Industrielle Gemeinschaftsforschung

Schlussbericht

zu IGF-Vorhaben Nr. 27 LN

Thema

Zuchtversuche Tenebrio molitor auf verschiedenen Substraten

Berichtszeitraum

01.10.2015 - 30.09.2019

Forschungsvereinigung

Internationale Forschungsgemeinschaft Futtermitteltechnik e. V.

Forschungseinrichtung(en)

Hochschule Bremerhaven, Labor für Lebensmittelchemie, An der Karlstadt 8, 27568 Bremerhaven

Bremerhaven, 15.01.2020

Ort, Datum

Name und Unterschrift aller Projektleiterinnen und Projektleiter der Forschungseinrichtung(en)

Prof. Dr.-Ing. Peter Ritzenhoff
Rektor
Hochschule Bremerhaven
An der Karlstadt 8
27568 Bremerhaven

Forschungsnetzwerk Mittelstand

Gefördert durch:

Bundesministerium für Wirtschaft und Energie

aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung ... 3
2. Stand von Wissenschaft und Technik ... 4
2.1. Zucht von Insekten ... 4
2.2. Futtermittelsicherheit ... 6
3. Forschungsziel ... 7
3.1. Angestrebte Ergebnisse ... 8
3.2. Innovativer Beitrag ... 9
4. Material und Methoden ... 10
4.1. Bestimmung des Larvengewichts ... 10
4.2. Bestimmung des Proteingehalts ... 10
4.3. Bestimmung des Fettgehalts ... 10
4.4. Bestimmung des Wassergehalts ... 11
4.5. Bestimmung der Metallgehalte ... 11
4.6. Texturanalyse von Teig und Keksen ... 11
4.7. Sensorische Bewertung von Keksen ... 12
4.8. Herstellung von Larvenmehl ... 13
4.9. Entfettung von Larvenmehl ... 13
5. Ergebnisse und Diskussion ... 14
5.1. AS 1: *Etablierung einer Zucht zur Bereitstellung von Insekten* ... 14
5.1.1. Auswahl der Haltungseinheiten für die Aufzucht der Larven ... 15
5.1.2. Haltungseinheit für die Nachzucht der Larven und Haltung der Käfer ... 16
5.1.3. Klimatisierter Haltungsraum für die Insekten ... 19
5.2. AS 2: *Wissenschaftliche Untersuchungen der Zucht von Tenebrio molitor* ... 20
5.2.1. Auswirkung von Reststoffverfütterung auf Mehlkäferlarven ... 21
5.2.2. Auswirkung von Faeces auf Mehlkäferlarven ... 24
5.2.3. Auswirkung von Zink auf Mehlkäferlarven ... 26
5.2.4. Auswirkung von Stress auf Mehlkäferlarven ... 30
5.2.5. Auswirkung von Hefe auf Mehlkäferlarven ... 32
5.2.6. Auswirkung von Champost auf Mehlkäferlarven ... 33
5.2.7. Auswirkung von Kaffeetreber auf Mehlkäferlarven ... 35
5.2.8. Auswirkung von Algen auf Mehlkäferlarven ... 38
5.3. AS 3: *Futtermittelsicherheit* ... 41
5.3.1. Auswirkung von Fusarium-Toxinen auf Mehlkäferlarven ... 41
5.3.2. Auswirkung von Fusarium- & Aspergillus-Toxinen auf Mehlkäferlarven ... 42
5.3.3. Auswirkung von Aspergillus-Toxinen auf Mehlkäferlarven ... 45

5.4. AS 4: *entfällt* ... 46
5.5. AS 5: *Technofunktionalität der Proteine* ... 46
5.5.1. Funktionalität und Anwendung von Insektenproteinmehl ... 46
5.5.2. Funktionalität und Anwendung von Insektenproteinhydrolysat ... 56
5.6. AS 6: *Tötung der Insekten* ... 58
5.7. AS 7: *Konsumentenforschung* ... 62
6. Zusammenfassung und Ausblick ... 64
7. Nachweis der Verwendung der Zuwendung ... 69
7.1. Nutzen und industrielle Anwendungsmöglichkeiten ... 69
7.2. Verwendung der zugewendeten Mittel ... 70
7.3. Plan zum Ergebnistransfer ... 70
7.4. Veröffentlichungen und Tagungsbeiträge ... 73
7.4.1. Scientific Papers ... 73
7.4.2. Vorträge ... 73
7.4.3. Poster ... 74
7.4.4. TV-Beiträge ... 75
7.4.5. Radio-Beiträge ... 75
7.4.6. Internetartikel (Online) ... 76
7.4.7. Zeitungsartikel (Printversion) ... 79
7.4.8. Zeitschriftenartikel (Printversion) ... 81
7.4.9. Nominierung ... 81
Literaturverzeichnis ... 81

