en het resterende frass werd ingevroren bij -20°C en onderzocht door KU Leuven.

3.2 Chemische analyse

3.2.1 Lyofilisatie

De lyofilisatiebuizen worden gereinigd en gedroogd, waarna ze gewogen worden. De buizen worden gevuld met de larven van de zwarte soldatenvlieg, het substraat of het residu en worden opnieuw gewogen. De lyofilisatiebuizen worden vervolgens bevestigd aan het lyofilisatiestoel. Voor substraten en residuen is dit gedurende 48 h. in het geval van de larven worden ze 24 h gevriesdroogd, waarna ze gemalen worden. Hierna worden de larven opnieuw gedurende 48 h gevriesdroogd. De flessen worden nu opnieuw gewogen, waarna alle monsters vermalen worden in een snijmolen. De monsters zijn nu klaar voor verdere analyses.

$$\text{verwijderd vocht (\%)} = \left(1 - \frac{m_{\text{buis na lyofilisatie}} - m_{\text{buis}}}{m_{\text{buis met verse insecten}} - m_{\text{buis}}}\right) \cdot 100 (\%) \quad \text{Formule 2.1}$$

3.2.2 Bepaling droge stof- en vochtgehalte

Zie: Lenaerts, S., Van Der Borgh, M., Callens, A., & Van Campenhout, L. (2018). Suitability of microwave drying for mealworms (*Tenebrio molitor*) as alternative to freeze drying: Impact on nutritional quality and colour. *Food chemistry*, 254, 129-136.

3.2.3 Bepaling vetgehalte

Zie: Lenaerts, S., Van Der Borgh, M., Callens, A., & Van Campenhout, L. (2018). Suitability of microwave drying for mealworms (*Tenebrio molitor*) as alternative to freeze drying: Impact on nutritional quality and colour. *Food chemistry*, 254, 129-136.

3.2.4 Bepaling van het asgehalte

Zie: Lenaerts, S., Van Der Borgh, M., Callens, A., & Van Campenhout, L. (2018). Suitability of microwave drying for mealworms (*Tenebrio molitor*) as alternative to freeze drying: Impact on nutritional quality and colour. *Food chemistry*, 254, 129-136.

3.2.5 Bepaling van het proteïnegehalte

Zie: Lenaerts, S., Van Der Borgh, M., Callens, A., & Van Campenhout, L. (2018). Suitability of microwave drying for mealworms (*Tenebrio molitor*) as alternative to freeze drying: Impact on nutritional quality and colour. *Food chemistry*, 254, 129-136.

3.2.6 Bepaling van het chitinegehalte

Zie: Fombong, F., Van Der Borgh, M., & Vanden Broeck, J. (2017). Influence of freeze-drying and oven-drying post blanching on the nutrient composition of the edible insect *Ruspolia differens*. *Insects*, 8(3), 102.

3.2.7 Bepaling van het ruw vezelgehalte

Vooraleer onderstaande procedure uitgevoerd kan worden, dienen eerst de vermalen en gevriesdroogde monsters ontvet te worden. Daarom wordt eerst een Soxhlet-extractie uitgevoerd (zie punt 3.2.2) en wordt met deze monsters verder gewerkt. Van het monster wordt 1 g tot op 0,0001 g nauwkeurig afgewogen en in een 250 mL rondbodempkolf gebracht. Hieraan wordt 1 g Celiet® 545 toegevoegd als filtreerhulpmiddel. Deze Celiet wordt vooraf reeds 4 h gedroogd in de moffeloven (Nabertherm) op 500 °C. Hieraan wordt 150 mL kokend 0,13 M zwavelzuur toegevoegd, samen met enkele druppels *n*-octaan als antischuimmiddel, waarna dit verwarmd wordt in een refluxopstelling. De vloeistof wordt op 5 ± 2 minuten aan de kook gebracht, waarna exact 30 minuten krachtig gekookt wordt. De inhoud wordt dan gefiltreerd doorheen een porositeit 4 glazen filterkroes (10 – 16 µm poriëgrootte). Het residu op de filter wordt vervolgens 3 keer gewassen met kokend water. Tussen elke wasbeurt wordt het residu volledig droog gezogen. Het residu wordt dan kwantitatief overgebracht naar een 250 mL rondbodempkolf, waarna 0,23 M kaliumhydroxide en enkele druppels *n*-octaan worden toegevoegd. De vloeistof wordt weer in 5 ± 2 minuten aan de kook gebracht, waarna opnieuw exact 30 minuten krachtig gekookt wordt. Er wordt opnieuw gefiltreerd en 3 keer nagewassen met kokend water. Het droog gezogen residu in de filterkroes wordt vervolgens 3 keer gewassen met 25 mL aceton (technische kwaliteit). De filterkroes wordt dan in de droogstoof (Memmert) op 130 °C geplaatst tot constante massa wordt bereikt. Hierbij wordt de filterkroes telkens afgekoeld in de exsiccator, waarna snel gewogen wordt. De filterkroes wordt dan in de moffeloven (Nabertherm)

geplaatst gedurende minimum 30 minuten bij 500 °C, waarbij de inhoud verast wordt tot constante massa wordt bereikt. Eerst wordt de filterkroes afgekoeld op de keramieken plaat en dan overgebracht naar de exsiccator waar de kroes afkoelt tot kamertemperatuur, waarna dit gewogen wordt. Het massaverlies dat bekomen wordt na verassing is de massa aan ruwe celstof in het monster.

$${}^1\text{Ruw vezelgehalte (\%)} = 100\% \cdot \frac{m_{\text{ruwe vezels}} \cdot (100 - \%vet)}{\%DS_{\text{ontvet staal}} \cdot m_{\text{ontvet staal}}} \quad \text{Formule 2.11}$$

¹op basis van droge stof

3.2.8 Bepaling van het koolhydraatgehalte

Zie: Fombong, F., Van Der Borght, M., & Vanden Broeck, J. (2017). Influence of freeze-drying and oven-drying post blanching on the nutrient composition of the edible insect *Ruspolia differens*. *Insects*, 8(3), 102.

3.3 Berekeningen en statistiek

Voor de berekeningen van de voederconversie wordt gebruik gemaakt van formules zoals beschreven in (Scriber & Slansky, 1981).

$B = (I-F)-M$
B =voeder gebruikt voor groei (massa dat larven aankomen)
I = ingested food (voeder gegeven tijdens experiment)
F = residu (frass en niet-geconsumeerd voeder)
M = gemetaboliseerd voeder (wordt berekend)
$M = (I+F)+B$

Voederconversie droog:
$I \text{ (droge stof)} / B \text{ (droge stof)}$
Voederconversie nat:
$I \text{ (nat)} / B \text{ (nat)}$
Efficiency of conversion of digested food (ECD):
$ECD \text{ (droge stof)} = B / (I-F)$
Efficiency of conversion of ingested food (ECI):
$ECI \text{ (droge stof)} = B / I$

Voor het berekenen van de afvalreductie werd er gebruik gemaakt van volgende formule (Diener et al., 2009; Rehman et al., 2017):

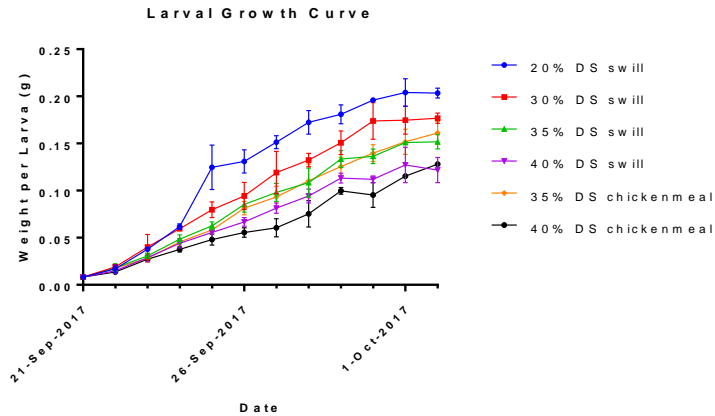
Waste Reduction Index (WRI)
$WRI = D/t * 100$
$D = (W - R) / W = (I - F) / I$
W=I (=voeder gegeven tijdens experiment)
R=F (=frass en niet-geconsumeerd voeder)

4 Verwachte output proef

- Groeicurve van BSF op onderzochte substraten
- Voederconversie op onderzochte substraten (nat en droog)
- Invloed samenstelling substraat op larven en frass

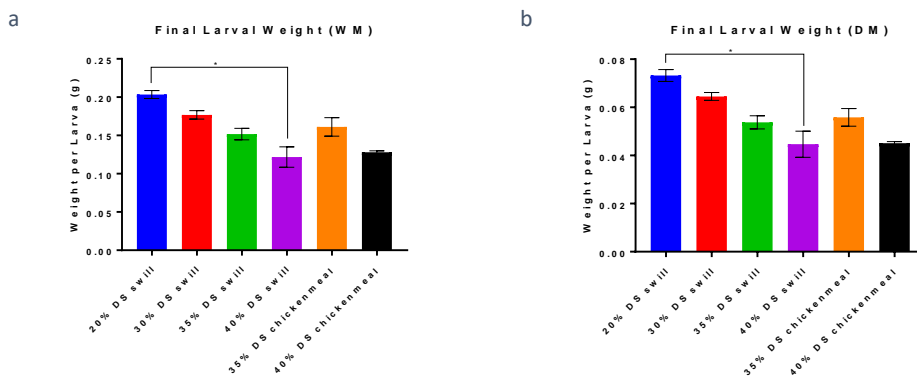
5 Resultaten

5.1 Groeicurve larven:



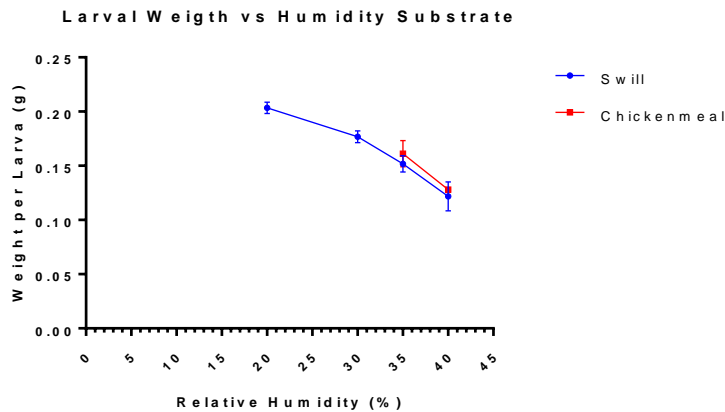
Figuur 1 Larvale groei op swill en kuikenmeel. Foutbalken staan voor standaard fout (n=3).

Larven gekweekt op 20% droge stof swill kwamen gedurende het experiment meer aan dan larven gekweekt op de andere substraten (figuur 1 en figuur 2). 40% droge stof kuikenmeel als substraat geeft de slechtste groei. Er is geen significant verschil (Kruskal-Walis, Dunns als post hoc test, $p > 0.5$) in eindgewicht tussen de verschillende substraten bij eenzelfde vochtgehalte. Voor eenzelfde substraat is er wel significant verschil (Kruskal-Walis, Dunns als post hoc test) tussen het eindgewicht voor larven gekweekt op 20% DS swill en 40% DS swill.



Figuur 2 Eindgewicht larven (nat(a) en droog(b)) gekweekt op swill en kuikenmeel. Foutbalken staan voor standaard fout (n=3). *= $p < 0.5$, Kruskal-Walis en Dunn's post hoc test.

