

# Ergebnisbericht „Substratversuche“

Im Rahmen des EIP-Agri Projekts

„Larvenzucht zur Futtermittelherstellung“

von

Simon Weinberger und Michael Forster

Ecofly GmbH

In der vorliegenden Versuchsreihe wurde eine Vielzahl von Substratmischungen an Larven der schwarzen Soldatenfliege verfüttert. Dabei wurde der Einfluss auf Wachstums-Parameter, Nährstoff-Verwertung und Zusammensetzung der geernteten Larven sowie des Restsubstrats erhoben. Folgende Abbildung zeigt den Versuchsaufbau mit durchgeführten Analysen:

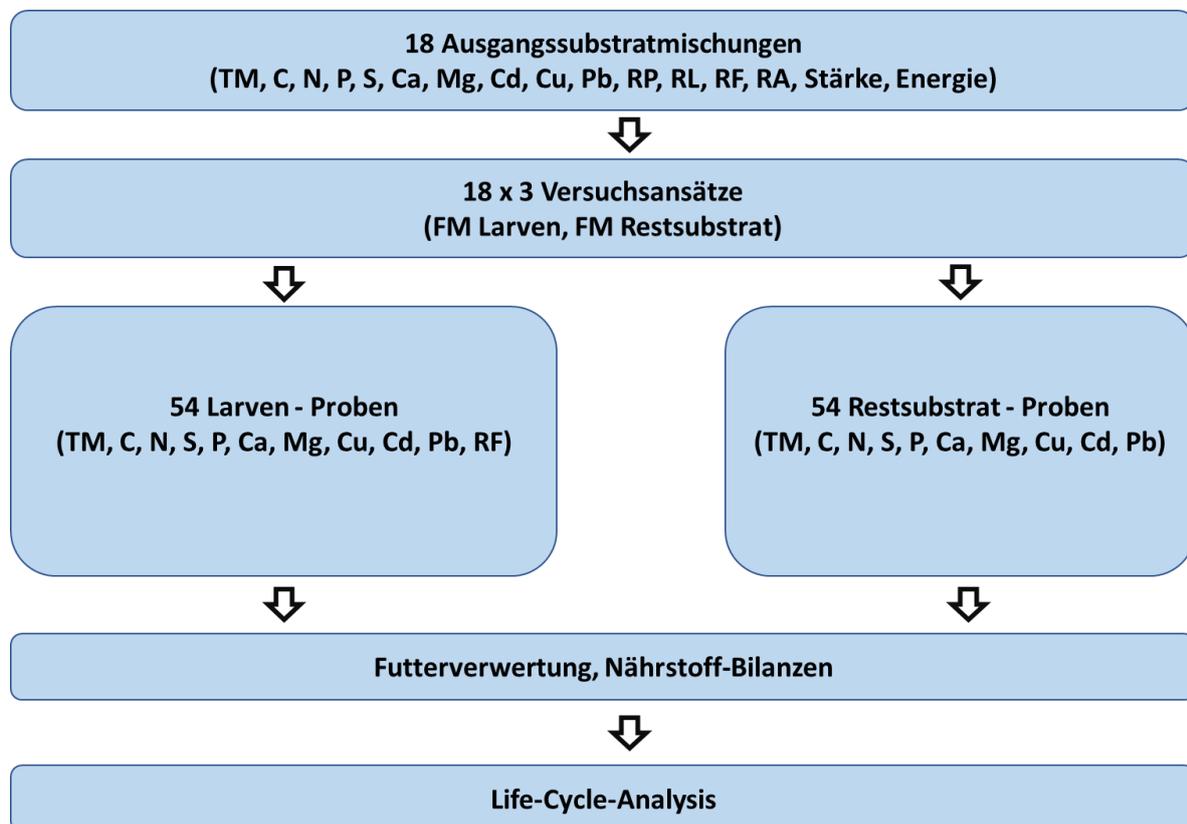


Abbildung 1. Versuchsaufbau der Fütterungsversuche.

Insgesamt wurden im gesamten Projektzeitraum 18 verschiedene Substratmischungen auf ihre Eignung in der Larvenzucht getestet (Tabelle 1).

Tabelle 1. Zusammensetzung der getesteten Substratmischungen und deren jeweiliger Energiegehalt.

Datum	Bez.	Komp 1	Komp 2	Komp 1 %	Komp 2 %	Kürzel
15.12.2018	M1	Trockenschlempe	Mais	70%	30%	TS 30 MA 70
15.12.2018	M2	Rapsextraktionsschrot	Mais	65%	35%	RE 65 MA 35
15.12.2018	M3	Weizenkleie	Mais	65%	35%	WK 65 MA 35
15.12.2018	M4	Kartoffel	Weizenkleie	70%	30%	KA 70 WK 30
15.12.2018	M5	Malzkeime	Mais	60%	40%	MK 60 MA 40
15.12.2018	M6	Brotreste	Weizenkleie	70%	30%	AB 70 WK 30
08.11.2019	M7	Ausputz	Weizenkleie	60%	40%	AP 60 WK 40
08.11.2019	M8	Weizenkleie	Maisquellwasser	70%	30%	MQ 30 WK 70
08.11.2019	M9	Weizenkleie	Mais	67%	33%	WK 67 MA 33
08.11.2019	M10	Weizenkleie	Nudeln	67%	33%	WK 67 NU 33
14.12.2019	M11	Apfeltrester	Nudeln	50%	50%	AT 50 NU 50
14.12.2019	M12	Trockenschlempe	Nudeln	50%	50%	TS 50 NU 50
14.12.2019	M13	Biertreber	Nudeln	50%	50%	BT 50 NU 50
14.12.2019	M14	Rübenschnitzel	Nudeln	65%	35%	RS 65 NU 35
06.06.2020	M15	Weizenkleie	Nudeln	67%	33%	WK 67 NU 33
06.06.2020	M16	Weizenkleie	Ausputz	55%	45%	WK 55 AP 45
06.06.2020	M17	Malzkeime	Nudeln	60%	40%	MK 60 NU 40
06.06.2020	M18	Rapsextraktionsschrot	Nudeln	68%	32%	RE 68 NU 32

Die Auswahl der Substratkomponenten wurde anhand der in AP 2 erarbeiteten Substraterhebung getroffen. Die Mischungspartner und das Mischungsverhältnis wurden anhand des Energiegehalts berechnet. Neben dem Nährstoffgehalt der Mischung ist die Struktur des Futtersubstrats von wesentlicher Bedeutung. Weizenkleie wurde in den meisten Fällen als Strukturmaterial zugegeben.