1 Einleitung

Die wachsende Weltbevölkerung erfordert die Erschließung neuer Proteinquellen, da die stetig steigende Nachfrage nach Fleisch eine kontinuierliche Fleischproduktion erforderlich macht, welche nicht auf herkömmliche Weise gedeckt werden kann (FAO, 2009; UN, 2017). Die FAO prognostiziert einen sich verdoppelnden Bedarf an Fleischerzeugnissen auf rund 410 Mio. kg/a im Jahr 2050, d. h. der globale Bedarf an Veredelungsprodukten aus der tierischen Erzeugung steigt und damit der Bedarf an proteinreichen Futtermitteln (FAO, 2013). Aufgrund des vergleichsweise hohen Proteingehalts von 35 bis 50 % der Trockenmasse stellt Soja neben Getreide, Gemüse und Kartoffeln aktuell die wichtigste pflanzliche Proteinquelle im Bereich der Futtermittelproduktion bzw. Tierproduktion dar (Schmidt, 2014). 80 % der weltweit erzeugten Sojabohnen werden zur Produktion von Futtermitteln genutzt (Schmidt, 2014). In diesem Zusammenhang ist Europa in hohem Maß von Sojaimporten bzw. von Extraktionsschrot, das bei der Ölgewinnung anfällt, abhängig (FAO, 2002). Die großen Sojaeinfuhrmengen aus den Ländern Südamerikas werden gesellschaftlich zunehmend kritisch betrachtet, weil der stark wachsende Sojaanbau zu vielschichtigen landwirtschaftlichen, ökologischen und sozialen Fehlentwicklungen beigetragen und damit zu einer Minderung in der Nachhaltigkeit geführt hat (FAO, 2009). Zur Deckung des Proteinbedarfes bzw. zur Schließung der sich ausweitenden Proteinlücke müssen Alternativen gefunden werden. Besonders geeignet erscheint die Verfütterung von verarbeiteten tierischen Proteinen aus Insekten als Alternative, um Fischmehl und Sojaschrot in Tiernahrung zu ersetzen (Kroeckel et al., 2012; Piccolo et al., 2017; Ramos-Elorduy und Gonzales, 2002). Dafür eignet sich eine Vielzahl verschiedenster Insekten wie z. B. der Mehlwurm (*Tenebrio molitor*), um diese als Protein- und Fettlieferanten in Futtermitteln einzusetzen (Piccolo et al., 2017; Ramos-Elorduy und Gonzales, 2002). Gegenüber anderen tierischen Proteinträgern bieten Insekten einige Vorteile. Sie liefern sehr hochwertige Proteine, die alle 21 proteinogenen Aminosäuren enthalten und reich an essentiellen Aminosäuren sind (Rumpold und Schlüter, 2013). Sie sind zudem exzellente Futterverwerter mit Protein-Konversionsraten um 1,5:1 und haben eine kurze Generationszeit (Nakagaki und Defoliart, 1991). Die Ansprüche der Insekten bezüglich Platz und Wasser sind gering und eine niedrige Produktion an Treibhausgasemissionen im Vergleich mit anderen Nutztieren zeichnen sie aus (Van Huis, 2013).

Trotz gesetzlicher Vorgaben hat sich (z. B. (EG) Nr. 999/2001, (EG) Nr. 258/97) in den letzten Jahren z. B. in den Niederlanden, Frankreich und auch Deutschland eine Industrie zur Verarbeitung bzw. Aufbereitung von Insekten entwickelt. Aktuell sind mit der Zulassung für Insekten im Aquafeed [EU-Verordnung 2017/893] seit dem 01.07.2017 sieben Insektenspezies zugelassen. Diese Zulassung betrifft die Änderung der Verordnung (EG) Nr. 999/2001 im Hinblick auf die Zulassung von verarbeitetem tierischem Protein zur Verfütterung an Nutztiere. Des Weiteren ist seit dem 01.01.2018 die EU-Verordnung 2015/2283 in Kraft getreten. Die Novel Food-Verordnung besagt: Ganze Insekten und Insektenteile sowie aus Insekten gewonnene Inhaltsstoffe gelten als neuartige Lebensmittel („Novel Food“) und müssen vor dem Inverkehrbringen gesundheitlich bewertet und zugelassen werden.

Neben den geschilderten gesetzlichen Rahmenbedingungen, die lediglich die Verwendung von Insektenprotein in Aquakulturen erlauben, steht vor allem die mangelnde Verfügbarkeit großer Mengen von Insektenmehl einem kommerziellen Einsatz als Einzelfuttermittel im Wege. Erst wenn eine ausreichend hohe Verfügbarkeit gewährleistet wird, kann ein solches Produkt für die breite Anwendung in der Futtermittelindustrie interessant werden. Die Herstellung von Futtermitteln unter Verwendung von Insekten erfordert nicht nur entsprechende Kenntnisse zur Verfahrenstechnik der Futtermittelherstellung, sondern auch zur Aufzucht der Insekten. Die Tatsache, dass es sich bei Insekten um eine biologische Matrix mit natürlichen Schwankungen in der Struktur und Zusammensetzung handelt, erfordert die Entwicklung und Anwendung zur Gewinnung entsprechend großer Mengen, die Kenntnis über die Aufzucht der Insekten und die Einflussmöglichkeiten auf die qualitative Zusammensetzung.

Dementsprechend standen die Erforschung der Biologie der Insekten und die Aufzucht für eine industrielle Produktion im Mittelpunkt dieses Forschungsvorhabens.

2 Stand von Wissenschaft und Technik

2.1 Zucht von Insekten

Insgesamt zeigt sich die Zucht von Insekten im bisher umgesetzten Rahmen als vergleichsweise wenig aufwendig. In Laos werden z. B. Grillen (*Acheta domesticus*) in Tanks (Höhe = 0,5 m, Durchmesser= 0,8 m) gezüchtet (Rumpold und Schlüter, 2013).

Darüber hinaus zeichnen sich Insekten durch effiziente Futterumsatzraten aus (Veldkamp et al., 2012). Beide genannten Aspekte sind Ansatzpunkte für eine potenzielle Automatisierung, um Insekten auch in größeren Maßstäben und Chargen aufziehen zu können. Bisher erfolgt die kommerzielle bzw. industrielle Zucht von Insekten über den privaten Bedarf hinaus in Boxen verschiedenster Größe. Dabei werden Insekten zum direkten Verzehr für Menschen und vor allem für Haustiere wie Reptilien produziert (z. B. Mehlwürmer, Heuschrecken und Grillen), als Futtermittel vertrieben oder auch bereits verarbeitet als Protein- oder Fettquelle verkauft (z. B. schwarze Soldatenfliege). Insgesamt besteht das Bestreben, die Produktion von Insekten unabhängiger von Umgebungsbedingungen und abgeschlossen zu betreiben, um beispielsweise auch potenziellen Infektionen vorzubeugen. Außerdem sollen verfahrenstechnische Gesamtlösungen entwickelt und umgesetzt werden, so dass eine Produktionslinie entsteht, die die Insektenaufzucht von der Larve bis zum verkaufsfertigen Produkt in einer Gesamtanlage umfasst.

Die Prozessautomatisierung ermöglicht in diesem Zusammenhang als Querschnittstechnologie in allen verfahrenstechnischen Industrien die Gestaltung einer wirtschaftlichen, aber auch umweltgerechten und sicheren Produktion. So wird durch eine Automatisierung eine ganzheitliche Gesamtlösung zugänglich, die die Insektenzucht innerhalb einer Produktionslinie möglichmacht. Erst das Zusammenspiel der involvierten Prozessierungseinheiten ermöglicht den Zugang zu Lösungen eines Scale-Ups durch z. B. parallele Zucht- bzw. Transportbänder, so dass eine definierte Durchsatzrate erzielt werden kann und damit die Wirtschaftlichkeit der Prozessierung gegeben ist.