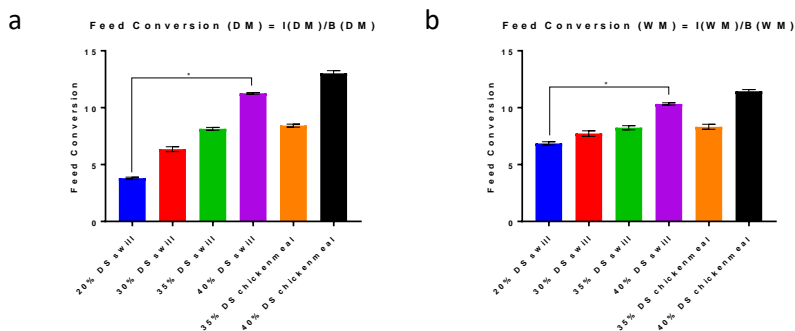
Er lijkt vooral een correlatie te zijn in groei en vochtgehalte substraat, zoals ook te zien wanneer vochtgehalte tegenover eindgewicht wordt geplot (figuur 3).



Figuur 3 Larvaal eindgewicht ten opzicht van de relatieve vochtigheid voor larven gekweekt op swill en kuikenmeel.

5.2 Voederconversie

De voederconversie werd berekend door het voeder gegeven tijdens de proef te delen door de massa dat de larven aankwamen tijdens de proef. Dit werd zowel op natte als op droge stofbasis berekend (figuur 4).

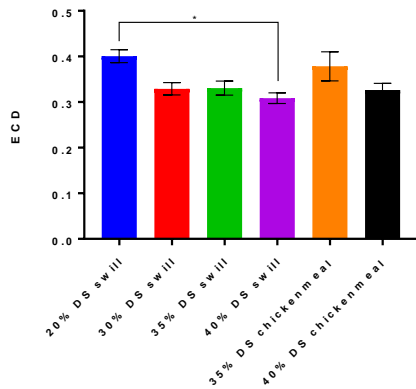


Figuur 4 Voederconversie voor larven gekweekt op swill en kuikenmeel o.b.v. droge (a) en natte (b) massa. Foutbalken staan voor standaard fout (n=3). $*=p<0.5$, Kruskal-Walis en Dunn's post hoc test.

Zowel natte- als op droge stofbasis is de voederconversie het laagste voor 20% droge stof swill en het hoogste voor 40% droge stof swill. Er is geen significant verschil (Kruskal-Walis, Dunns als post hoc test, $p>0.5$) in voederconversie tussen de verschillende substraten bij eenzelfde vochtgehalte. Voor eenzelfde substraat is er wel significant verschil (Kruskal-Walis, Dunns als post hoc test) tussen de voederconversie voor larven gekweekt op 20% DS swill en 40% DS swill.

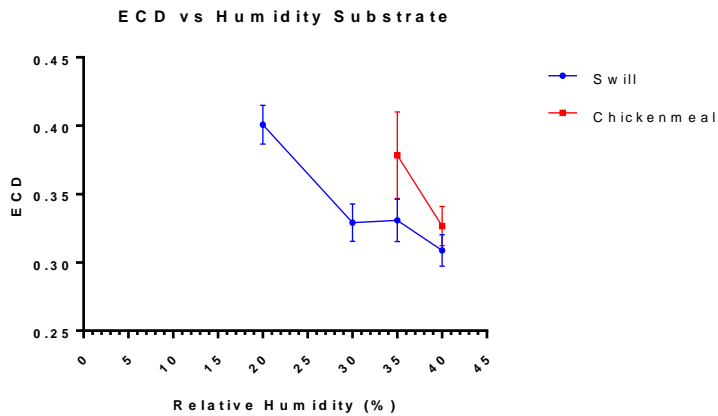
In tegenstelling tot de voederconversie geeft de 'efficiëntie van conversie van verteerd voeder (ECD)' een beter beeld van de 'verteerbaarheid' van het substraat (figuur 5). Dit ligt het hoogste bij 20% DS swill en 35% droge stof kuikenmeel. Er is geen significant verschil (Kruskal-Walis, Dunns als post hoc test, $p>0.5$) in ECD tussen de verschillende substraten bij eenzelfde vochtgehalte. Voor eenzelfde substraat is er wel significant verschil (Kruskal-Walis, Dunns als post hoc test) tussen de ECD voor larven gekweekt op 20% DS swill en 40% DS swill.

Efficiency of conversion of digested food (ECD = B / (I-F)) DM



Figuur 5 Efficiëntie van conversie van verteerd voeder obv droge massa. Voor larven gekweekt op swill en kuikenmeel. Foutbalken staan voor standaard fout (n=3). * = p < 0.5, Kruskal-Walis en Dunn's post hoc test.

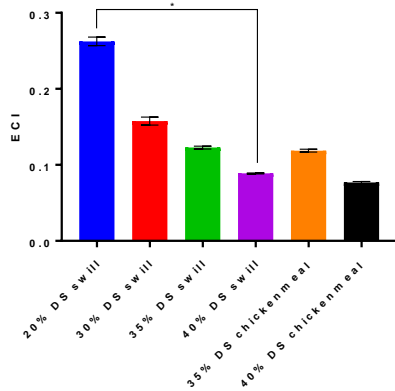
Wanneer vochtgehalte tegenover eindgewicht wordt geplott lijkt er ook het vochtgehalte van het substraat weer een belangrijke factor te zijn voor de ECD (figuur 6).



Figuur 6 ECD ten opzicht van de relatieve vochtigheid voor larven gekweekt op swill en kuikenmeel.

De efficiëntie van conversie van opgenomen voeder (ECI) geeft is in principe het omgekeerde van de voederconversie en geeft eveneens een idee hoe efficiënt opgenomen voeder werd omgezet in lichaamsgewicht. Dit ligt het hoogste bij larven gekweekt op 20% DS swill (figuur 7). Er is geen significant verschil (Kruskal-Walis, Dunns als post hoc test, p > 0.5) in ECI tussen de verschillende substraten bij eenzelfde vochtgehalte. Voor eenzelfde substraat is er wel significant verschil (Kruskal-Walis, Dunns als post hoc test) tussen de ECI voor larven gekweekt op 20% DS swill en 40% DS swill. Ook hier is de correlatie met het vochtgehalte van het substraat duidelijk zichtbaar.

Efficiency of conversion of ingested food (ECI=B/I) DM

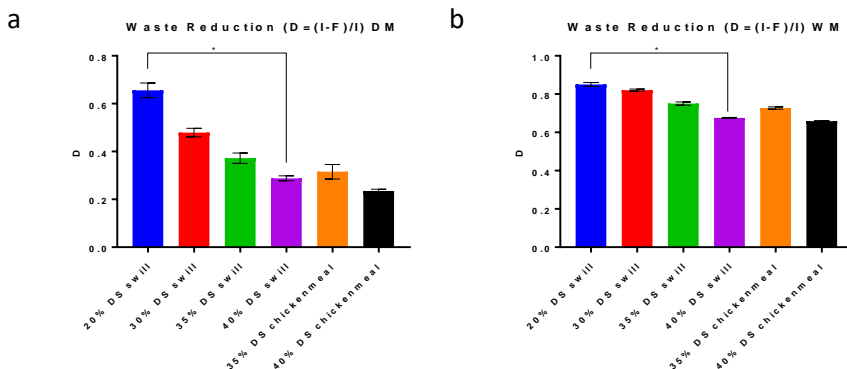


Figuur 7 Efficiëntie van conversie van opgenomen voeder voor larven gekweekt op swill en kuikenmeel. Foutbalken staan voor standaard fout (n=3). * $p < 0.5$, Kruskal-Walis en Dunn's post hoc test.

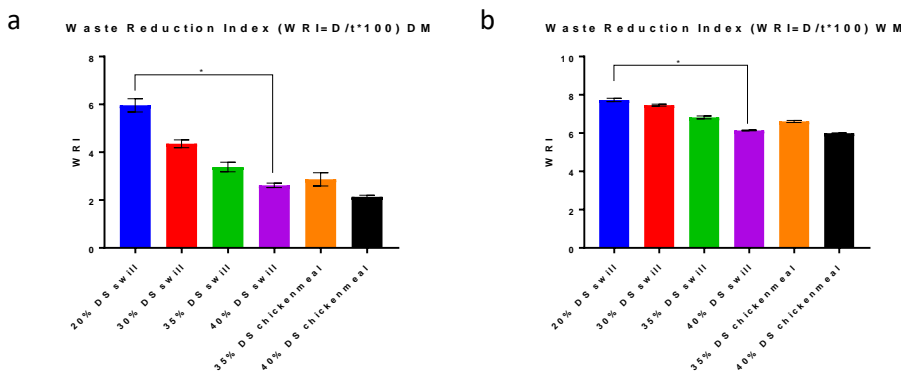
5.3 Afvalreductie

Naast de groei van de larven op het substraat is ook de reductie van het substraat zelf een belangrijke factor wanneer er gekeken wordt naar 'verwerking van afval door de zwarte soldatenvlieg'. Daarom werd naast voederconversie ook de afvalreductie berekend.

Zowel de afvalreductie (D, degradatie, figuur 8) als de afvalreductie index (WRI, figuur 9) berekend.



Figuur 8 Afvalreductie voor larven gekweekt op swill en kuikenmeel obv droge (a) en natte (b) massa. Foutbalken staan voor standaard fout (n=3). * $p < 0.5$, Kruskal-Walis en Dunn's post hoc test.



Figuur 9 Afvalreductie Index voor larven gekweekt op swill en kuikenmeel obv droge (a) en natte (b) massa. Foutbalken staan voor standaard fout (n=3). *= $p < 0.5$, Kruskal-Walis en Dunn's post hoc test.

Er is geen significant verschil (Kruskal-Walis, Dunns als post hoc test, $p > 0.5$) in afvalreductie tussen de verschillende substraten bij eenzelfde vochtgehalte. Voor eenzelfde substraat is er wel significant verschil (Kruskal-Walis, Dunns als post hoc test) tussen de afvalreductie voor larven gekweekt op 20% DS swill en 40% DS swill. Ook hier is de correlatie met het vochtgehalte van het substraat duidelijk zichtbaar.

5.4 Nutritionele samenstelling van de substraten, larven en residuen

5.4.1 Samenstelling van de substraten

Bij een voederproef werden zwarte soldatenvlieglarven gevoed met 6 verschillende substraten. Per substraat werden 3 biologische replica's uitgevoerd. Van zowel het substraat, de larven als het residu werd tijdens deze stage de nutritionele samenstelling bepaald om vervolgens de invloed van substraatveranderingen op de larven en het residu te onderzoeken. In *Tabel 1* staan de benamingen van de gebruikte substraten weergegeven en hoe deze werden samengesteld. Er werd gebruik gemaakt van 20%, 30%, 35% en 40% droge stof. Bij swill werd het droge stofgehalte aangepast door indikking met kuikenmeel. Bij gebruik van enkel kuikenmeel werd het gewenste droge stofgehalte bekomen door aan te lengen met water.

Tabel 1: De samenstelling van de substraten waarop de insecten werden gekweekt. De hoeveelheden swill en kuikenmeel staan weergegeven op natte stofbasis (Frooninckx, 2018).

Substraat	Hoeveelheid kuikenmeel (%)	Hoeveelheid swill ¹ (%)	Hoeveelheid water (%)
20% DS swill	0	100	-
30% DS swill	13	87	-
35% DS swill	20	80	-
40% DS swill	27	73	-
35% DS kuikenmeel	39	0	61
40% DS kuikenmeel	44	0	56

¹Swill is een mengsel van supermarkt- en restaurantafval (zie inleiding).

De nutritionele samenstelling van swill en kuikenmeel werd telkens in triplo bepaald, waarna het gemiddelde en de standaarddeviatie werden berekend. De resultaten staan weergegeven in onderstaande tabel.

Tabel 2: De nutritionele samenstelling van swill en kuikenmeel weergegeven als gehalten in % op basis van droge stof (gemiddelde van 3 metingen \pm standaarddeviatie).

	Swill	Kuikenmeel
*Droge stof	21,32 \pm 0,20	88,38 \pm 0,35
Vet	10,70 \pm 0,12	6,07 \pm 0,03
Proteïne	19,88 \pm 0,33	21,20 \pm 0,06

As	6,07±0,06	5,55±0,05
Ruwe vezel	7,72±0,17	5,18±0,05
Koolhydraat	55,54±0,20	61,98±0,30

*Op basis van verse massa.