Die trockenen Substratmischungen wurden für die Fütterungsversuche mit Wasser im Verhältnis 1:2,3 gemischt und jeweils eine Probe für die Inhaltsanalyse eingefroren. Die Substratmischungen wurden auf Kunststoffkisten (60cm x 40cm x 20cm) verteilt und 12.000 Larven (Durchschnittsstückgewicht ca. 30mg) auf die Substratmischung gegeben. Die Versuchsansätze wurden bei 28°C und 70% rel. Luftfeuchtigkeit gelagert und Wasser wurde je nach Bedarf zugegeben. Jede Substratmischung wurde in drei Wiederholungen durchgeführt. Nach einer sieben-tägigen Wachstumsperiode wurden die Larven mittels Sieb vom Restsubstrat getrennt und sowohl die Restsubstrat-Frischmasse als auch die Larven-Frischmasse gewogen. Von jedem Versuchsansatz wurde eine Probe des Restsubstrats und der Larven eingefroren und gemeinsam mit den Ausgangs-Substrat-Proben an Bioforschung Austria übermittelt. Zudem wurden Proben der Baby-Larven eingesendet, damit diese in der Bilanzierung der Nährstoffströme berücksichtigt werden können. Insgesamt wurden also 18 Proben von den Ausgangssubstraten, 54 Proben der Larven, 54 Proben der Restsubstrate und 3 Proben von Baby-Larven an die Bioforschung Austria zur weiteren Analyse übermittelt.

Das Ziel der Versuche war es, die Stoffströme im Larvenzucht-Prozess zu erfassen. Die Fragestellung wie viel von welchem Nährstoff von den Larven aufgenommen wird, im Restsubstrat zurückbleibt oder als gasförmige Emission entweicht ist für die Berechnung der Öko-Bilanz von zentraler Bedeutung. Um diese Frage zu beantworten wurden Daten von Ecofly und Bioforschung Austria von Daniel Fink (Ecofly) in eine Gesamtübersicht gebracht und die relevanten Stoffströme berechnet.

### Analyse Ausgangssubstrate

In Abbildung 2 ist die Elementaranalyse der Ausgangssubstrate dargestellt. Die Substratmischungen weisen alle einen sehr ähnlichen Kohlenstoffgehalt auf (durchschnittlich 50,0%) während sich die Proben im Gehalt der restlichen Elemente sehr stark unterscheiden. Der Gehalt an Stickstoff, welcher den Proteingehalt widerspiegelt, bewegt sich zwischen 1,8% (M11) und 5,2% (M18). Im Schnitt befindet sich in den Proben ein Stickstoffgehalt von 3,2%. Der Phosphorgehalt bewegt sich zwischen 0,22% (M11) und 1,66% (M8). In keiner der Proben konnte eine erhöhte Konzentration an Schwermetallen (Blei, Cadmium) festgestellt werden.

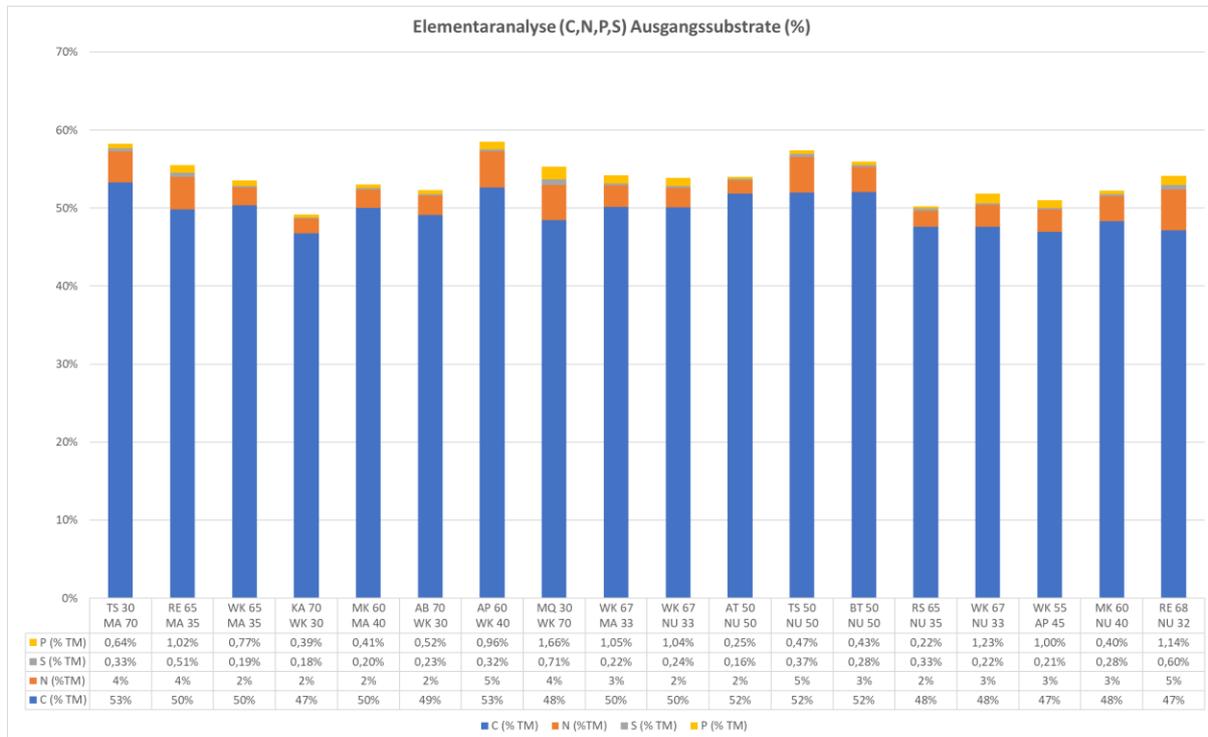


Abbildung 2. Elementaranalyse der Ausgangssubstrate.

Abbildung 3 zeigt die gemessenen Konzentrationen an Nährstoffverbindungen (Rohprotein, Rohfett, Rohfaser, Rohasche und Stärke). Dabei ist ersichtlich, dass eine große Schwankungsbreite zwischen den einzelnen Substraten besteht und demnach auch mit unterschiedlichen Ergebnissen in der Aufzucht der Larven zu rechnen ist. Stärke stellt in den meisten Mischungen den Hauptbestandteil der Zusammensetzung dar, wobei der Stärkegehalt bei M8 und M14 nicht ermittelt werden konnte. Der Gehalt bewegt sich zwischen 498 g/kg (M4) und 198 g/kg (M18), wobei der Mittelwert 313 g/kg beträgt. Der durchschnittliche Rohproteingehalt beträgt 197 g/kg wobei M18 den höchsten (324 g/kg) und M11 den niedrigsten (107 g/kg) Wert aufweist. Rohfett stellt in allen Mischungen einen relative geringen Anteil der Zusammensetzung dar (Ø 51,5 g/kg) dar, wobei M7 mit 109 g/kg den höchsten Anteil aufweist. Der Anteil an Rohfaser unterliegt ebenfalls großen Schwankungen (Ø 83,1 g/kg), wobei M11 mit 177 g/kg den höchsten und M4 mit 51 g/kg den niedrigsten Wert aufweist. Die Mischungen besitzen ein durchschnittliche Rohasche-Anteil von 46,1 g/kg.