Die in der Tab. 1 aufgeführten Unternehmen produzieren und verarbeiten Insekten im industriellen Maßstab. In den letzten Jahren sind viele Unternehmen hinzugekommen und die Tendenz steigt. Daher ist es umso wichtiger, die Aufzuchtbedingungen der Insekten zu kennen, um diese im größeren Maßstab produzieren zu können. Die Unternehmen verwenden sowohl die ganze Larve, als auch nur das Protein oder Fett. Zum Beispiel wird bei der Proti-Farm Holding NV die ganze Larve (Mehlkäferlarve, Buffalo-Wurm) für den menschlichen Verzehr getrocknet. Bei dem Unternehmen Protix werden im Gegensatz dazu die ungetrockneten Insekten nach der Zerkleinerung mittels Separator (Protix, 2014 WO2014/123420) in Protein und Fett überführt (Protix, 2014).

Tab. 1: Übersicht der im industriellen Maßstab Insekten produzierenden und verarbeitenden Unternehmen (IPIFF, 2017)

Gründungs-jahr	Produktion [t/a]	Unternehmen	Land	Insekt
1978	5000	Proti-Farm Holding NV	Niederlande	Verschiedene
1978	500	Kreca	Niederlande	Verschiedene
1985		Fair Insects	Niederlande	*Tenebrio molitor*, *Locusta migratoria*
2006	350	Hermetia	Deutschland	*Hermetia illucens*
2007		Entra Feed Corporation	Canada	*Hermetia illucens*
2008	> 2000	Agriprotein	Südafrika	*Hermetia illucens*
2009		Enviroflight	USA	*Hermetia illucens*
2009		Protix	Niederlande	*Hermetia illucens*
2009		River Road Research	USA	*Hermetia illucens*
2011	20000	Ynsects	Frankreich	*Tenebrio molitor*
2012	20	Entofood	Malaysia	*Hermetia illucens*
2012		Bioflytch	Spanien	*Hermetia illucens, Musca domestica*
2013	24	Entobel	Vietnam	*Hermetia illucens*
2013		Nextalim	Frankreich	*Hermetia illucens*
2014	2500	Entomo Farm	Frankreich	*Tenebrio molitor*
2014	> 100	F4F	Chile	*Hermetia illucens*
2014	800	Nutrition Technologies	Vietnam/Singapur	*Hermetia illucens*
2015		Innovafees	Frankreich	*Hermetia illucens*
2015	> 350	Nextprotein	Frankreich/Tunesien	*Hermetia illucens*
2016	1500	Insecturm	Litauen	*Hermetia illucens*
2016		Multibox	Vereinigtes Königreich	*Hermetia illucens*

2.2 Futtermittelsicherheit

Das europäische Gesetz enthält Bestimmungen zur Verwendung von Substraten, wonach Substrate zur Fütterung von Insekten nur Produkte nicht-tierischen Ursprungs oder Material der Kategorie 3 enthalten dürfen (Europäische Kommission 2017; Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union 2009a). In der Praxis ernähren sich Insekten häufig von Getreide-Nebenprodukten, die hohe Mengen an Mykotoxinen wie z. B. Zearalenon (ZEN) enthalten können. ZEN ist ein Mykotoxin, welches von vielen Fusarium-Arten als Sekundärmetabolit produziert wird (Hueza et al., 2014).

Verunreinigungen treten normalerweise auf dem Feld auf, können aber auch bei schlechten Lagerbedingungen von Getreideerzeugnissen auftreten. Die zulässigen Höchstgehalte für ZEN liegen zwischen 50 µg / kg in verarbeiteten Getreideprodukten für den menschlichen Verzehr und 350 µg / kg für unverarbeiteten Mais (EFSA, 2011). ZEN wurde in Weizen- und Maisproben in ganz Europa in Konzentrationen von 15 µg / kg bis zu 5700 µg / kg nach einem Jahr mit einem besonders feuchten Sommer gefunden (Hoogenboom et al., 2008; Schollenberger et al., 2006; Scudamore und Patel, 2000). Die maximal tolerierbare tägliche Aufnahme (TDI) von ZEN wurde zuvor vom

gemeinsamen FAO / WHO-Expertenausschuss für Lebensmittelzusatzstoffe (JECFA) im Jahr 2000 auf 0,5 µg / kg Körpergewicht und vom Wissenschaftlichen Ausschuss auf 0,2 µg / kg Körpergewicht festgelegt.

Über die Wirkung und den Stoffwechsel von ZEN bei Wirbeltieren ist bereits viel bekannt. Nach der Einnahme wird ZEN im Darmgewebe metabolisiert. In den Darmzellen kann durch eine Biotransformation eine Reduzierung zu Metaboliten erfolgen, wie z. B. α-, β-Zearalenol (ZEL), α-, β-Zearalanol (ZAL) und Zearalanon (ZAN) (Hagler et al., 1979; Kinani et al., 2008; Metzler et al., 2010). ZEN und seine Metaboliten gelten aufgrund ihrer chemischen Struktur, die dem weiblichen Hormon 17β-Östradiol ähnelt und die Bindung von Östrogenrezeptoren ermöglicht, als Östrogenstörer (Kinani et al., 2008). Darüber hinaus ist bekannt, dass der Stoffwechsel von Insekten nur in geringem Maße mit Stoffwechselprozessen zusammenhängt, die von Säugetieren oder Mikroorganismen bekannt sind (Binder et al., 2017; Ji et al., 2016; Keller et al., 2018; Malekinejad et al., 2006; Pfeiffer et al., 2007). Nichtsdestotrotz ist das Vorhandensein von Enzymen für den Phase-I-Metabolismus, z. B. Cytochrom-P450-Monooxygenasen oder -dehydrogenasen sowie bestimmte Phase-II-Enzyme wie Sulfotransferasen oder Glycosyltransferasen auch bei Insekten bekannt (Ahn et al., 2012; Swevers et al., 1990; Vakiani et al. 1998). Zudem wird beschrieben, dass ZEN offenbar keine offensichtliche östrogenbezogene Zielstelle bei Insekten aufweist (Bhatnagar et al., 1991). Es hat sich jedoch gezeigt, dass hohe Konzentrationen von ZEN schwache gegensätzliche Eigenschaften gegenüber Ecdyson aufweisen, einem Steroidhormon, das in Insekten gefunden wird und die Entwicklung und Häutung reguliert (Dinan et al., 2001).