De gebruikte substraten werden niet bewaard, aangezien ze per voederbeurt opnieuw aangemaakt werden. Daarom werd de samenstelling van de mengsels berekend aan de hand van de nutritionele samenstelling van swill en kuikenmeel. De berekende samenstellingen van de substraten worden weergegeven in *Tabel 3*.

In *Tabel 3* wordt zichtbaar dat de nutritionele samenstellingen bij 20%, 30%, 35% en 40% DS (droge stof) swill behoorlijk verschillen van elkaar, vanwege de toevoeging van kuikenmeel voor het indikken van de swill. Bij 35% en 40% DS kuikenmeel wordt enkel aangelengd met water, waardoor de nutritionele samenstelling (op het vochtgehalte na) gelijk is. De reële droge stofgehalten komen relatief goed overeen komen met de benamingen van de substraten. De proteïne- en koolhydraatgehalten nemen toe bij hogere droge stofgehalten van swill en zijn het hoogst bij kuikenmeel. De vet-, as- en ruwe vezelgehalten daarentegen nemen af bij hogere droge stofgehalten van swill en zijn het laagst bij kuikenmeel.

Tabel 3: De nutritionele samenstelling van de substraten weergegeven als gehalten in % op basis van de droge stof (gemiddelde van 3 metingen ± standaarddeviatie).

	20%DS SWILL	30%DS SWILL	35%DS SWILL	40%DS SWILL	35%DS KM	40% DS KM
*Droge stof	21,32±0,20	30,41±0,18	35,30±0,17	40,20±0,17	35,58±0,14	40,15±0,15
Vet	10,70±0,12	8,89±0,12	8,30±0,12	7,86±0,12	6,07±0,03	6,07±0,03
Proteïne	19,88±0,33	20,40±0,34	20,56±0,34	20,69±0,34	21,20±0,06	21,20±0,06
As	6,07±0,06	5,87±0,08	5,80±0,08	5,75±0,08	5,55±0,05	5,55±0,05
Ruwe vezel	7,72±0,17	6,73±0,18	6,40±0,18	6,16±0,18	5,18±0,05	5,18±0,05
Koolhydraat	55,54±0,20	58,07±0,36	58,88±0,36	59,49±0,36	61,98±0,30	61,98±0,30

* Op basis van verse massa.

5.4.2 Samenstelling van de larven

In *Tabel 4* wordt de nutritionele samenstelling van de zwarte soldatenvlieglarven weergegeven die gekweekt werden op bovenstaande substraten.

Tabel 4: De nutritionele samenstelling van zwarte soldatenvlieglarven gekweekt op de verschillende substraten. De gehalten worden weergegeven op basis van droge stof als gemiddeldes van 3 biologische replica's in % ± standaarddeviatie.

	20%DS SWILL	30%DS SWILL	35%DS SWILL	40%DS SWILL	35%DS KM	40% DS KM
*Droge stof	36,00±0,30	36,49±0,21	35,44±0,49	36,64±0,51	34,66±0,38	35,23±0,31
Vet	46,12±1,18	49,48±0,25	49,62±1,20	52,36±1,43	50,87±1,52	52,08±0,84
Cor. vet	36,84±0,62	42,22±1,02	42,32±0,98 ¹	43,22±0,91	43,34±1,24 ¹	43,00±0,66 ¹
Proteïne	43,58±0,60	45,11±0,48	44,45±0,54	42,86±0,50	45,12±0,53	45,25±0,95
Cor. proteïne	40,69±0,50	42,63±0,45	41,93±0,65	40,43±0,59	42,95±0,57	42,77±0,96
As	7,12±0,21	5,98±0,01	5,84±0,07	5,44±0,08	5,46±0,12	5,60±0,47
Chitine	6,72±0,32	5,76±0,19	5,87±0,26	5,64±0,24	5,06±0,17	5,77±0,04
Koolhydraat	8,63±1,22	3,41±1,48	4,05±1,44	5,27±1,34	3,19±1,83	2,87±1,66

Cor. proteïne = Gecorrigeerd proteïnegehalte; Cor. vet = gecorrigeerd vetgehalte. ¹Herrekend vetgehalte; *Op basis van verse massa.

De droge stofgehaltenes van de zwarte soldatenvlieglarven liggen bij alle substraten tussen 34,66% en 36,64%. Het vochtgehalte van de larven blijft dus relatief constant bij de verschillende substraten. Er viel op dat de vetgehaltenes uitzonderlijk hoog waren (tot 52% op basis van droge stof) in vergelijking met gegevens uit de literatuur en analyses die in het verleden werden uitgevoerd in het labo. Een mogelijke reden hiervoor is dat niet alle petroleumether en/of water verwijderd was na indampen aan de rotavapor en dat hierdoor een overschatting van het vetgehalte gebeurde. Dit werd nagegaan, door de vetbepaling opnieuw uit te voeren en na indampen aan de rotavapor de kolven met vet een uur in de droogstoof op 105 °C te plaatsen. De hierna bekomen vetgehaltenes waren beduidend lager en komen beter overeen met de vroeger bekomen gehaltenes. Ze worden in Tabel 4 weergegeven als 'gecorrigeerd vetgehalte'.

De reden voor de lagere resultaten ligt waarschijnlijk aan de ingebruikname van een nieuwe rotavapor, waarbij de druk aangepast kan worden. Na een paar testen werd er verondersteld dat na 15 minuten op 400 mBar, gevolgd door 15 minuten op 260 mBar alle petroleumether/water verwijderd zou zijn. Dit bleek dus niet het geval te zijn.

Een probleem was echter dat een nieuwe vetbepaling enkel mogelijk was voor de larven gekweekt op 20% DS swill, 30% DS swill en 40% DS swill. Van de andere larvenstalen was er geen monster meer beschikbaar om herhalingen uit te voeren. Er werd daarom nagegaan of er een verband was tussen het oude en het nieuwe bekomen vetgehalte. Er werd een exponentieel verband aangetoond bij de 3 herhalingen, waarmee vervolgens de vetgehaltenes van de larven gekweekt op 35% DS swill, 35% DS KM en 40% DS KM herrekend werden (weergegeven met ¹ in Tabel 4). Wat meteen opvalt is dat het gecorrigeerd vetgehalte bij larven gekweekt op 20% DS swill aanzienlijk lager ligt dan bij de andere substraten. Bij de andere substraten werd telkens een gecorrigeerd vetgehalte bekomen tussen 42,22% en 43,22%.

Het proteïnegehalte van de larven werd bepaald door het totaal stikstofgehalte, bepaald via de Kjeldahlmethode, te vermenigvuldigen met een proteïnefactor van 6,25, die bij veel voedingsmiddelen wordt gebruikt. Over deze factor wordt momenteel echter gediscussieerd. Uit de literatuurstudie bleek dat volgens Janssen *et al.* (2017) deze proteïnefactor lager ligt bij insecten, namelijk in de buurt van 4,76. Wanneer deze factor wordt gebruikt, liggen de eiwitgehaltenes bij de larven 24% lager. In dit eindwerk wordt de factor 6,25 toch gehanteerd, vermits de nieuwe proteïnefactor nog maar 1 keer vermeld werd in de literatuur.

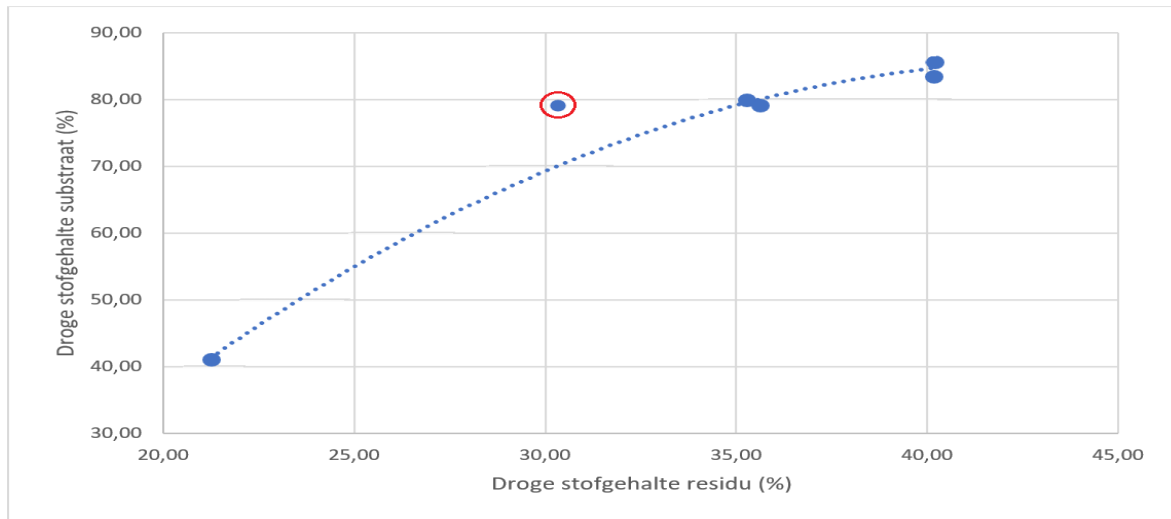
Door de stikstof afkomstig van het chitine af te trekken van het totaal stikstofgehalte, wat bepaald werd via de Kjeldahlmethode, en dan te vermenigvuldigen met de proteïnefactor van 6,25 wordt het gecorrigeerd proteïnegehalte bekomen (weergegeven als Cor. Proteïne in Tabel 4). Het procentueel verschil tussen het ruw proteïnegehalte en het gecorrigeerd proteïnegehalte bedraagt gemiddeld 5,97%, wat overeen komt met resultaten uit een literatuurstudies (Spranghers *et al.*, 2016). In dit eindwerk wordt gebruik gemaakt van het gecorrigeerde proteïnegehalte.

De as- en chitinegehaltenes bij de larven lijken te dalen bij een toenemend droge stofgehalte.

De koolhydraatgehaltenes werden niet experimenteel bepaald, maar werden berekend op basis van het vetgehalte, het gecorrigeerd proteïnegehalte, het asgehalte en het chitinegehalte. Bij het koolhydraatgehalte accumuleren dus ook alle meetfouten. Daarnaast is deze waarde ook onderhevig aan de hierboven beschreven problematiek van de proteïnefactor. Het gebruik van een proteïnefactor van 4,76 in plaats van 6,25 zou niet enkel resulteren in een lager proteïnegehalte, maar ook in een beduidend hoger koolhydraatgehalte.

5.4.3 Samenstelling van de residuen

De droge stofgehalten van de residuen zijn vanwege uitdroging van het substraat en door larvale activiteit verhoogd (Zie Tabel 5). Er is een verband terug te vinden tussen het droge stofgehalte van het residu en het substraat, zoals zichtbaar in *Figuur 10*. Alleen ligt het droge stofgehalte bij 30% DS swill ongeveer even hoog als bij 35% DS swill en kuikenmeel. Dit betekent dat het substraat bij 30% DS swill na het experiment relatief gezien harder was uitgedroogd dan de andere substraten.



Figuur 10: Het droge stofgehalte van het substraat in functie van het droge stofgehalte van het residu.

Tabel 5: De nutritionele samenstelling van het residu afkomstig van de verschillende substraten. De gehalten worden weergegeven als gemiddeldes van 3 biologische replica's in % \pm standaarddeviatie op basis van droge stof.