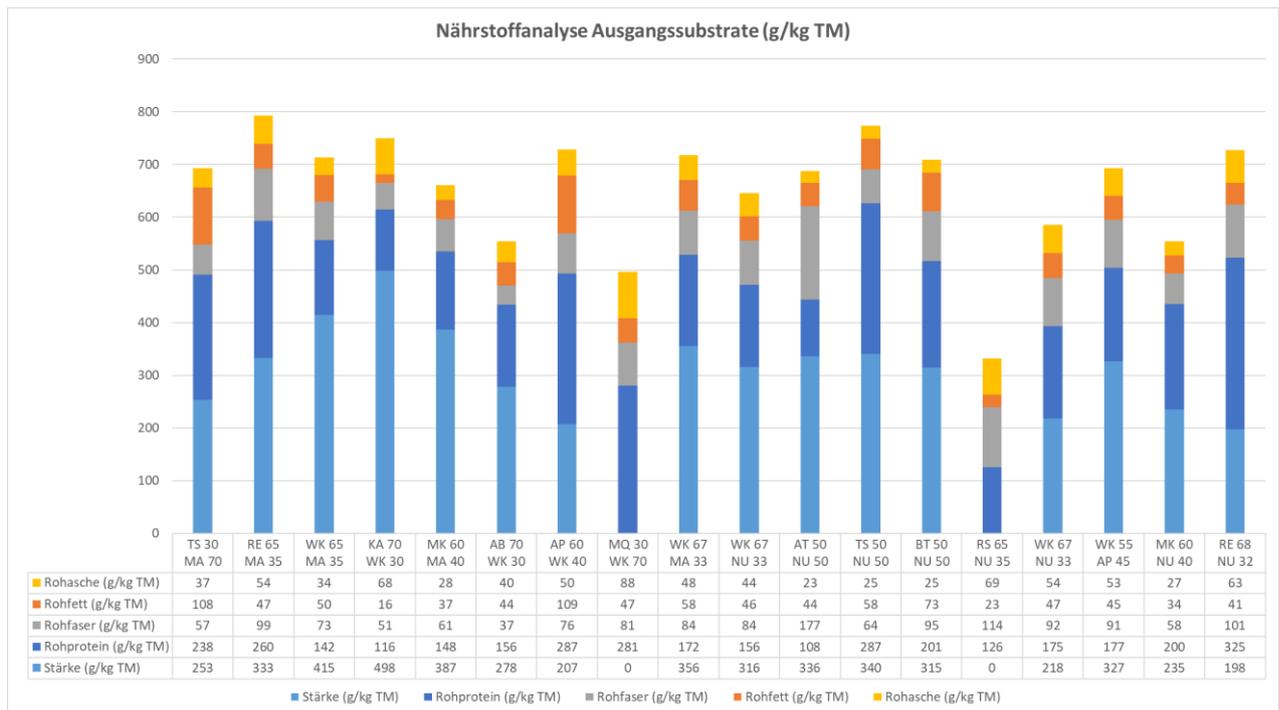


Abbildung 3. Nahrstoffverbindungen in den Ausgangssubstraten.

### Analyse Larven

In Abbildung 4 sind die Analyseergebnisse der geernteten Larven in der Trockenmasse dargestellt. Durchschnittlich enthalten die Larven einen Trockenmasseanteil von 31,7 %. Das Verhältnis zwischen Rohfett und Rohprotein in den Larven unterscheidet sich je nach Futtersubstrat voneinander. Während bei Mischung M16 ein Rohfettanteil von 24% und ein Rohproteinanteil von 52% ermittelt wurde, zeigten die Larven von M17 lediglich einen Rohproteinanteil von 33% und einen Rohfettanteil von 37%. Durchschnittlich liegen die Werte für Rohprotein bei 46% und für Rohfett bei 29%. Die Summe der beiden Anteile liegt relativ konstant zwischen 70-78%. Ein hoher Gehalt an Fett führt demnach zu einem geringeren Proteinanteil und umgekehrt. Da keine Schwermetallbelastungen in den Ausgangssubstraten festgestellt wurden, sind auch in den Larven keine nennenswerten Konzentrationen an Cadmium (Cd) und Blei (Pb) gemessen worden.

### Analyse Restsubstrat

Neben dem Ausgangssubstrat und den Larven wurden auch Analysen des Restsubstrats durchgeführt. Das Restsubstrat besteht aus den unverdauten Substratresten und den Ausscheidungen der Larven. Die Trennung der Larven vom Restsubstrat erfolgte durch ein Handsieb. In Abbildung 4 sind die Trockenmassegehalte der einzelnen Restsubstrate dargestellt, wobei auch hier eine relative große Schwankung (34% bei M10; 65% bei M1) ersichtlich ist. Die Austrocknung des Substrats stellt einen wichtigen Prozessparameter dar, da die Ernte der Larven nur bei einer relativ niedrigen Restsubstratfeuchte möglich ist. Durchschnittlich beträgt die Trockenmasse in den gemessenen Proben 48%.

In Abbildung 6 sind die Ergebnisse der Elementaranalyse der Restsubstrate dargestellt. Ebenso wie in den Ausgangssubstraten ist Kohlenstoff mit durchschnittlich 47% der Hauptbestandteil. Der Stickstoffanteil bewegt sich zwischen 1,8 % (M4) und 6,2 % (M2 und M18), wobei der durchschnittliche

Anteil 3,9% beträgt. Damit ist der durchschnittliche prozentuelle Stickstoffgehalt im Restsubstrat etwas höher als im Ausgangssubstrat.