3 Forschungsziel

Hauptziel des Projektes war es, das Wachstum des Mehlkäfers (*Tenebrio molitor*) auf verschiedenen Substraten zu untersuchen und zu vergleichen und alle notwendigen Parameter für eine Zucht der Larve im industriellen Maßstab unter Berücksichtigung des Tierwohlergehens und wirtschaftlicher Aspekte zu etablieren. Als Substrat sollten unter anderem Sortiergetreide, aber auch Futtergetreide wie z. B. Weizen, Gerste, etc. dienen, da diese günstig eingekauft werden können (um 200 €/t). Zudem sollte der Einfluss der Temperatur auf das Wachstum evaluiert werden. Ziel war eine ideale Balance zwischen schnellem Wachstum und Energieverbrauch. Da die Fütterung einen

entscheidenden Einfluss auf den Protein- und Fettgehalt sowie deren Qualität hat, wurde diese in Abhängigkeit vom Substrat untersucht

Nach der Ernte wurden die Insekten getrocknet und, in enger Vernetzung mit den anderen Teilprojekten, für die weitere Verwendung aufbereitet. Dieses Teilprojekt nimmt eine zentrale Rolle im Forschungscluster ein, da hier die Insekten, die für die weiteren Versuche benötigt werden, produziert werden.

3.1 Angestrebte Ergebnisse

Das durchgeführte Forschungsvorhaben diente der Gewinnung von Erkenntnissen hinsichtlich der optimalen Wachstumsparameter, wie z. B. Temperatur, Feuchte und Substrat für den Mehlkäfer (*Tenebrio molitor*) sowie der Bereitstellung von genügend Larvenmaterial für die anderen Teilprojekte. Da die Fütterung einen entscheidenden Einfluss auf den Protein- und Fettgehalt sowie deren Qualität hat, wurde diese in Abhängigkeit vom Substrat untersucht. Außerdem sollten unterschiedliche Substrate auf ihre Eignung untersucht werden.

Im Mittelpunkt des Vorhabens standen deshalb Untersuchungen zur automatisierten Aufzucht bzw. welche Aufzuchtbedingungen notwendig sind, um eine optimale Qualität und eine einwandfreie Hygiene für den Einsatz der Insekten im Futtermittel zu gewährleisten. Zudem sollte herausgefunden werden, ob mit unerwünschten Stoffen belastetes Substrat von den Larven verwertet werden kann und wie die Carry-Over-Raten dieser Substanzen aussehen.

In der Abb. 1 ist eine schematische Darstellung der Zusammensetzung des Leittechnologie-Antrages mit den vier Forschungsstellen und den dazugehörigen Arbeitsschritten dargestellt. Teilprojekt 1 (TP1) nahm eine zentrale Rolle im Forschungsverbund ein, da hier die Insekten produziert wurden, welche für die anderen Teilprojekte und Versuche benötigt wurden. Die erarbeiteten Erkenntnisse aus diesem Teilprojekt hinsichtlich der Generationszeiten, Umgebungsbedingungen, Haltungsparameter und auch die Ergebnisse zum Design der Aufzuchtbehälter standen für die Erstellung des Funktionsmusters (siehe Abschlussbericht 18235 N) für die automatisierte Aufzucht zur Verfügung. Aufgrund der hohen Bedeutung einer energieeffizienten Produktion

stand auch dieser Punkt im Fokus. Hier bilden die Grundlagen einer energetisch optimierten und nachhaltigen Produktion ein weiteres Forschungsergebnis.

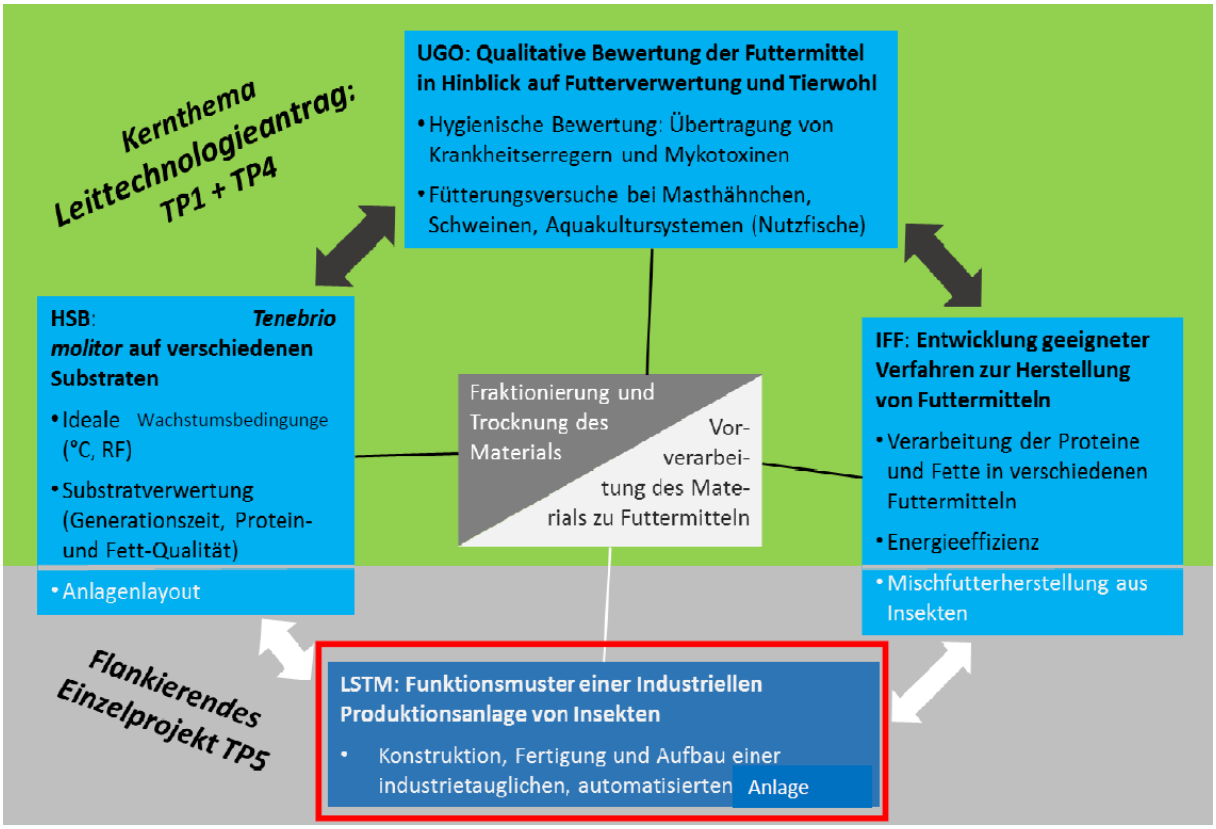

Abb. 1: Vereinfachte schematische Darstellung des Kernprojektes TP1 und TP4 mit den Aufgaben der einzelnen Forschungsstellen sowie die Flankierung durch das Einzelprojekt TP5.