	20%DS SWILL	30%DS SWILL	35%DS SWILL	40%DS SWILL	35%DS KM	40% DS KM
*Droge stof	41,13 \pm 3,31	79,25 \pm 1,20	79,93 \pm 1,64	83,49 \pm 0,24	79,24 \pm 0,25	85,63 \pm 0,36
Vet	1,81 \pm 0,21	1,47 \pm 0,07	1,30 \pm 0,06	1,47 \pm 0,08	0,86 \pm 0,02	1,01 \pm 0,04
Proteïne	20,39 \pm 0,02	27,08 \pm 0,41	25,49 \pm 0,36	24,30 \pm 0,21	24,72 \pm 0,32	24,13 \pm 0,39
Stikstof	3,26 \pm 0,00	4,33 \pm 0,07	4,08 \pm 0,06	3,89 \pm 0,03	3,96 \pm 0,05	3,86 \pm 0,06
As	15,57 \pm 0,16	10,13 \pm 0,41	8,38 \pm 0,40	7,11 \pm 0,11	7,13 \pm 0,20	6,76 \pm 0,38
Ruwe vezel	23,43 \pm 0,35	13,99 \pm 0,35	11,26 \pm 0,60	9,24 \pm 0,35	7,77 \pm 0,43	7,34 \pm 0,27
Koolhydraat	38,77 \pm 0,26	47,31 \pm 1,07	53,56 \pm 0,88	57,87 \pm 0,44	59,52 \pm 0,69	60,76 \pm 0,70

*Op basis van verse massa.

De vetgehalten in de residuen zijn allemaal gelegen tussen 0,86% en 1,81%, wat relatief laag is en erop duidt dat vetten in grote mate worden opgenomen uit het substraat.

Het residu dat overblijft na de insectenweek bevat niet-verteerde voederresten, frass (of insectenmest), dode larven en exoskeletten. De frass bevat onder meer ureum, ammoniak, urinezuur, allantoïne en allantoïnezuur, terwijl de dode larven en exoskeletten chitine bevatten. Deze stoffen bevatten allemaal stikstof en worden mee bepaald bij een Kjeldahl-analyse. Het is dan ook verkeerd om over "proteïnegehalte" te spreken in dit geval, vandaar de vermelding "stikstof" in *Tabel 5*.

Bij een toename aan droge stofgehalte van de substraten wordt wel een verlaging van het asgehalte waargenomen in het residu.

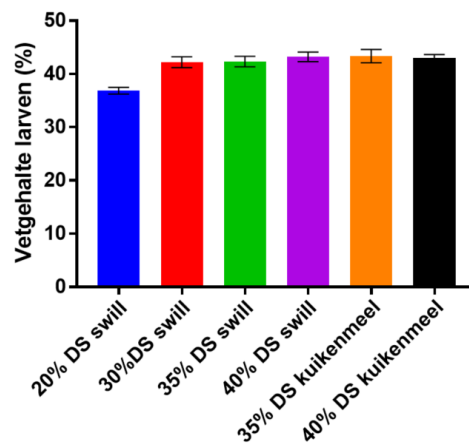
Het ruw vezelgehalte van het residu dient ook genuanceerd te worden. Zoals reeds hierboven vermeld, bevat het residu ook chitine, afkomstig van de vervellingen, van de dode larven en mogelijk ook van schimmels aanwezig op de ontbindende substraten. Deze chitine zal ook deels mee bepaald worden als ruwe vezels. Bijgevolg zijn de ruwe vezelgehalten bij de residuen overschattingen van de effectieve waarden. Wel is een daling zichtbaar, naargelang het droge stofgehalte toeneemt.

De koolhydraatgehalten werden berekend op basis van het vetgehalte, het 'proteïnegehalte', het asgehalte en het ruw vezelgehalte. Aangezien zowel het proteïne- als het ruw vezelgehalte niet erg accuraat zijn, moet het koolhydraatgehalte met een korrel zout genomen worden. Er is wel een toename van het koolhydraatgehalte zichtbaar bij toenemend droge stofgehalte van het residu.

Hoewel deze gegevens nuttig zijn om mogelijke toepassingen van het residu als meststof of bodemverbeteraar te bestuderen, is het in dit onderzoek de bedoeling om na te gaan in welke mate de verschillende nutriënten opgenomen werden uit het substraat door de zwarte soldatenvlieglarven. Hier wordt in het volgende deel dieper op ingegaan.

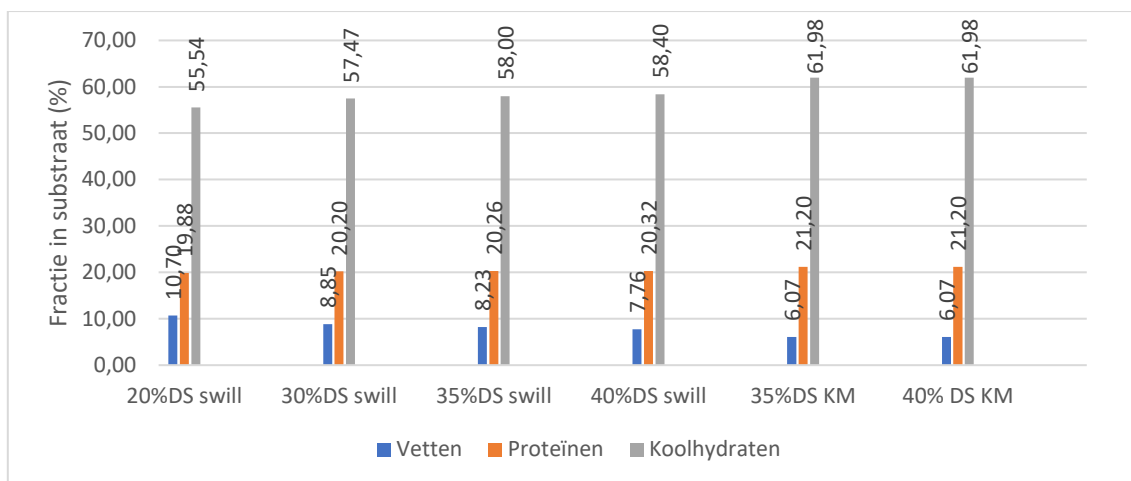
5.5 Invloed van de substraatsamenstelling op het vetgehalte van de larven

Het vetgehalte van de zwarte soldatenvlieglarven wordt beïnvloed door allerlei factoren, zoals de fase van de ontwikkeling van de larven, het vet-, proteïne-, koolhydraat- en mogelijk ook het vochtgehalte van het substraat. Daarom is het zinvol om deze factoren na te gaan bij de verschillende substraten om zo veranderingen in vetgehalten te kunnen verklaren. In onderstaande figuur wordt het vetgehalte van de zwarte soldatenvlieglarven uitgezet in functie van de verschillende substraten.



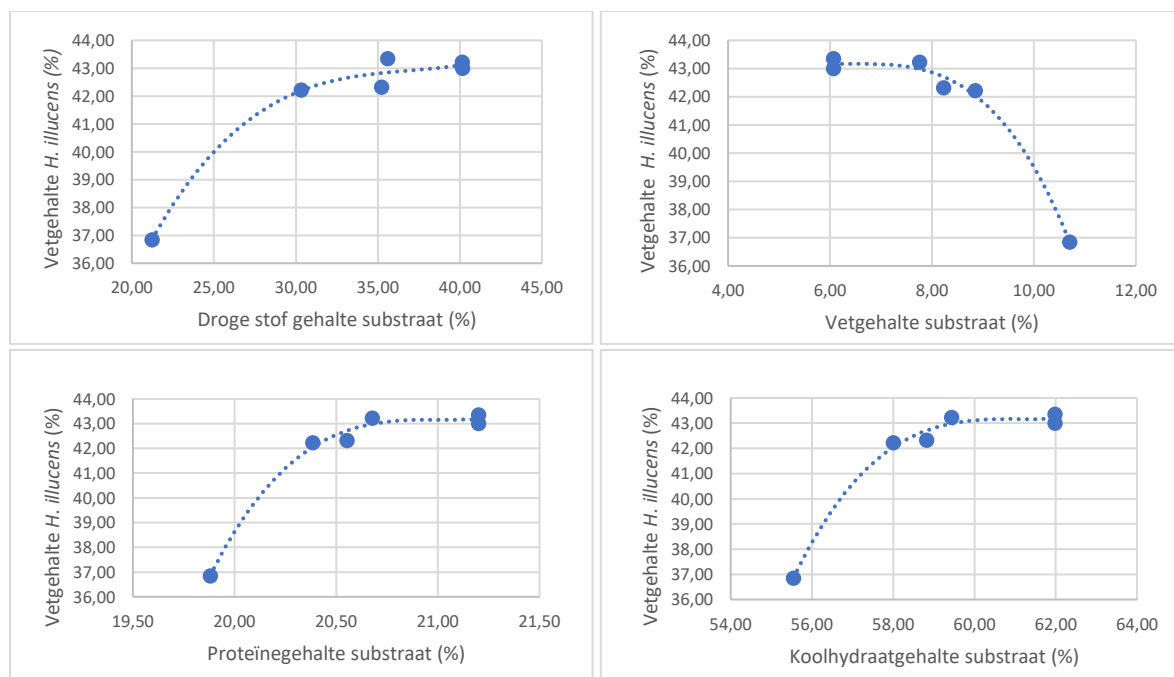
Figuur 11: Gemiddelde vetgehalten op basis van droge stof van zwarte soldatenvlieglarven in functie van de verschillende substraten met als foutbalken de standaarddeviaties.

Na toepassen van de Kruskal-Wallistest blijkt er enkel een significant verschil vastgesteld wordt tussen het vetgehalte bij 20% DS swill en bij 40% DS kuikenmeel. De bekomen p-waarden voor 20% DS swill en de overige percentages DS swill zijn echter ook klein (vb. p-waarde 20% swill-40% swill 0,13), wat er op wijst dat hier mogelijk toch sprake is van een werkelijk verschil, zij het nog niet voldoende groot om statistisch significant te zijn. Het feit dat ook de residusamenstelling bij 20%DS swill sterk verschilt van de andere substraten staft het vermoeden dat er voor 20%DS swill wel degelijk een verschillend vetgehalte wordt bekomen, meer bepaald een lager vetgehalte. De substraatsamenstelling blijkt hier dan toch van belang. In onderstaande figuur wordt voorgesteld in welke mate het vet-, proteïne- en koolhydraatgehalte varieert in de verschillende substraten.



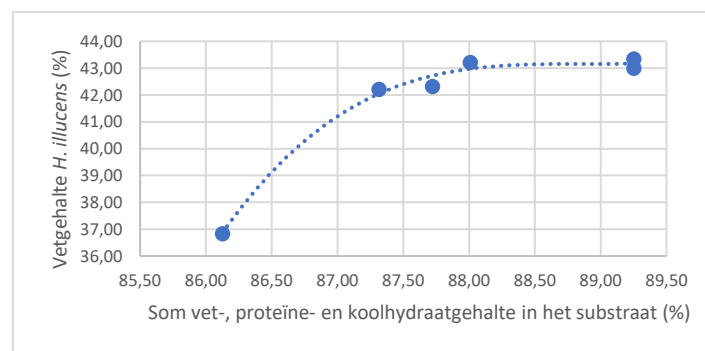
Figuur 12: De fractie aan vetten, proteïnen en koolhydraten in de substraten op basis van droge stof.

Zoals zichtbaar in *Figuur 12* is het vetgehalte van het substraat het hoogst bij 20% DS swill en het laagst bij 35% en 40% kuikenmeel. Doordat in de literatuur is aangetoond dat een hoger vetgehalte van het substraat op basis van droge stof resulteert in een hoger vetgehalte van de larven is het merkwaardig om een stijging van het vetgehalte bij de larven te zien bij een afnemend vetgehalte in het substraat. Dit betekent dat ook andere factoren een impact hebben op het vetgehalte van de larven. Het koolhydraatgehalte is het laagst bij 20% DS swill en het hoogst bij 35% en 40% kuikenmeel. Dit stijgend koolhydraatgehalte kan een reden zijn voor een verhoging in vetgehalte bij de larven. Het proteïnegehalte daarentegen verschilt niet veel bij de verschillende substraten, maar dit is ook het laagst bij 20% DS swill en het hoogst bij 35% en 40% kuikenmeel. In onderstaande grafieken wordt daarom het droge stof-, vet-, proteïne- en koolhydraatgehalte uitgezet in functie van het vetgehalte van de larven.