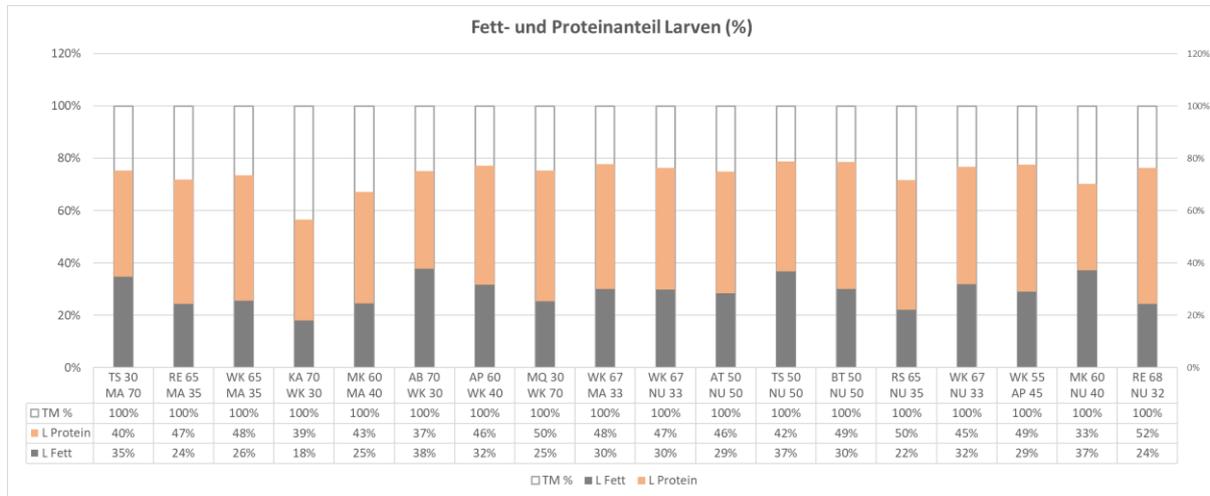


Abbildung 4. Rohfett- und Rohproteinanteil in der Larven-TM abhängig vom Futtersubstrat.

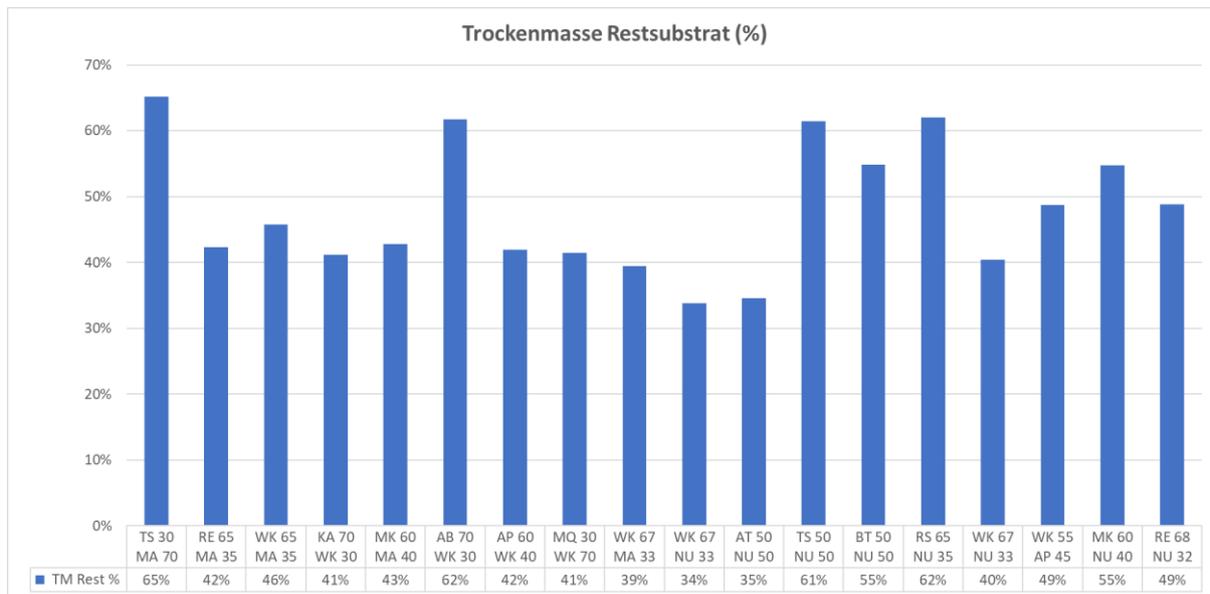


Abbildung 5. Trockenmasse in den Restsubstraten.

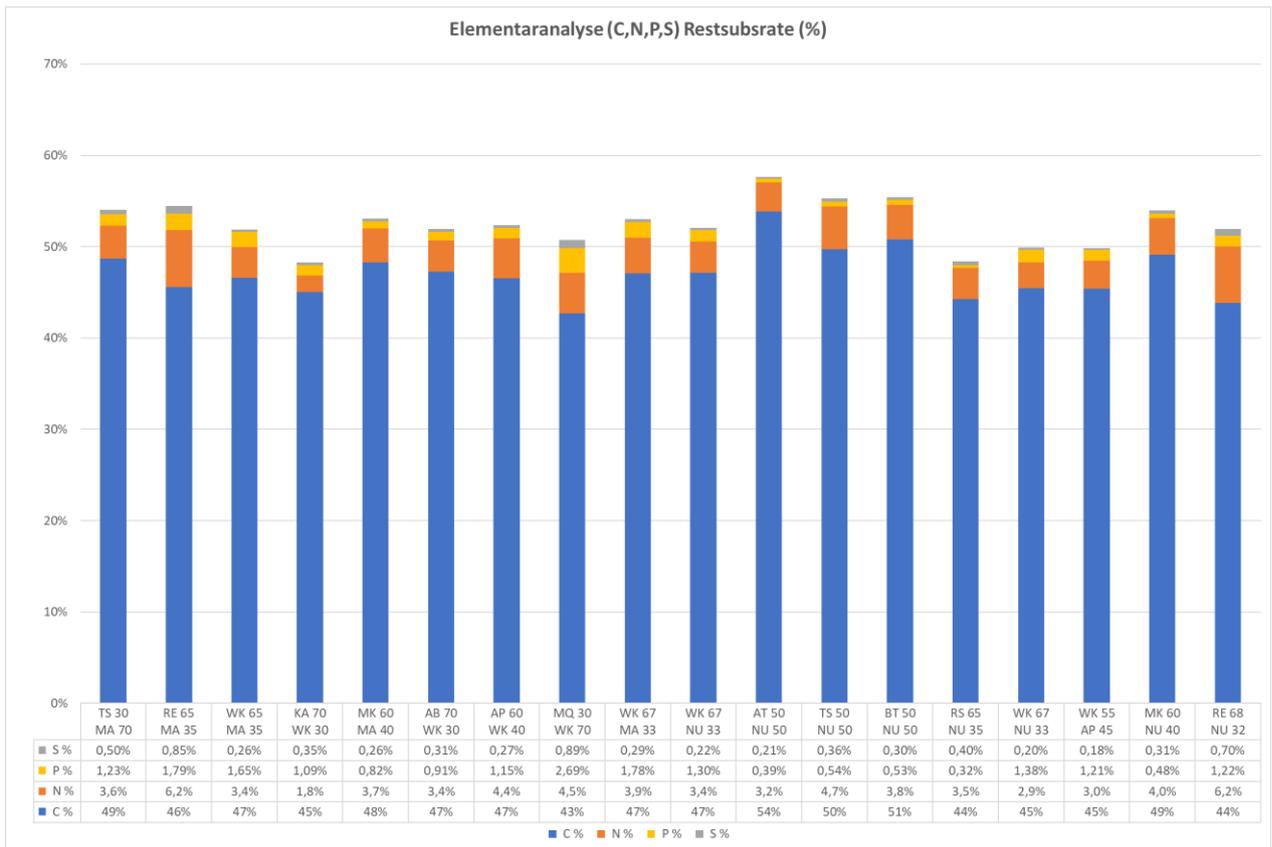


Abbildung 6. Elementaranalyse der Restsubstrate.