3.2 Innovativer Beitrag

Das angestrebte Forschungsergebnis bestand in einer Datenbasis bzgl. relevanter Umweltbedingungen wie Temperatur, Feuchtigkeit, Substrat für die Aufzucht von Mehlkäferlarven (*Tenebrio molitor*). Diese Parameter wurden mit der Verwendung von Futterzusätzen optimiert. Dies bildete die Grundlage für eine Automatisierung der Aufzucht bei hoher Dichte.

Der innovative Beitrag des angestrebten Projektes besteht darin, dass es Unternehmen aus dem Bereich der Insektenzucht ermöglicht wird, auf Grundlage der erarbeiteten Erkenntnisse Insekten automatisiert zu mästen. Dies ist derzeit gar nicht oder noch nicht in dem angestrebten Umfang möglich. Die Automatisierung der Insektenzucht verlangt Untersuchungen zur Gewährleistung von Hygienebedingungen im Herstel-

lungsprozess, um die entsprechenden Anforderungen aus gesetzlicher und qualitativer Sicht umzusetzen. Entsprechend besteht ein weiterer innovativer Beitrag in systematischen Untersuchungen zur Verfütterung verschiedener Substrate wie z. B. Nebenströmen, z.B. aus der Lebensmittelverarbeitung, unter den erarbeiteten Bedingungen. Diese Ergebnisse, zusammen mit den notwendigen Umgebungsbedingungen, können auch für kleinere Ansätze genutzt werden, wie sie z.B. in der Landwirtschaft vorhanden sind.

Zudem sollte die Sicherheit der Insekten und der daraus gewonnenen Fraktionen untersucht werden. Im Mittelpunkt standen hier die Carry-Over-Raten verschiedener unerwünschter Substanzen, insbesondere von Mykotoxinen, welche in kontaminiertem Weizen vorkommen können.

Die erworbenen Erkenntnisse sollen insbesondere die kleinen und mittelständischen Insektenproduzenten in die Lage versetzen, wirtschaftlich zu produzieren. Dies würde sich auch in einem für die Mischfutterhersteller attraktiven Preis niederschlagen und auch in dieser Branche die Wirtschaftlichkeit der Herstellung verbessern.

4 Material und Methoden

4.1 Bestimmung des Larvengewichts

Um das Biomassewachstum zu ermitteln, wurde das Larvengewicht mit einer Analysenwaage (Sartorius Entris 64-1S) bestimmt. Dazu wurden die Larven vor und nach Versuchsbeginn gewogen. Bei Zwischenmessungen und am Versuchsende wurden die Larven per Sieb von Futterresten und Faeces getrennt und anschließend gewogen.

4.2 Bestimmung des Proteingehalts

Der Proteingehalt wurde nach der Kjeldahl-Methode nach DIN EN 25663 und nach Angaben des Verbandes Deutscher Agrarforschungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA, 1976) mit einem Vapodest 20 S (Gerhardt, Deutschland) bestimmt. Rohprotein wurde als N mit dem Umrechnungsfaktor 6,25 berechnet.

4.3 Bestimmung des Fettgehalts

Der Fettgehalt wurde nach der Soxhlet-Methode (VDLUFA, 1976) mit einigen Modifikationen analysiert. Die Proben wurden vor der Analyse mit einer Zentrifugalmühle

(ZM200, Retsch, Deutschland) gemahlen (<0,5 mm). Homogenisierte Proben (5 g) wurden in Extraktionshülsen überführt und mit Watte bedeckt. Nach dem Trocknen der Proben für 2 Stunden bei 95°C in einem Trockenofen (U10, Memmert, Deutschland) wurden sie in den Soxhlet-Aufsatz gegeben. Die Extraktion wurde unter Verwendung von 140 ml Petroleumbenzin (40-60ºC, wasserfrei technisch, Rotisolv, Carl Roth, Deutschland) während 6 Stunden bei 75ºC in der Soxhlet-Apparatur durchgeführt. Nach der Extraktion wurde das Benzin unter Verwendung eines Rotationsverdampfers (Rotavapor R-300, Büchi, Deutschland) bei 50°C entfernt. Der Fettrückstand wurde 30 min bei 85°C in einem Vakuumofen (VT 5042, Heraeus, Deutschland) getrocknet, in einem Exsikkator abgekühlt und gewogen.

4.4 Bestimmung des Wassergehalts

Die Proben wurden vor der Analyse mit Mörser und Pistill pulverisiert. Der Feuchtigkeitsgehalt wurde nach 4-stündigem Trocknen der Proben in einem Trockenschrank (U10, Memmert, Deutschland) bei 103ºC bestimmt.

4.5 Bestimmung der Metallgehalte

Von den Mehlkäferlarven wurde der Zink-, Kupfer-, Mangan- und Cadmiumgehalt bestimmt. Hierfür wurden die Larven für 24 h gefriergetrocknet und anschließend homogenisiert. Mit einem nass-oxidativen Verdau (HNO3 (65%&h2O2 (30%) 1:1, MARS6-Mikrowellen-Verdauungssystem; Kamp-Lintfort, Deutschland) wurden die Larven im Anschluss per ICP-MS (ELAN DRCII, Perkin Elmer) analysiert.