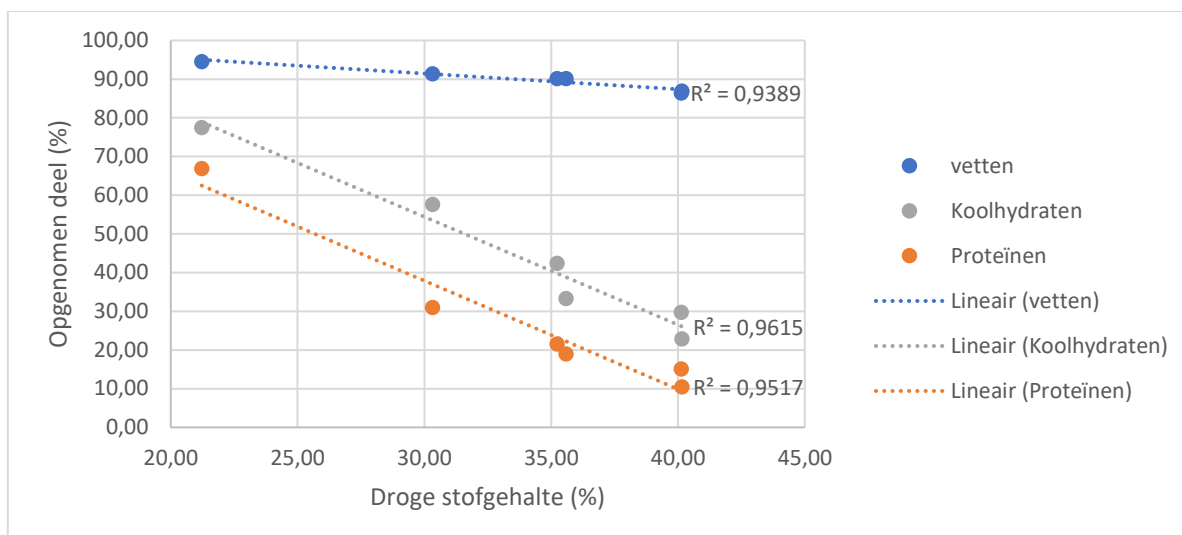
Figuur 13: Het droge stof-, vet-, proteïne- en koolhydraatgehalte van het substraat ten opzichte van het vetgehalte bij de larven (alle gehalten op basis van droge stof).

Uit *Figuur 13* blijkt dat de grafieken die het droge stof-, proteïne- en koolhydraatgehalte van het substraat in functie van het vetgehalte van de larven beschrijven, gelijkaardig verlopen. Bij een stijgend droge stof-, proteïne- en koolhydraatgehalte stijgt het vetgehalte van de larven. Wanneer het vetgehalte van het substraat echter stijgt, daalt het vetgehalte van de larven. De reden hiervoor is dat de substraten zijn samengesteld op basis van mengsels aan swill en kuikenmeel met welbepaalde gehalten en verhoudingen aan nutriënten. Of m.a.w. wanneer bijvoorbeeld 80% van substraat A vermengd wordt met 20% van substraat B, zal zowel het vet-, proteïne- als koolhydraatgehalte voor 80% afhankelijk zijn van substraat A en voor 20% van substraat B. Hierdoor is verhoudingsgewijs de afstand tussen 2 punten op de grafiek in functie van het vetgehalte van de larven gelijk voor zowel het vet-, proteïne- als koolhydraatgehalte van de larven. Dit maakt het zeer moeilijk om de afzonderlijke invloed van deze nutriënten in het substraat op het vetgehalte van de larven te bepalen. In feite is het zinvoller om de som van het vet-, proteïne- en koolhydraatgehalte van het substraat uit te zetten in functie van het vetgehalte van de larven, zoals weergegeven in *Figuur 14*.



Figuur 14: Het vetgehalte van de zwarte soldatenvlieglarven in functie van de som van het vet-, proteïne- en koolhydraatgehalte van het substraat (telkens op basis van de droge stof).

In *Figuur 14*, waarin het vetgehalte van de larven wordt uitgezet in functie van de som van het vet-, proteïne- en koolhydraatgehalte in het substraat, wordt quasi dezelfde grafiek bekomen als deze van het vetgehalte van de larven in functie van het vet-, proteïne- en koolhydraatgehalte in het substraat. Hierdoor kan besloten worden dat het indikken van swill met kuikenmeel het een bijna onmogelijke opgave maakt om een verandering in vetgehalte bij de larven toe te schrijven aan een verandering in ofwel het vet-, proteïne- of koolhydraatgehalte in het substraat. De voornaamste vraag is dan nog of de verandering van het larvale vetgehalte bij 20% DS swill ten opzichte van de andere substraten te wijten is aan het vochtgehalte, de nutritionele samenstelling van het substraat, of aan een meetfout. Een meetfout is hier echter zeer onwaarschijnlijk. Bij het niet-gecorrigeerde vetgehalte was deze waarde ook al het laagst. Daarnaast gebeurde deze meting in triplo, waarbij telkens deze lagere waarde bekomen werd. Tot slot wanneer teruggekeken wordt naar *Tabel 3.5* waarin de residusamenstelling wordt weergegeven, worden bij 20% DS swill ook veel lagere proteïne- en koolhydraatgehalten gemeten dan bij de andere substraten. Dit geeft een indicatie dat de larven hier in andere mate nutriënten uit het substraat hebben opgenomen, wat kan resulteren in een verschil in vetgehalte bij de larven zelf. Om een beter zicht hierop te krijgen, is het nuttig om in beeld te brengen welk deel van de totale massa vet, proteïnen en koolhydraten uit het substraat werd opgenomen door de larven. Aan de hand van de analyses op de substraten en het residu kan berekend worden in welke mate verschillende nutriënten opgenomen worden door de zwarte soldatenvlieglarven. Zo worden de opgenomen fracties vet, proteïnen en koolhydraten uitgezet ten opzichte van het droge stofgehalte van het substraat, zoals weergegeven wordt in *Figuur 15*.



Figuur 15: Het opgenomen deel vet, proteïnen en koolhydraten uit het substraat in functie van het droge stofgehalte van het substraat.

Door op deze manier de resultaten te verwerken, worden opmerkelijke resultaten bekomen. Er lijkt namelijk een verband te zijn tussen het vochtgehalte van het substraat en de mate waarin vetten, proteïnen en koolhydraten opgenomen worden. Dit fenomeen werd nog niet beschreven in andere werken over *Hermetia illucens*. De mate waarin vetten, proteïnen en koolhydraten gemetaboliseerd worden, blijkt het hoogst te zijn bij een hoog vochtgehalte en neemt af bij een toename in droge stofgehalte (en dus bij afname van het vochtgehalte).

Opmerkelijk is dat vetten in zeer grote mate opgenomen worden, namelijk tussen 86,49% en 94,54%. Proteïnen worden slechts voor $\pm 10\%$ opgenomen bij een droge stofgehalte van 40% en voor maar liefst 66,87% bij een 20% droge stofgehalte. Koolhydraten worden bij 40% droge stofgehalte slechts voor $\pm 25\%$ opgenomen en bij 20% droge stofgehalte voor maar liefst 77,44%. Dit betekent dat bij een toenemend vochtgehalte (of afnemend droge stofgehalte) van het substraat zowel de mate waarin vetten, proteïnen en koolhydraten opgenomen worden stijgt. Daarnaast is opvallend dat vetten bij alle droge stofgehaltes goed worden opgenomen, maar dat proteïnen en koolhydraten daarentegen in zeer kleine mate worden opgenomen bij een laag vochtgehalte van het substraat en in grote mate worden opgenomen bij een hoog vochtgehalte van het substraat. Wanneer de resultaten van swill met een 20% en 40% droge stofgehalte vergeleken worden, blijkt dat bij het 20% droge stof swill 9% meer vetten, 442% meer proteïnen en 261% meer koolhydraten worden opgenomen uit het substraat dan bij 40% droge stof swill.

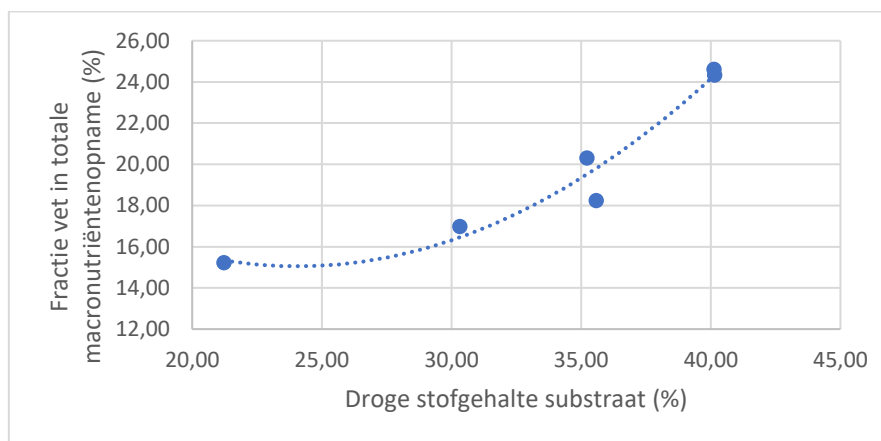
Er kan echter de hypothese gesteld worden dat het verschil in opgenomen deel vet, proteïnen en koolhydraten niet te wijten is aan het droge stofgehalte van het substraat, maar wel aan de totale massa aan vetten, proteïnen en koolhydraten in het substraat. Het is namelijk zo dat het droge stofgehalte niet gelijk is bij de verschillende substraten, wat betekent dat de totale massa's aan macronutriënten die beschikbaar zijn voor de larven, ook verschillen afhankelijk van het droge stofgehalte van het substraat. Eenzelfde natte massa van een substraat met een droge stofgehalte van 20%, zal 50% minder macronutriënten bevatten dan eenzelfde massa van dat substraattypet met 40% droge stofgehalte. Wanneer echter de totale massa aan vet in de verschillende substraten bepaald wordt, zoals weergegeven in Tabel 6, blijken alle substraten een totale vetmassa te hebben tussen 9,21 g en 13,46 g. Ondanks het verschil in droge stofgehaltes bij de substraten, varieert hier de totale massa aan vetten niet sterk doordat swill een vetgehalte heeft van 10,70% op basis van droge stof en

kuikenmeel een vetgehalte heeft van 6,07% op basis van droge stof. Wanneer gekeken wordt naar *Tabel 6*, valt op dat bij substraten met eenzelfde vochtgehalte het opgenomen deel vet goed overeen komt. Daarnaast wordt in *Figuur 15* zichtbaar gemaakt dat er een lineair verband terug te vinden is tussen het opgenomen deel vetten, proteïnen en koolhydraten in functie van het droge stofgehalte van het substraat. Ook blijkt uit *Tabel 6* dat de totale massa aan vet in het substraat geen enkele correlatie vertoont met de mate waarin macronutriënten worden opgenomen. Hierdoor kan gesteld worden dat daadwerkelijk het droge stofgehalte van het substraat en niet de totale massa aan vet in het substraat een invloed heeft op de mate waarin macronutriënten uit het substraat opgenomen worden door de larven.

Tabel 6: De totale massa aan vet en het opgenomen deel vet bij de verschillende substraten.

	Totale massa aan vet in substraat (g)	Opgenomen deel vet (%)
20%DS SWILL	10,04	94,54
30%DS SWILL	11,69	91,38
35%DS SWILL	12,57	90,12
40%DS SWILL	13,46	86,42
35%DS KM	9,21	90,12
40% DS KM	10,39	86,92

De reden van het lagere vetgehalte van zwarte soldatenvlieglarven gekweekt op 20% DS swill, kan biochemisch verklaard worden. Hoewel bij 20% DS swill procentueel gezien het grootste deel van de vetten is opgenomen, is hier de fractie aan vetten in de totale macronutriëntenopname het kleinst. Dit komt doordat bij 20% swill ook 67% van de proteïnen en 77% van de koolhydraten werden opgenomen. De fractie van vetten in de totale macronutriëntenopname wordt weergegeven in *Figuur 16*.



Figuur 16: De fractie aan vet in de totale macronutriëntenopname in functie van het droge stofgehalte van het substraat.