## Stoffstrom-Bilanzen

Bei der Umsetzung durch die Larven wird die Gesamttrockenmasse des Ausgangssubstrats deutlich reduziert. Abbildung 7 zeigt die Massebilanz der Fütterungsversuche. Durchschnittlich verbleiben 38 % der Ausgangsmasse im Restsubstrat während etwa 17% von den Larven aufgenommen wird. Durchschnittlich nimmt die Gesamttrockenmasse des Versuchssystems um 45 % ab.

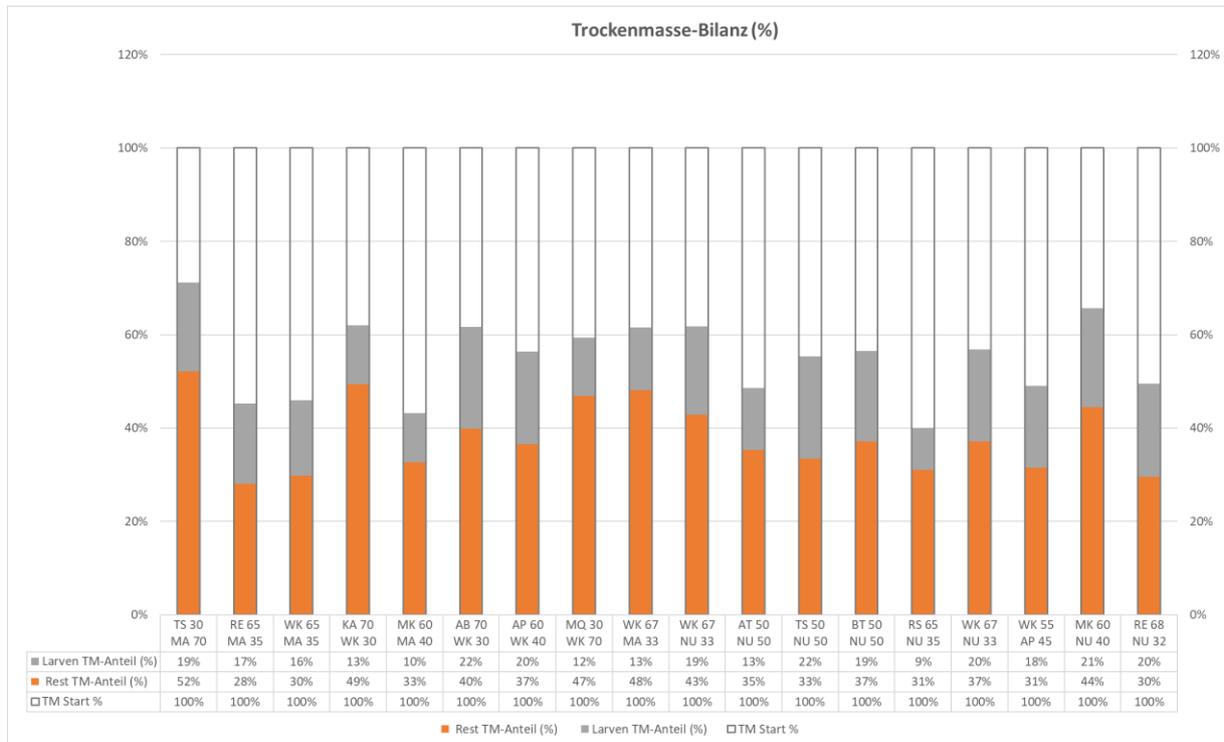


Abbildung 7. Trockenmasse-Bilanz der Fütterungsversuche.

Um die Verwertung der im Ausgangssubstrat enthaltenen Nährstoffe durch die Larven quantifizieren zu können, wurden Stoffstromanalysen für die Elemente Kohlenstoff und Stickstoff durchgeführt. Dafür wurde die Gesamtmenge des jeweiligen Elements im Ausgangssubstrat mit den Mengen im Restsubstrat und in den Larven verglichen.

Abbildung 8 zeigt die Stoffstrombilanz von Stickstoff für die unterschiedlichen Substratmischungen. Die große Schwankungsbreite legt nahe, dass die Stickstoffumsetzung maßgeblich von der Substratzusammensetzung abhängt. Durchschnittlich wird 36% des Stickstoff im Ausgangssubstrat von den Larven aufgenommen, während 48% im Restsubstrat verbleiben. Die Mischungen M6, M10 und M11 weisen eine positive Stickstoffbilanz auf, was auf einen Messfehler hindeutet. Die betreffenden Substrate haben nach der Wachstumsphase eine ausgesprochen schlechte Siebqualität aufgewiesen, was zu einer Verunreinigung der Larven mit Restsubstrat geführt hat. Dieser Messfehler spiegelt sich in einer fehlerhaften Stickstoffbilanz wieder.