4.6 Texturanalyse von Teig und Keksen

Um die Textur der hergestellten Teige zu analysieren, wurde der Texture Analyser (Z 0.5) der Firma Zwickroell (Ulm, Deutschland) verwendet. Hierfür wurden die Teige je nach Rezeptur am Vortag der Untersuchung hergestellt und im Kühlschrank gelagert. Die zu untersuchenden Teige wurden etwa eine halbe Stunde vor der Analyse aus dem Kühlschrank geholt und für etwa eine Minute erneut geknetet. Anschließend wurde der Teig in gleichgroße Zylinder mit einer Höhe von einem Zentimeter und einem Durchmesser von zwei Zentimetern aufgeteilt. Ein flacher Stempel mit einem Durchmesser von etwa einem Zentimeter wurde verwendet. Der Stempel fuhr zunächst soweit herab, dass dieser den Teig leicht berührte. Anschließend fuhr der Stem-

pel weiter herab und komprimierte den Teig um etwa 30 %, bevor er in seine Ausgangsposition zurückfuhr und das Programm erneut durchgeführt wurde. Die Geschwindigkeit des Stempels betrug 3 mm/s. Mithilfe der Software testXpert konnten die aufgewendeten Kräfte in einem Kraft/Zeit-Diagramm dargestellt werden.

Für die Texturanalyse der Kekse wurde die Kramer-Scherzelle (Zwickroell) verwendet. Diese wurde an den Texture Analyser montiert. Die Kekse wurden sieben Tage vor der Untersuchung hergestellt und bis zur Analyse in Plastikbeuteln bei Raumtemperatur gelagert. Die Kekse hatten für die Untersuchung eine quadratische Form mit einer Kantenlänge von 50 mm. Die Dicke der Kekse betrug 5 mm. Die Kramer-Scherzelle zerdrückte den Keks mit einer konstanten Geschwindigkeit von 5 mm/s. Mithilfe der Software testXpert konnte die benötigte Krafteinwirkung in einem Kraft/Zeit Diagramm dargestellt werden.

4.7 Sensorische Bewertung von Keksen

Die Rezepturen 1-5 wurden durch 16 untrainierte Testpersonen bewertet. Hierfür wurden Kekse hergestellt und nach mindestens sieben und höchstens zehn Tagen verkostet. Die Testpersonen bekamen keine Informationen darüber, welches Larvenmehl und wie viel Larvenmehl sich in den jeweiligen Rezepturen befanden. Lediglich die Informationen, dass sich in einzelnen Rezepturen Larvenmehl befinden könnte, bekamen die Testpersonen. Im Zeitraum von der Herstellung bis zur Verkostung wurden die Kekse in Plastikbeuteln bei Raumtemperatur gelagert. Die Verkostung fand am Nachmittag statt. Eine Stunde sollten vor der Verkostung durch die Testpersonen keine geschmacksintensiven Lebensmittel konsumiert werden. Während der Verkostung durfte nur mit geschmacksneutralem Wasser nachgespült werden. Die Testpersonen haben für die Auswertung einen Fragebogen erhalten.

Die sensorische Bewertung der Kekse erfolgte in zwei Teilabschnitten. Im ersten Teil sollten die Testpersonen die Kekse in einer Reihenfolge bringen, welche die wahrgenommene Härte der Kekse wiederspiegelt. Wenn kein Unterschied in der Härte festgestellt wurde, sollte das für die jeweiligen Rezepturen angegeben werden. Im zweiten Teil sollten die persönlichen Präferenzen zu den einzelnen Attributen Farbe, Bissfestigkeit, Geruch und Geschmack ermittelt werden, indem diese auf einer Skala von 1-

10 bewertet wurden. Je höher die vergebene Bewertung, desto besser wurde der Keks empfunden. Außerdem sollte der Gesamteindruck bewertet werden.

4.8 Herstellung von Larvenmehl

Um die Mehlkäferlarven zu einem Mehl zu verarbeiten, wurden zunächst die tiefgefrorenen (-18 °C) Larven bei 60 °C für 19 h durch Umluft getrocknet. Dafür wurden die Larven auf einem Backblech, welches mit Backpapier ausgelegt war, gleichmäßig verteilt. Die Schichthöhe betrug maximal einen Zentimeter. Nach 19 h im Trockenschrank (Heraus Group GmbH), wurden die getrockneten Larven für eine halbe Stunde zum Abkühlen auf Raumtemperatur auf dem Backpapier ruhen gelassen. Die trockenen Larven wurden daraufhin in einer Gewürzmühle (EGK 200, Rommelsbacher, Deutschland) für insgesamt 15 s gemahlen, wobei alle zwei Sekunden eine kurze Pause im Mahlvorgang eingelegt wurde. Für einen Mahlvorgang wurden 20 g Larven verwendet. Sollte sich das Mehl am Rand des Bechers abgesetzt haben, wurde dieses mit einem Teelöffel gelöst und wieder den Messern der Gewürzmühle zugänglich gemacht. Gelagert wurde das hergestellte Larvenmehl in Tiefkühlbeuteln gekühlt im Kühlschrank bei acht Grad Celsius.

4.9 Entfettung von Larvenmehl

Ein Teil des zuvor hergestellten Larvenmehls wurde verwendet, um ein entfettetes Mehl herzustellen. Für die Fettextraktion wurde 50 g nicht-entfettetes Larvenmehl zusammen mit 150 ml Ethanol in ein 600 ml Becherglas gegeben (Verhältnis Mehl/Ethanol = 1 g / 3 ml). Mithilfe eines Magnetrührers (ME Hei-Tec, Heidolph Instruments, Deutschland) und eines Rührfisches wurde der Inhalt für eine Stunde verrührt. Nach Ablauf der Zeit wurde der Magnetrührer abgestellt, sodass eine Phasentrennung zwischen dem Mehl und dem Ethanol einsetzen konnte. Das Ethanol mit dem gelösten Fett wurde abgeschöpft. Das restliche Ethanol wurde mit einer Pipette abpipettiert. Für 24 h wurde das Ethanol abgedampft. Der komplette Extraktionsvorgang wurde unter einem Abzug durchgeführt. Hierbei wurde der Gewichtsverlust ermittelt, der durch die Fettextraktion aufgetreten ist.