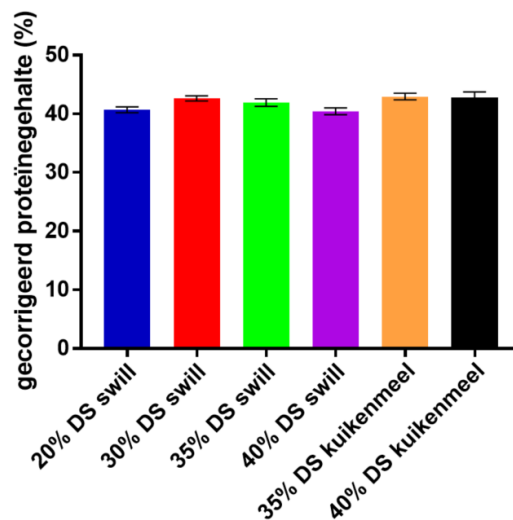
Dit betekent dat bij lagere droge stofgehaltes het metabolisme voor een kleiner deel bestaat uit de opname van vetten en voor een groter deel uit de opname van proteïnen en koolhydraten. Vetten in het substraat worden gemakkelijk omgezet naar vetten bij de larven, aangezien ze enkel moeten afgebroken worden tot vetzuren, om vervolgens terug omgezet te worden naar vetten. Proteïnen kunnen ook gebruikt worden voor de aanmaak van vetten, maar dit proces is inefficiënt (Little, 2017). Proteïnen moeten hiervoor eerst afgebroken worden tot aminozuren, dan omgezet worden tot acetyl-CoA en kunnen vervolgens gebruikt worden voor de vetsynthese. Het proteïnogeen stikstof moet echter verwijderd worden onder de vorm van bijvoorbeeld urinezuur of ureum. Dit kost energie, wat

de inefficiëntie van de omzetting van proteïnen naar vetten verklaart. Tot slot worden koolhydraten in het substraat na de glycolyse ook omgezet naar acetyl-CoA en om vervolgens relatief gemakkelijk omgezet te worden naar vetten (*pathways* zie bijlages achteraan). Kort samengevat betekent dit dat de vetsynthese het efficiëntst gebeurt op basis van vetten en minder efficiënt uitgaande van koolhydraten en in het bijzonder proteïnen. Doordat bij 20% DS swill het metabolisme in vergelijking met de andere substraten minder gericht is op vetten, maar meer op proteïnen en koolhydraten, kan dit de verlaging in vetgehaltes bij de larven verklaren.

Op het eerste zicht lijkt het een vreemd verschijnsel dat het opgenomen deel vetten, proteïnen en koolhydraten stijgt bij een toenemend vochtgehalte van het substraat. Dit kan echter verklaard worden door het feit dat vochtig substraat gemakkelijker opgegeten wordt door de larven. Wat moeilijker te verklaren valt, is waarom de opname van proteïnen en koolhydraten harder beïnvloed wordt door het droge stofgehalte van het substraat dan de opname van vetten. Uit onderzoeken op andere insectensoorten is echter al gebleken dat insecten bij hoge vochtgehaltes geneigd zijn om te drinken (Rowley, 2007). Aangezien koolhydraten en proteïnen gedeeltelijk wateroplosbaar zijn, kan dit de reden zijn waarom bij hogere vochtgehaltes meer proteïnen en koolhydraten opgenomen worden dan bij lagere vochtgehaltes. Vet is niet wateroplosbaar, wat een verklaring kan zijn waarom het effect van vochtgehalte van het substraat meer uitgesproken is op de proteïne- en koolhydraatopname dan op de vetopname.

5.6 Invloed van de substratsamenstelling op het proteïnegehalte van de larven

Het proteïnegehalte van de zwarte soldatenvlieglarven wordt door verschillende factoren beïnvloed, zoals reeds beschreven in deel “1.2.3 Invloed van het proteïnegehalte van het substraat”. In onderstaande figuur worden de gecorrigeerde proteïnegehaltes van de larven weergegeven in functie van de verschillende substraten.

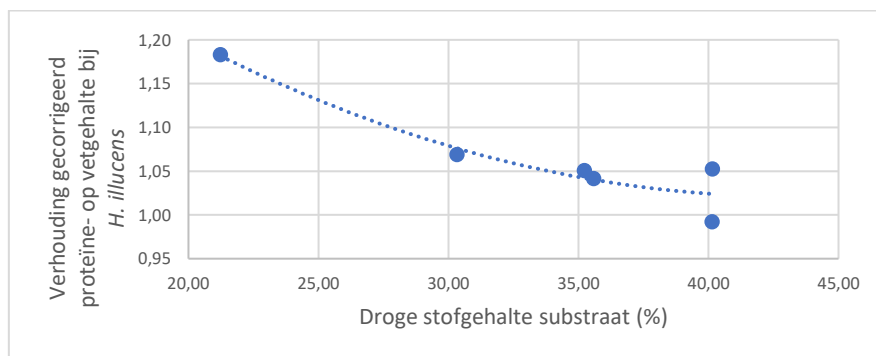


Figuur 17: Gemiddelde gecorrigeerde proteïnegehaltes op basis van droge stof van zwarte soldatenvlieglarven in functie van de verschillende substraten met als foutbalken de standaarddeviaties.

Wanneer deze proteïnegehaltes met elkaar vergeleken worden, wordt geen statistisch significant verschil waargenomen. Ook wanneer de proteïnegehaltes van de larven worden uitgezet in functie van het droge stof-, vet-, proteïne- of koolhydraatgehalte van het substraat worden geen eenduidige

verbanden teruggevonden. De proteïnegehaltenes in de substraten variëren nauwelijks, maar wanneer teruggekeken wordt naar *Figuur 15*, is wel zichtbaar dat bij lage droge stofgehaltenes van de substraten meer proteïnen worden opgenomen. Zelfs een verschillende mate aan proteïneopname heeft geen invloed op het proteïnegehalte van de larven. Samengevat heeft in deze studie zowel het proteïne- als het vochtgehalte van het substraat geen waarneembare invloed op het proteïnegehalte van de larven, al wordt bij de verschillende substraten wel een aanzienlijke verandering op vlak van proteïneopname geconstateerd. Mogelijk is de reden waarom geen effecten waargenomen worden op het proteïnegehalte van de larven dat alle substraten een overvloed aan proteïnen bevatten en hierdoor de overvloed aan proteïne voornamelijk gebruikt wordt als energiebron voor de larven in plaats van als bouwsteen. Vanwege de overvloed aan proteïnen hebben alle larven een relatief hoog proteïnegehalte. Alle larven hebben namelijk een proteïnegehalte tussen 42,86% en 45,25% en een gecorrigeerd proteïnegehalte van 40,43% tot 42,95%. De veronderstelling dat het proteïnegehalte in het substraat te hoog is kan gestaafd worden, wanneer gekeken wordt naar de 'proteïnegehaltenes' in het residu. Deze gehaltenes liggen tussen 20,39% en 27,08%. Er kan uiteraard gediscussieerd worden over het effectieve proteïnegehalte in het residu, aangezien hier ook de stikstof afkomstig van chitine van vervellingen en afvalstoffen zoals urinezuur en ureum bijgerekend worden. Het effectieve proteïnegehalte dient dus genuanceerd te worden, maar dit neemt niet weg dat deze waarden hoog zijn en allicht duiden op overvloed van proteïnen in het substraat.

Bij het gebruik van *Hermetia illucens* als proteïnebron in diervoeding, kan het interessant zijn om de verhouding van het proteïne- op vetgehalte van de larven te bekijken bij de verschillende vochtgehaltenes van het substraat waarop de larven werden gekweekt (zie *Figuur 18*). Het is dan ook interessant om vast te stellen dat bij 20% DS swill de verhouding van het proteïne- op vetgehalte bij de larven het hoogst is. Dit is te verwachten, aangezien het vetgehalte bij larven gekweekt op 20% DS swill het laagst is en de proteïnegehaltenes bij alle larven gelijkaardig zijn. De invloed van de substraatsamenstelling op het vetgehalte werd hierboven reeds besproken. De verhoudingen worden in deze studie dus in grote mate beïnvloed door het vetgehalte van de larven en in beperkte mate door het proteïnegehalte.



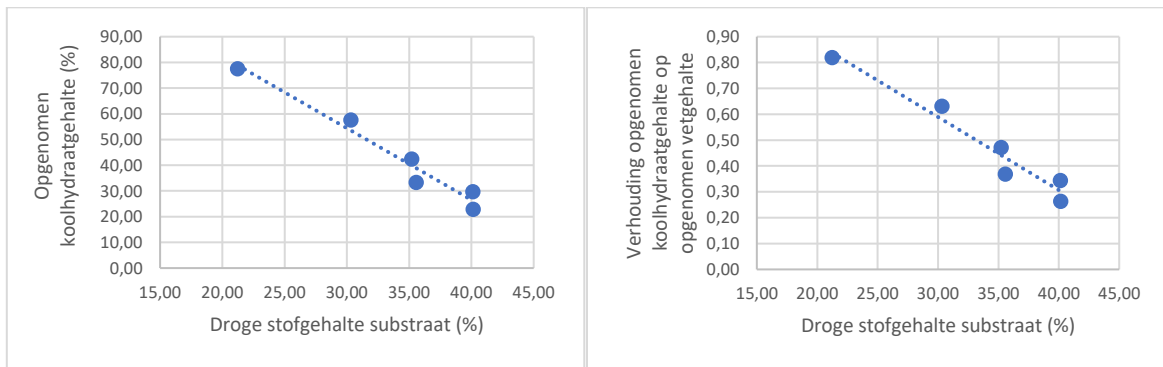
Figuur 18: De verhouding van het gecorrigeerd proteïnegehalte op het vetgehalte bij zwarte soldatenvlieglarven in functie van het droge stofgehalte van het substraat.

5.7 Invloed van de substraatsamenstelling op het koolhydraatgehalte van de larven

De koolhydraatgehaltenes van de larven variëren van 2,87% bij larven gekweekt op 40% DS kuikenmeel tot 8,63% bij 20% DS swill. Larven gekweekt op de andere substraten hebben zeer schommelende waarden tussen deze twee percentages en er zijn geen duidelijke verbanden vast te stellen tussen de substraatsamenstelling en de koolhydraatgehaltenes bij de larven. De belangrijkste reden hiervoor is dat

de koolhydraatgehaltes bij de larven laag zijn en tegelijkertijd worden bij de koolhydraatgehaltes alle meetfouten van de voorgaande bepalingen gecumuleerd. Zelfs een verzameling van kleine meetfouten zullen bij lage gehalten resulteren in grote relatieve standaarddeviaties. Hierdoor is het moeilijk om een uitspraak te doen over de invloed van substraatsamenstelling op de koolhydraatgehaltes van de larven.

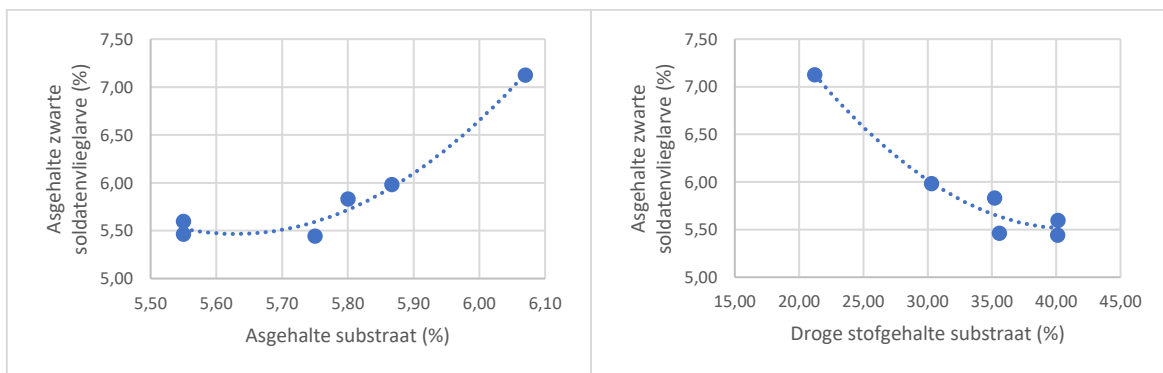
De mate waarin koolhydraten opgenomen worden door de larven blijkt te stijgen bij een dalend droge stofgehalte van het substraat, zoals weergegeven in *Figuur 19*. Wanneer gekeken wordt naar de verhouding van opgenomen koolhydraatgehalte op opgenomen vetgehalte, wordt opnieuw duidelijk gemaakt dat een verlaging in droge stofgehalte van het substraat als gevolg heeft dat koolhydraten in grotere mate worden opgenomen, terwijl vetten relatief gezien steeds minder worden opgenomen.