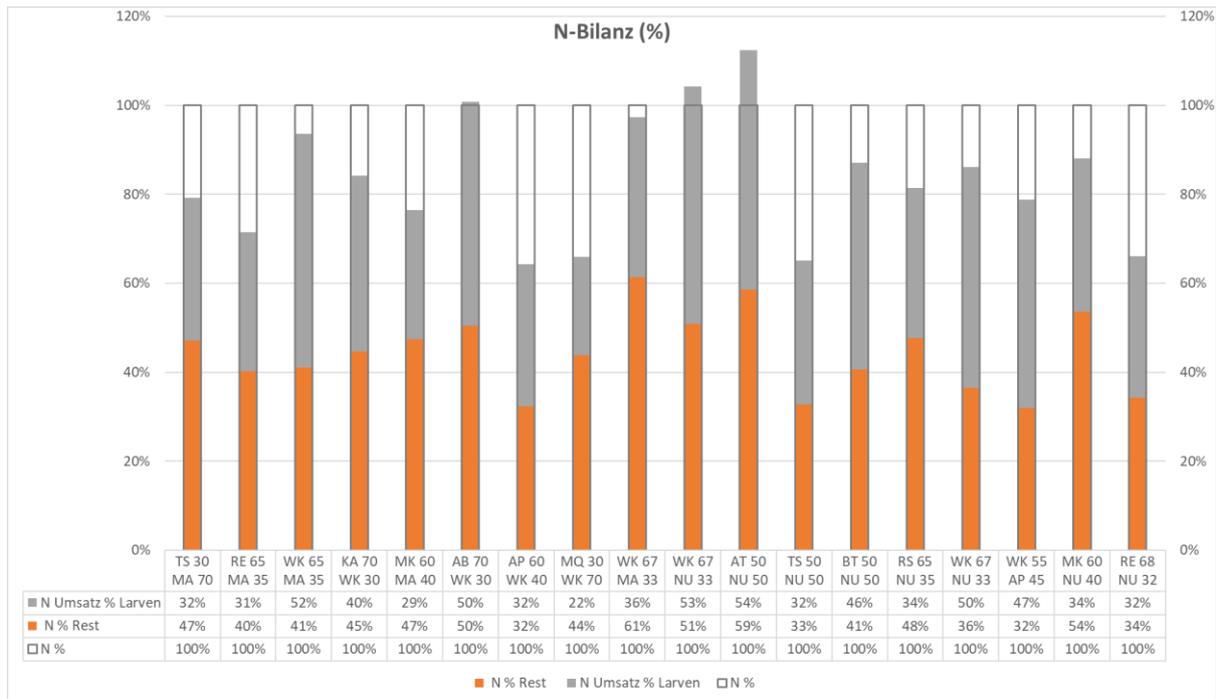


Abbildung 8. Stickstoffstrom bei der Umsetzung der jeweiligen Versuchsmischungen.

Abbildung 9 zeigt den gemessenen Kohlenstoff-Strom bei der Umsetzung der Ausgangssubstrate während des Larvenwachstums. Dabei konnte ein durchschnittlicher Kohlenstoffverlust von 48% ermittelt werden. Das bedeutet, dass etwa die Hälfte des enthaltenen Kohlenstoffes im Ausgangssubstrat durch die physiologische Aktivität der Larven in Wärme umgewandelt wird und als gasförmige Ausscheidungsprodukte (v.a. CO<sub>2</sub>) emittiert wird. Die Larven wandeln durchschnittlich 16% des Kohlenstoffanteils im Ausgangssubstrat zu Biomasse um, während im Schnitt 36% im Restsubstrat verbleiben.

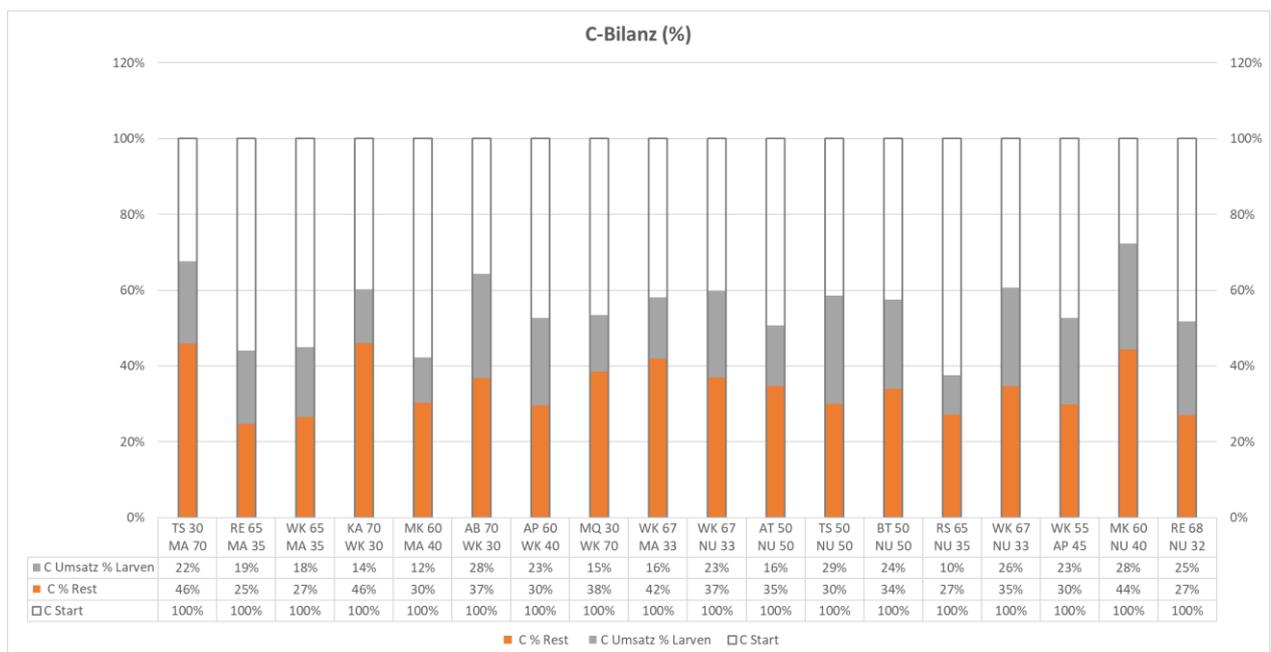


Abbildung 9. Kohlenstoff-Strom bei der Umsetzung der Substratmischungen.

Neben Kohlenstoff und Stickstoff wurden zudem Analysen der Spurenelemente Schwefel (S), Phosphor (P), Calcium (Ca), Magnesium (Mg) und Kupfer (Cu) im Ausgangssubstrat, Restsubstrat und den Larven durchgeführt.

### Futterumsetzung

Für die Bewertung der Eignung einer Substratmischung als Ausgangssubstrat in der Larvenzucht ist die Futterumsetzung entscheidend. Die Futterverwertung wird nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Futterverwertung} = \frac{\text{TM Larven}_{\text{Ende}} - \text{TM Larven}_{\text{Start}}}{\text{TM Ausgangssubstrat}}$$

Dabei ist TM Larven Ende die Gesamt-Trockenmasse der geernteten Larven, TM Larven Start die Trockenmasse der Larven zu Beginn des Versuchs und TM Ausgangssubstrat die Trockenmasse des Ausgangssubstrats.

Tabelle X zeigt die Ergebnisse für den Kohlenstoff-Umsatz, den Stickstoffumsatz und die Futterverwertung der einzelnen Versuchsgruppen. Die maximale Futterverwertung von 19,8 % wurde bei M17 (Malzkeim+Nudelbruch) beobachtet, wobei hier auch der maximale Stickstoffumsatz mit 26,0 % erreicht wurde. Am schlechtesten Schnitt M14 (Rübenschnitzel+Nudelbruch) mit einer Futterverwertung von 3,3% ab. Grundsätzlich lassen sich die Ergebnisse in drei Kategorien gliedern: Schlecht (Futterverwertung 0-15%, rot), mittelmäßig (Futterverwertung 15-20%, gelb) und gut (Futterverwertung über 20%, grün).

Tabelle 2. Futterverwertung der verschiedenen Substratmischungen (schlecht: rot; mittelmäßig: gelb; gut: grün).