5 Ergebnisse und Diskussion

5.1 AS 1: *Etablierung einer Zucht zur Bereitstellung von Insekten*

Ziel des AS 1 war die Etablierung einer Aufzucht von Mehlkäferlarven mit hoher Zuchtdichte, die das Insektenmaterial für die weiteren Schritte im Gesamtprojekt bereitstellte. Erkenntnisse aus diesem AS wurden auch in die Anlagengestaltung und Automatisierung der Aufzucht (flankierendes Projekt TP 5) verwendet. Zudem diente die Aufzucht zur Bereitstellung von Versuchstieren über die gesamte Projektlaufzeit. Der im Zwischenbericht 2016 aufgeführte Zusammenbruch der Haltung konnte in 2017 komplett unter Kontrolle gebracht werden. Eine mögliche Ursache für das Einbrechen der Haltung, kurz nach der Lieferung der Larven, könnte die Kombination aus Transportstress und Änderungen der klimatischen Bedingungen gewesen sein. Besonders bei einer Haltung mit sehr hohen Besatzdichten ist eine leistungsstarke Klimakontrolle vorteilhaft. Durch die hohe Aggregation sind die Larven unter ständigem Kontakt und reiben gegeneinander. Dadurch entsteht Reibungswärme und eine gleichzeitige Erhöhung ihres eigenen Metabolismus, der wiederum zur erhöhten Aktivität führt. Die feuchte Atemluft sowie die freigesetzte feuchte Luft beim Häuten kann bei einer sehr hohen Dichte ohne aktive Hilfe nicht abgeleitet werden. Besonders in der industriellen Massenhaltung ist eine Abführung dieser feuchten Luft wichtig. Zahlreiche Maßnahmen sorgten für eine Stabilisierung und Erholung der Aufzucht und werden im folgendem aufgelistet:

- Der Einbau eines Lüftungssystems für den gesamten Haltungsraum sorgte für einen stetigen Austausch der Umgebungsluft und versorgte die Tiere mit Frischluft.
- Ausreichender Abstand der Haltungsbehälter zu einander sorgte für einen besseren Abtransport der warmen und feuchten Luft, die während der Fütterungszeit, Wässerung und Häutung entstanden ist. In Kombination mit der Luftzirkulation im gesamten Raum, konnte die Temperatur und Luftfeuchtigkeit im gesamten Haltungsbereich besser kontrolliert und gesteuert werden.

Seit 2017 verlief die Aufzucht der Mehlkäferlarven problemlos. Ende September 2018 konnte die Fertigstellung des Klimaraums realisiert werden (genaue Beschreibung siehe Abschlussbericht 2018 TP 5) und damit der Umzug der Tiere aus dem Bürocon-

tainer in den neuen Haltungsraum erfolgen. Mit dem neuen Klimaraum konnten optimale Haltungsbedingungen aufgrund von Temperatur- und Feuchteregulierung sichergestellt werden. Allerdings erforderte die Bereitstellung größerer Mengen an Insektenlarven einen hohen zeitlichen und personellen Aufwand, aufgrund der regelmäßig durchgeführten Arbeiten, die bisher noch manuell per Hand erfolgten.

Zu den notwendigen Arbeiten in der Aufzucht gehören:

- Tägliches Füttern und Wässern der Larven (Anzahl Aufzuchtbehälter ca. 180)
- Tägliches Absammeln von Puppen und frisch geschlüpften Käfern aus den Aufzuchtbehältern (Überführung in die Behälter mit den Käfern für die Verpaarung/Vermehrung)
- Tägliches Entfernen von toten Käfern aus der Vermehrungsstation (Anzahl Behälter ca. 5)
- Tägliche Reinigungsarbeiten zur Sicherstellung hygienischer Bedingungen im Aufzuchtraum
- Wöchentliches Füttern der Käfer mit Äpfeln und Entfernen von Futterresten
- Wöchentliches Abtrennen der Eier aus dem Legesubstrat
- Wöchentliches Wechseln des verbrauchten Legesubstrats
- Wöchentliche Überführung und Versorgung der Eier in die Aufzuchtbehälter
- Wöchentliches Aussieben von Faeces der Larven und Futterresten aus den Aufzuchtbehältern

Um eine Aufzucht für Insekten aufbauen zu können, müssen im Vorfeld wichtige Überlegungen berücksichtigt werden. Hierzu gehören z. B. die richtige Auswahl der Haltungseinheiten für die Larven und Käfer. Dazu müssen die Behälter und deren Material, wie z. B. Kunststoff, auf ihre Eignung untersucht und die optimale Behältergröße bestimmt werden. Zudem ist es wichtig zu überprüfen, ob die Behälter der Aufzucht- bzw. Nachzuchtbehälter eine leichte Reinigbarkeit aufweisen, damit sich keine pathogenen Keime in den Haltungseinheiten der Insekten ansiedeln können.

5.1.1 Auswahl der Haltungseinheiten für die Aufzucht der Larven

Die Haltung der Larven erfolgte in 235 Gastronorm (GN) 1/1 Behältern aus Chromnickelstahl (siehe Abb. 2). Im Vergleich zu Plastikbehältern (siehe Abb. 3) auf PE- oder

PP-Basis sind diese Behälter inert gegenüber allen möglichen Stoffklassen, die während einer Haltung von Insekten auftreten können, wie z. B. Säuren, Aromaten und Fetten. Zudem sind die Behälter beständig gegenüber UV-Strahlung und mechanischer Beanspruchung. Besonders der Aspekt der mechanischen Beeinflussung ist zu beachten. Das Material der Behälter ist den kauenden Mundwerkzeuge der Larven ausgesetzt und es entstehen bei weichen Behältermaterialien Löcher, Risse und andere Oberflächenbeschädigungen, die aus hygienischen Gründen problematisch sind und beispielsweise als Keimquellen für pathogene Mikroorganismen dienen können. Zudem sind die Gastronorm-Behälter durch ihre praktische Form sehr einfach zu reinigen. Im Vergleich dazu stehen die Plastikbehälter mit zahlreichen stark verwinkelten Quer- und Versteifungsleisten.

Abb. 2: GN-Edelstahlbehälter 1/1

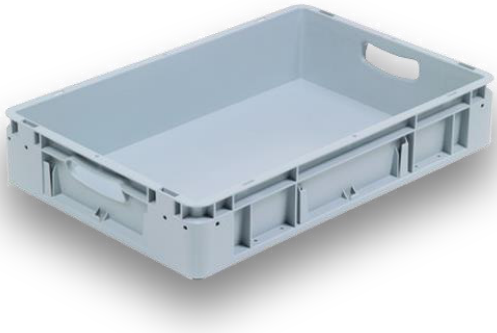

Abb. 3: Eurobehälter aus Plastik

Während der Projektlaufzeit konnte festgestellt werden, dass die Edelstahlbehälter sich als Haltungseinheiten für die Mehlkäferlarven sehr gut eignen. Zudem sind die GN-Behälter leicht erhältlich in Fachgeschäften oder im Internet. Daher fiel für die Aufzucht der Larven die Entscheidung zugunsten der Edelstahlbehälter.