Figuur 19: Het opgenomen koolhydraatgehalte in functie van het droge stofgehalte van het substraat (links). De verhouding het opgenomen koolhydraatgehalte op het opgenomen vetgehalte in functie van het droge stofgehalte van het substraat (rechts).

5.8 Invloed van de substraatsamenstelling op het asgehalte van de larven

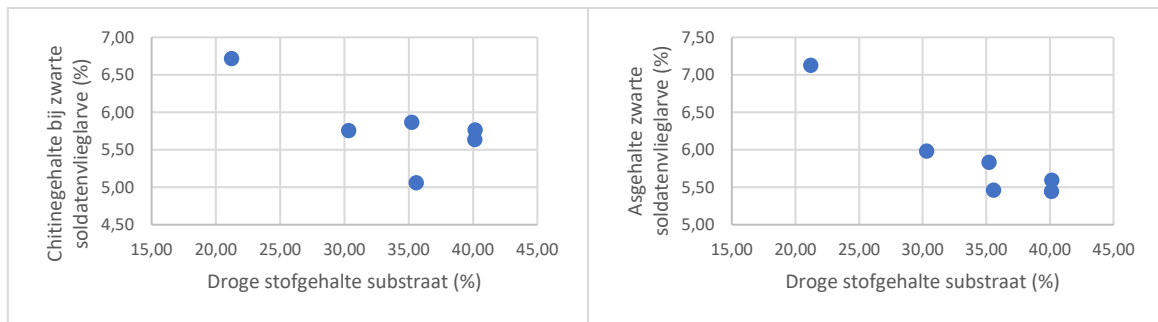
In onderstaande figuur wordt het asgehalte van de zwarte soldatenvlieglarven uitgezet in functie van het asgehalte van het substraat en in functie van het droge stofgehalte van het substraat. Het is echter moeilijk vast te stellen of de toename van het asgehalte bij de larven te wijten is aan het vochtgehalte of aan het asgehalte van de substraten.



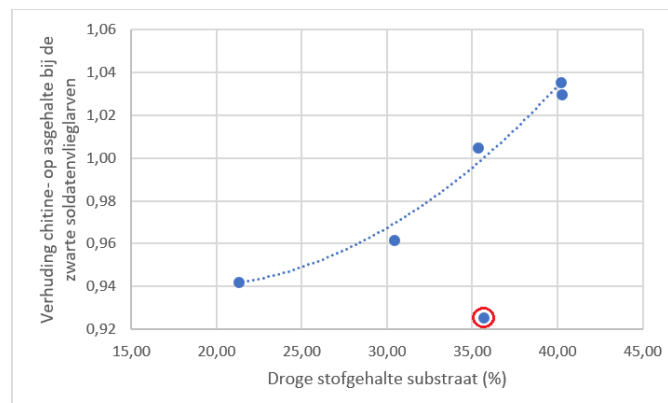
Figuur 20: Het asgehalte van zwarte soldatenvlieglarven in functie van het asgehalte van het substraat (links) en het asgehalte van deze larven in functie van het droge stofgehalte van het substraat (rechts).

Daarnaast wordt iets opmerkelijks waargenomen, wanneer de grafiek van het asgehalte van de larven in functie van het substraatvochtgehalte vergeleken wordt met deze van het chitinegehalte van de larven in functie van het substraatvochtgehalte, zoals weergegeven in *Figuur 21*. Deze omtrent het

chitinegehalte lijkt op een compacte versie van deze omtrent het asgehalte. Enkel het punt bij 5% chitine lijkt sterk uit te wijken. In *Figuur 22* wordt de verhouding van het chitinegehalte op het asgehalte van de larven genomen en uitgezet in functie van het droge stofgehalte. Wanneer dit eerder vernoemde punt wordt weggelaten, kan enigszins een verband teruggevonden worden. Dit is allicht te verklaren doordat mineralen grotendeels gestockeerd worden in de chitine. Dit is ook deels de reden waarom bij de chitinebepaling een zure destructie wordt uitgevoerd. Zo worden de mineralen in oplossing gebracht en worden ze vervolgens verwijderd. Doordat deze patronen zichtbaar zijn, bestaat de kans dat een hoger chitinegehalte bij de larven een grotere mineralenopslag bij de larven mogelijk maakt. Factoren welke zorgen voor een verhoging van het chitinegehalte bij zwarte soldatenvlieglarven kunnen bijgevolg mogelijk ook een invloed hebben op het asgehalte bij de larven.



Figuur 21: Het chitine- (links) en asgehalte (rechts) van de larven in functie van het droge stofgehalte van het substraat.



Figuur 22: De verhouding van het chitine- op asgehalte bij de zwarte soldatenvlieglarven in functie van het droge stofgehalte van het substraat.

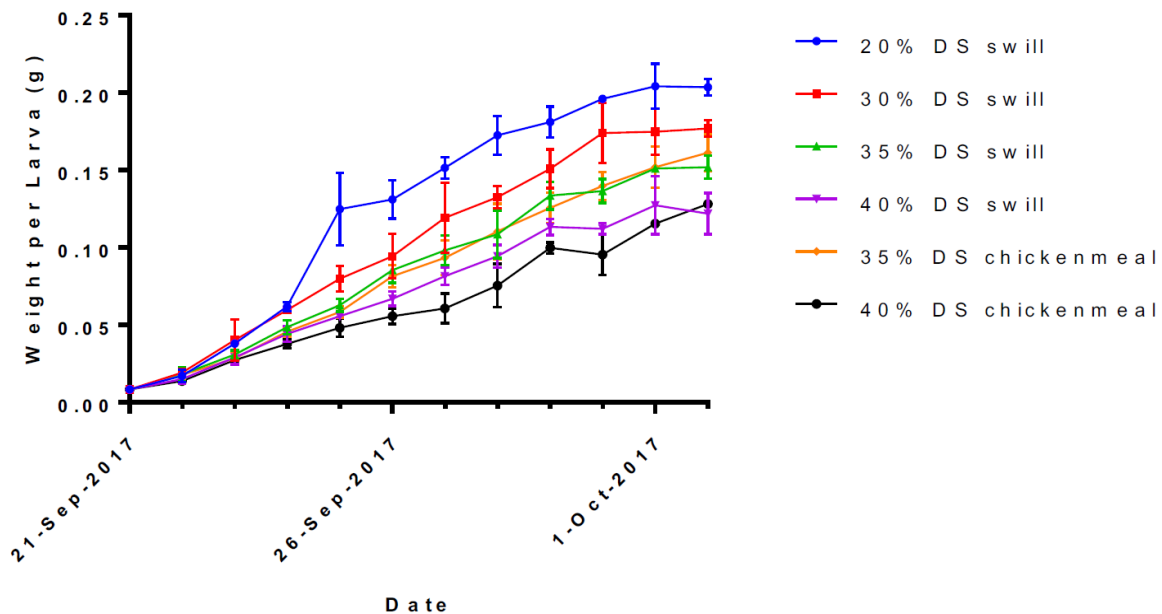
5.9 Invloed van de substraatsamenstelling op het chitinegehalte van de larven

Wanneer terug naar *Figuur 21* gekeken wordt, is een groot verschil in het chitinegehalte vast te stellen tussen de 2 punten welke dicht bij 35% gelegen zijn. Hierdoor kan niet met zekerheid gesteld worden dat het vochtgehalte van het substraat een invloed heeft op het chitinegehalte bij de larven. Minstens één andere factor (mogelijks genetisch) heeft invloed op het chitinegehalte bij de larven. Daarnaast is het chitinegehalte variabel doorheen de verschillende levensfasen. Na iedere vervelling verlaagt het chitinegehalte tijdelijk, aangezien het exoskelet wordt afgescheiden. Er wordt echter geen eenduidig verband aangetoond tussen het chitinegehalte en het vet-, proteïne-, koolhydraat-, as- of ruw vezelgehalte. Uit de *pathway* van de chitinesynthese bij insecten blijkt dat chitine uit het substraat ook kan gebruikt worden voor de chitinesynthese. Aangezien de celwand van schimmels ook is opgebouwd

uit chitine en swill deels ontbonden reststromen bevat, kunnen schimmels aanwezig in swill ook bijdragen tot een verhoging van het chitinegehalte. Op basis van dit onderzoek kan echter geen uitspraak gedaan worden over invloed van een welbepaalde parameter op het chitinegehalte van de larven.

5.10 Invloed van de levensfase op de nutritionele samenstelling van de larven

Een punt van aandacht is het effect van het vochtgehalte op de groeicurves van de larven. Er werd reeds aangetoond dat het substraatvochtgehalte een invloed heeft op de ontwikkelingsduur van *Hermetia illucens* (Cheng *et al.*, 2017). Daarnaast is gebleken dat de nutritionele samenstelling, in het bijzonder het vetgehalte, varieert naargelang de levensfase waarin het insect zich bevindt (Liu *et. al*, 2017). Dit is ook zichtbaar in *Tabel 2*. Daarnaast bestaat een typische groeicurve van de larven uit een steil stuk, een plateau fase en indien wordt doorgedaan tot aan het popstadium wordt deze plateau fase gevolgd door een daling. Deze daling wordt veroorzaakt door de massa-afname bij de larven door de energie, voornamelijk onder de vorm van vetten, die verbruikt wordt tijdens de overgang van pop naar adult. Wanneer de groeicurve van de gekweekte larven bekeken wordt, zoals in *Figuur 23* wordt weergegeven, blijkt dat de wegingen allemaal na eenzelfde tijd zijn stopgezet. Het is echter niet overtuigend dat alle larven die op verschillend substraten gekweekt werden, reeds de plateau fase bereikt hebben en dus in eenzelfde ontwikkelingsfase verkeren. Zeker bij 35% DS kuikenmeel en 40% DS kuikenmeel valt dit in twijfel te trekken. Door larven die in een verschillende levensfasen verkeren met elkaar te vergelijken, kan een verandering op vlak van vetgehalte ook te wijten zijn aan de invloed van de levensfase op de nutritionele samenstelling.



Figuur 23: De groei van de larven op de verschillende substraten uitgedrukt in natte massa van de larven. Resultaten worden weergegeven als gemiddelden ($n = 3$), de foutbalken geven de standaarddeviaties weer.

6 Discussie

Het opzet van deze proef was om de groei, voederconversie en de samenstelling van de larven te vergelijken tussen larven gekweekt op swill en larven gekweekt op kuikenmeel. Er kunnen hierbij verschillende parameters vergeleken worden zoals densiteit larven, klimaat, vochtigheid substraat en voederregime. Er werd gekozen om het effect van de vochtigheid van het substraat op de groei, voederconversie en de samenstelling van de larven te bestuderen. Larven van de zwarte soldatenvlieg worden vaak gekweekt op kuikenmeel met een vochtigheid van 60-70% als referentiesubstraat (Sheppard, Tomberlin, Joyce, Kiser, & Sumner, 2002). Kuikenmeel en swill hebben een verschillende vochtigheid. Daarom moest voor deze proef kuikenmeel verdund worden en swill ingedikt. Voor het verdunnen werd er water gebruikt, voor het indikken van de swill werd er gebruik gemaakt van kuikenmeel, dit om zo weinig mogelijk verschil in de proefopzet te brengen.