Bez.	Kürzel	Energiegehalt Ausgangssubstrat (MJ/kg TM)	C-Umsatz (%)	N-Umsatz (%)	Futterverwertung (%)
M1	TS 30 MA 70	16,2	21,8%	32,0%	19,0%
M2	RE 65 MA 35	13,57	19,3%	31,1%	17,2%
M3	WK 65 MA 35	14,17	18,5%	52,4%	16,1%
M4	KA 70 WK 30	13,96	14,2%	39,7%	12,6%
M5	MK 60 MA 40	14,42	12,0%	29,1%	10,5%
M6	AB 70 WK 30	15,19	27,6%	50,3%	21,8%
M7	AP 60 WK 40	15,43	23,1%	31,9%	19,9%
M8	MQ 30 WK 70	13,24	14,9%	22,2%	12,4%
M9	WK 67 MA 33	13,66	16,1%	35,9%	13,4%
M10	WK 67 NU 33	13,59	22,9%	53,4%	18,9%
M11	AT 50 NU 50	10,14	16,1%	53,8%	13,3%
M12	TS 50 NU 50	15,64	28,6%	32,4%	21,9%
M13	BT 50 NU 50	14,21	23,7%	46,4%	19,4%
M14	RS 65 NU 35	10,95	10,5%	33,7%	9,0%
M15	WK 67 NU 33	13,04	26,0%	49,7%	19,8%
M16	WK 55 AP 45	13,18	22,8%	46,9%	17,5%
M17	MK 60 NU 40	14,49	27,9%	34,4%	21,2%
M18	RE 68 NU 32	13,41	24,7%	31,7%	19,9%

### Diskussion der Ergebnisse:

Die vorliegende Versuchsreihe umfasst die Fütterung von Fliegenlarven mit unterschiedlichen Substratmischungen und die Analyse der resultierenden Stoffströme.

Die Analyse der Ausgangssubstrate zeigt erwartungsgemäß eine relativ große Bandbreite in den verwendeten Mischungen. Ein signifikanter Zusammenhang aus den gemessenen Inhaltstoffen und den Inhaltstoffen der Larven konnte für die Elemente Stickstoff, Kohlenstoff, Schwefel und Phosphor nicht hergestellt werden. Lediglich in den Elementen Kupfer und Calcium lässt sich ein Zusammenhang zwischen der Konzentration im Ausgangssubstrat und der resultierenden Konzentration in den Larven herstellen. In Abbildung 10 sind die Konzentrationen von Kupfer und Calcium in den Larven in Abhängigkeit von der Ausgangskonzentration dargestellt.

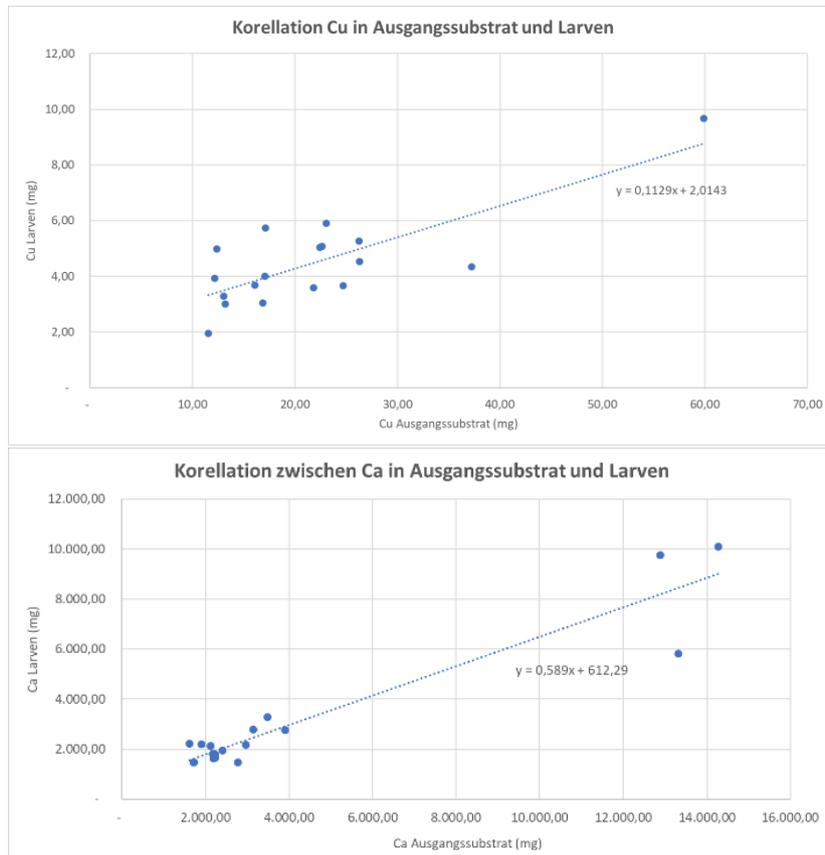


Abbildung 10. Korellation zwischen Gehalt an Cu und Ca im Ausgangssubstrat und den Larven.

Das Ergebnis, dass die Konzentration von Kupfer in den Larven mit der Konzentration von Kupfer im Ausgangssubstrat zunimmt ist nicht überraschend. Es ist bekannt, dass Schwermetalle von Insektenlarven auf Grund ihres hohen Fettgehalts kumuliert werden.

Die Abhängigkeit der Calciumkonzentration könnte jedoch ein Hinweis auf einen relativ hohen Calcium-Bedarf der Larven darstellen. Die Calcium-Bilanz der verschiedenen Fütterungsversuche ist in Abbildung 11 dargestellt.

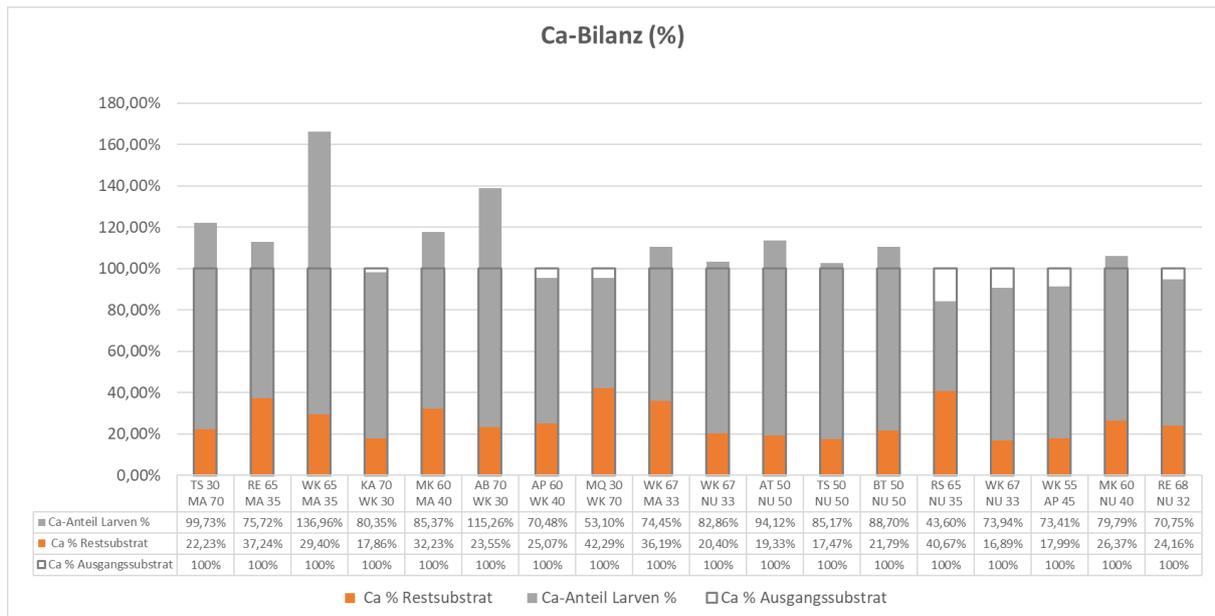


Abbildung 11. Ca-Bilanz der Fütterungsversuche.

Die Calcium-Bilanz zeigt, dass ein relativ großer Teil des enthaltenen Calciums von den Larven aufgenommen wird, durchschnittlich etwa 82 %. Die hohe Anzahl an Proben, in denen der Calciumgehalt nach dem Umsatz höher ist als vor dem Umsatz weist auch hier auf einen relativ großen Messfehler hin. Trotz allem weisen die Ergebnisse auf eine ausgesprochen hohe Aufnahme von Calcium hin, was die Supplementation von Calcium in Futterrationen zu einer interessanten Fragestellung macht. Um diesen Sachverhalt näher zu untersuchen sind jedoch weiterführende Forschungsarbeiten notwendig.

Ein weiterer Zusammenhang konnte zwischen dem Energiegehalt im Ausgangssubstrat und dem Fettgehalt der Larven hergestellt werden. In Abbildung 12 ist ersichtlich, dass Larven die mit energiereichem Futter gefüttert werden, tendenziell mehr Fett enthalten ist.

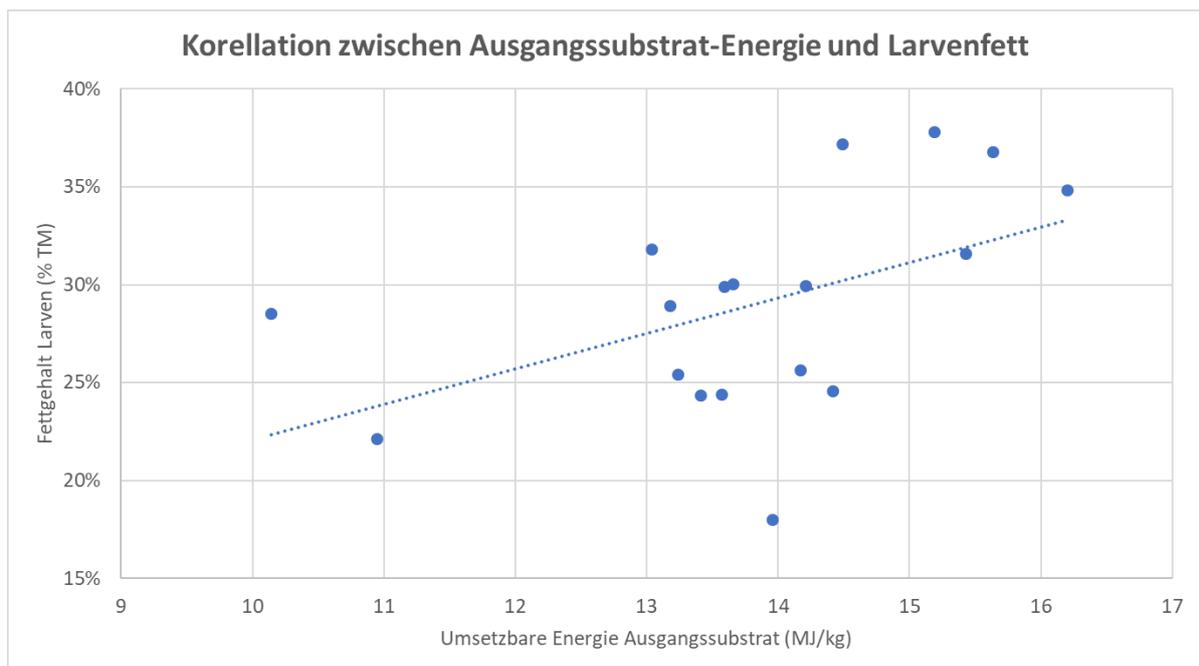


Abbildung 12. Abhängigkeit des Fettgehalts in den Larven zum Energiegehalt des Ausgangssubstrates.

In dieser Versuchsreihe konnte eine maximale Futtermittelverwertung von 21,8 % bei einer Mischung aus Altbrot und Weizenkleie beobachtet werden. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen Futtermittelverwertung und speziellen Inhaltsstoffen konnte jedoch nicht festgestellt werden. Entscheidend für die Eignung als Ausgangssubstrat sind den Ergebnissen zufolge nicht ausschließlich die Inhaltsstoffe sondern auch andere Einflussfaktoren. Wesentlich könnte dabei die Struktur des Ausgangssubstrats und dessen Fähigkeit zur Bindung von Wasser sein. Die Tatsache dass die Substratverwertung im letzten Durchgang der Versuche (M15-M18) vergleichsweise hoch ist, zeigt dass eine fortlaufende Optimierung der Substratmischungen zu besseren Ergebnissen führen kann.

Die Ergebnisse der Stickstoff-Bilanz zeigen, dass im vorgestellten Setup eine maximale Stickstoffumsetzung von 47% erreicht werden kann. Durchschnittlich konnte ein Stickstoff-Verlust von 24% beobachtet werden. Grundsätzlich scheiden die Larven beim Umsetzungsprozess einen gewissen Anteil des aufgenommenen Stickstoffs in Form von Ammoniak ( $\text{NH}_3$ ) aus. Der überraschend hohe Wert des Stickstoffverlusts ist jedoch mit den Beobachtungen während des Versuchs schwer vereinbar, da kaum Geruchsemissionen wahrgenommen wurden. In diesem Fall werden die Emissionsmessungen von Hr. Proksch (Raumberg-Gumpensteiner) in der Anlage in Antiesenhofen Aufschluss geben, ob es sich hierbei um einen nicht bekannten Messfehler oder um plausible Messwerte handelt.

Grundsätzlich muss betont werden, dass es sich um einen komplexen Versuchsaufbau handelt, der mit einer entsprechenden Anzahl an potentiellen Fehlerquellen einhergeht. Bei der Bilanzierung der Nährstoffe ist Die Ergebnisse lassen zudem keinen endgültigen Schluss über die Eignung einzelner Futterkomponenten zu, da es zahlreiche Einflussfaktoren gibt, die es zu optimieren gilt.