Bij de start van de proef werd het al meteen duidelijk dat substraat met eenzelfde vochtigheid maar verschillende samenstelling en verschillende textuur, toch een verschil in 'vrij water' vertoont. Zo kruipen larven weg uit 35% kuikenmeel, maar niet uit 35% swill. Er werd daarom nagegaan of er een verschil was in wateractiviteit van de verschillende substraten. Wateractiviteit is een maat voor de hoeveelheid vrij water. Hoe hoger de wateractiviteit, hoe meer vrij water. In deze proef was de wateractiviteit bij swill iets lager dan de wateractiviteit bij kuikenmeel bij een zelfde vochtgehalte, wat een verklaring zou kunnen zijn voor het verschillende gedrag van de larven bij het opstarten van de proef.

Wanneer de resultaten vergeleken worden met gelijkaardige proeven die teruggevonden worden in de literatuur lijkt de groei van de larven gelijkaardige resultaten te geven (Diener et al., 2009; Rehman et al., 2017). Echter de voederconversie (nat) scoort in deze proef opvallend slecht ten opzichte van gekende cijfers (Oonincx, Van Broekhoven, Van Huis, & Van Loon, 2015). ECI en ECD (droog) is dan weer vergelijkbaar (Diener et al., 2009; Oonincx, Van Broekhoven, Van Huis, & Van Loon, 2015). Dit betekent dat de larven tijdens deze proef meer voeder (nat) nodig hadden voor eenzelfde gewichtstoename. Voor de afvalreductie worden ook gelijkaardige resultaten als in de literatuur bekomen (Diener et al., 2009; Oonincx, Van Broekhoven, Van Huis, & Van Loon, 2015). Een mogelijke verklaring voor de afwijkende resultaten is een gebrek aan klimatisatie.

Volgende keer kan eenzelfde voederregime genomen worden maar kan effect van vochtigheid van het substraat beter bestudeerd worden door swill uit te laten drogen i.p.v. in te dikken met kuikenmeel zodoende de substraten beter te kunnen vergelijken. Ook is het interessant om doorheen de proef de vochtigheid en de wateractiviteit van de frass op te volgen. Op basis van deze resultaten kan er dan bepaald worden welke vochtigheden de beste resultaten geven om zo andere parameters zoals densiteit larven, klimaat, voederregime.

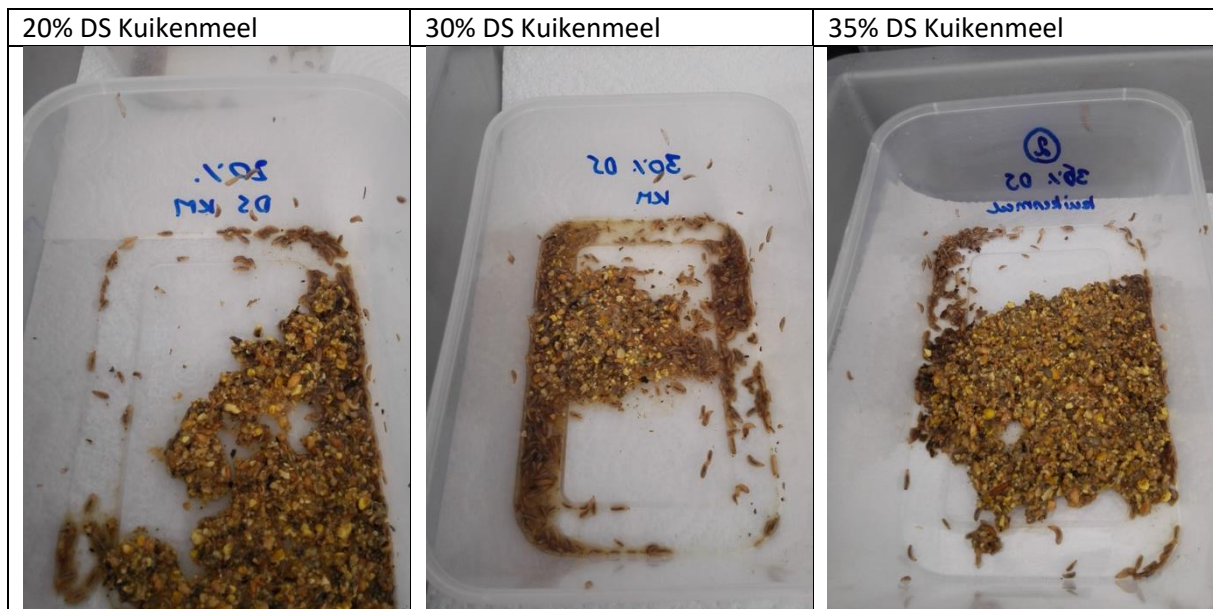
7 Bijlagen

7.1 Bijlage 1: verhouding swill-kuikenmeel

Wat	20% DS swill	30% DS swill	35% DS swill	40% DS swill
DS	20%	30%	35%	40%
% swill	102%	87%	80%	73%
% kuikenmeel	-2%	13%	20%	27%
Wat	20% DS kuikenmeel	30% DS kuikenmeel	35% DS kuikenmeel	40% DS kuikenmeel
Vochtgehalte	20%	30%	35%	40%
% kuikenmeel	22%	33%	39%	44%
% water	78%	67%	61%	56%

7.2 Bijlage 2: zwarte soldatenvlieg larven verlaten te vochtig substraat

Larven die toegevoegd werden aan 20%, 30% en 35% DS Kuikenmeel hadden de neiging om het substraat te verlaten. Bij 35% DS Kuikenmeel, 20% en 35% DS Swill kon voorkomen worden dat de larven ook uit de bakjes kropen door de bovenste 1,5 cm van de bakjes te coaten met teflon (Fluon®PTFE-30LX Insect Barrier, byFormica).

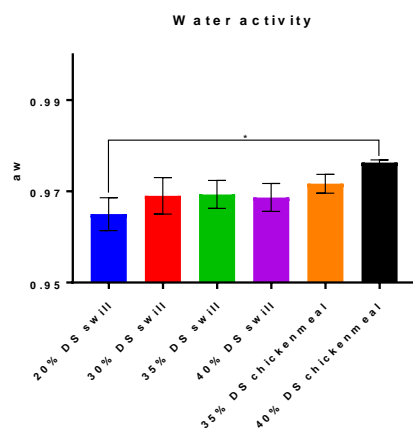


20% DS Swill	30% DS Swill
--------------	--------------



7.3 Bijlage 3: Wateractiviteit verschillende substraten

20% DS swill	30% DS swill	35% DS swill	40% DS swill	35% DS chicken meal	40% DS chicken meal
0,962	0,965	0,972	0,972	0,971	0,976
0,964	0,969	0,97	0,968	0,974	0,976
0,969	0,973	0,966	0,966	0,97	0,977

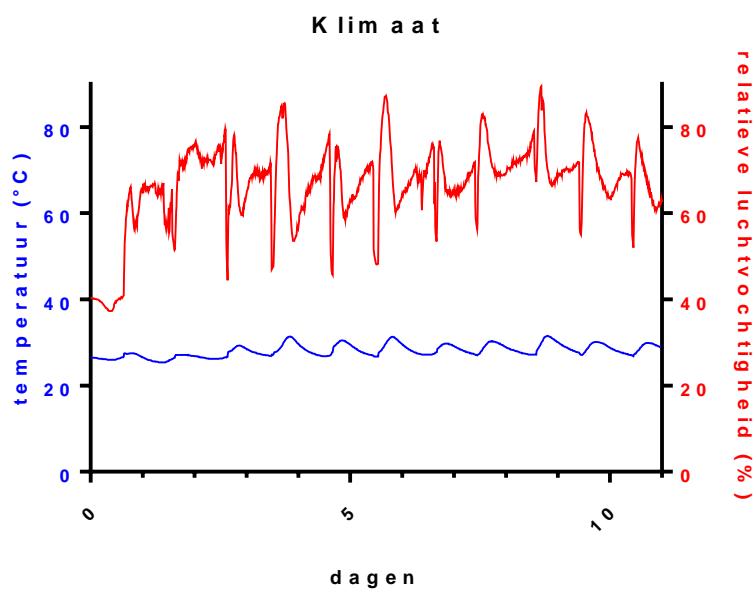


Figuur 24 Wateractiviteit voor swill en kuikenmeel. Foutbalken staan voor standaard fout (n=3). $*=p<0.5$, Kruskal-Walis en Dunn's post hoc test.

Er wordt opgemerkt dat de metingen van de wateractiviteit onverwachte resultaten geven. Voor eenzelfde substraat zouden we verwachten dat de wateractiviteit daalt wanneer we een droger substraat hebben. Tijdens de meting zagen we echter het omgekeerde.

7.4 Bijlage 4: Klimaatgegevens proef

Larven werden gekweekt bij een temperatuur van $\pm 27^{\circ}\text{C}$ en relatieve vochtigheid van $\pm 66\%$ RV. Tijdens deze proef was de incubator kapot en kon er enkel verwarmd worden via de elektrische verwarmingsinstallatie aanwezig in de container. Relatieve vochtigheid was hoger dan in de container door het gebruik van de vochtige substraten in de relatief kleine ruimte van de incubator.



Figuur 25 Temperatuur en relatieve luchtvochtigheid tijdens de proef

8 Literatuurstudie

- Caruso, D., Devic, E., Subamia, I. W., Talamond, P., & Baras, E. (2013). *Technical handbook of domestication and production of diptera Black Soldier Fly (BSF) Hermetia illucens, Stratiomyidae*.
- Diener, S., Zurbrugg, C., & Tockner, K. (2009). Conversion of organic material by black soldier fly larvae: establishing optimal feeding rates. *Waste Management & Research*, 27(6), 603–610. <https://doi.org/10.1177/0734242X09103838>
- Oonincx, 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), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144601>
- Oonincx, 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), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144601>
- Rehman, K. ur, Rehman, A., Cai, M., Zheng, L., Xiao, X., Somroo, A. A., ... Zhang, J. (2017). Conversion of mixtures of dairy manure and soybean curd residue by black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.). *Journal of Cleaner Production*, 154, 366–373. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.04.019>
- Scriber, J. M., & Slansky, F. (1981). The Nutritional Ecology of Immature Insects. *Annual Review of Entomology*, 26, 183–211.
- Sheppard, D. C., Tomberlin, J. K., Joyce, J. A., Kiser, B. C., & Sumner, S. M. (2002). Rearing Methods for the Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae). *J. Med. Entomol*, 39(4), 695–698. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-39.4.695>
- Tschirner, M., & Simon, A. (2015). Influence of different growing substrates and processing on the nutrient composition of black soldier fly larvae destined for animal feed. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1(1), 1–12. <https://doi.org/10.3920/JIFF2014.0008>
- Spranghers, T. Ottoboni, M. Klootwijk, C. Obyn, A. (2016). Nutritional composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on different organic waste substrates. *J. Sci. Food Agric.*, 97: 2594–2600. doi:10.1002/jsfa.8081
- Rowley, M., Hanson, F. (2007). Humidity Detection and Hygropreference Behavior in Larvae of the Tobacco hornworm, *Manduca sexta* . *Journal of Insect Science*, 7, 39. <http://doi.org/10.1673/031.007.3901>
- Cheng J., Chiu S., Lo. I. (2017). Effects of moisture content of food waste on residue separation, larval growth and larval survival in black soldier fly bioconversion. *Waste Management* 67, 315-323.

Entomospeed

Het project wil de grootschalige insectenkweek bij zwarte soldatenvliegen en meelwormen versnellen. Meer info op www.insectinfo.be en www.insectinfo.nl

Partnerschap

Grensoverschrijdende samenwerking tussen Vlaanderen en Nederland



Met financiële steun van



Gefinancierd binnen het Interreg V-programma Vlaanderen-Nederland, het grensoverschrijdend samenwerkingsprogramma met financiële steun van het Europees Fonds voor Regionale Ontwikkeling. Meer info: www.grensregio.eu