5.1.2 Haltungseinheit für die Nachzucht der Larven und Haltung der Käfer

Damit die Eiablage bzw. Nachzucht erfolgen kann, werden Haltungseinheiten für die adulten Käfer benötigt. Ein wesentlicher Punkt, den es zu berücksichtigen gilt, ist die Trennung der Eier von den Adulten und vom Legesubstrat. Hierfür wurden zuerst die Edelstahlbehälter mit Weizenkleie gefüllt und mit Käfern bestückt. Jedoch stellte sich heraus, dass dies für die Nachzucht ungeeignet ist, da die Käfer die Eier auf den Boden des Edelstahlbehälters ablegen und das Entfernen sich sehr schwierig gestaltete, da die Eier am Boden festklebten. Zudem konnten die Eier, aufgrund der Größe, schlecht von der Weizenkleie getrennt werden. Daher wurde sich für die Eurobehälter aus

Kunststoff entschieden, welche modifiziert wurden (siehe Abb. 3). Der Boden des Behälters wurde mit einer Säge abgeschnitten, so dass ein separates Bodenteil mit Substrat (Weizenmehl) bestückt werden kann, welches der Eiablage für die Käfer dient. Das obere Teil der Kunststoffbox wurde an der Schnittkante mit einem Maschendrahtgewebe versehen, so dass die Käfer zwar die Eier hindurchlegen können, jedoch sich nicht selbst im Substrat vergraben können (siehe Abb. 4). Dieses Prinzip der Haltung hat sich sehr bewährt. Es ist pflegeleicht und gut zu reinigen und trennt die Käfer vom Substrat, welches anschließend ausgesiebt wird, um die Eier davon wiederum abzutrennen.

Abb. 4: Box mit Käfern für die Nachzucht mit abnehmbarem Bodenteil, welches mit Mehl als Substrat für die Eiablage befüllt wurde.

Die Maschenweite entsprach etwa 3 mm und erlaubte es dem Ovipositor (Eiablageapparat) der Weibchen, ungehindert durch das Gitter ins Legesubstrat zu gelangen, um dort die Eier abzulegen (siehe Abb. 5).

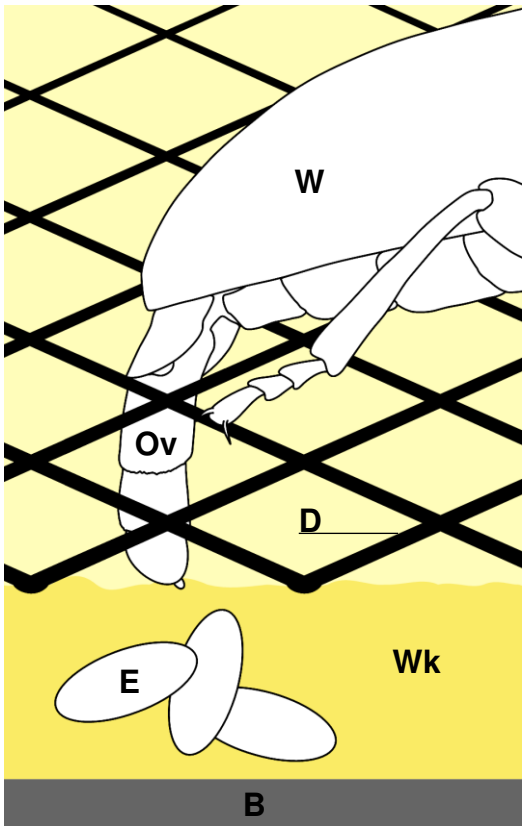

Abb. 5: Darstellung der Oviposition bei *T. molitor* Weibchen in Weizenmehl durch ein Drahtgewebe; W: Weibchen, Ovi: Ovipositor, Dg: Drahtgewebe, Wk: Weizenkleie, E: Eier, Bb: Behälterboden.

Die Schichtdicke des Legesubstrates sollte nicht die Länge des Ovipositors der Weibchen unterschreiten, da die Weibchen sonst in der Lage sind, die Eier auf den Boden des Behälters zu kleben. Als Legesubstrat wurde Weizenmehl verwendet, damit die Partikelgrößen des Legesubstrats die Dimensionen der Eier unterschreiten. In der Abb. 6 sind die Eier der Mehlkäfer im Vergleich zu einem 50 Cent Stück abgebildet. Die Eier sind weiß und oval geformt und in der Regel zwischen 0,68 – 0,85 mm breit und 1,35 – 1,8 mm lang. Ein sauberes und schnelles Trennen der beiden Komponenten über ein Sieb mit der Maschenweite von 0,6 mm ist damit möglich.

Abb. 6: Größe der Eier von Mehlkäfern im Vergleich zu einem 50 Cent Stück.

5.1.3 Klimatisierter Haltungsraum für die Insekten

Wie im Abschlussbericht für TP5 ausführlich beschrieben ist, wurde ein Haltungsraum für die Larven gebaut. Anfänglich wurden die Larven in einem umgebauten Bürocontainer untergebracht (siehe Abb. 7). Der Container war allerdings zu schmal, so dass die Käferhaltung getrennt in einem kleinen Kellerraum der Hochschule Bremerhaven erfolgte.

Abb. 7: Bürocontainer von innen mit der Larvenaufzucht in Edelstahlbehältern.

Im späteren Projektverlauf konnten die Insekten in einem Klimaraum (L 9 x B 3 x H 2,8 m) (siehe **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**) untergebracht werden. Dieser Klimaraum verfügt über eine eingebaute Zu- und Abluft, LED-Beleuchtung und eine Wärme- und Feuchteregulierung, so dass die optimalen Wachstumsparameter für die Larven eingestellt werden konnten.
Da der Klimaraum im Abschlussbericht 18235 N ausführlich beschrieben und dargestellt wurde, wird hier auf eine ausführliche Beschreibung verzichtet.

Abb. 8: Klimaraum für die Unterbringung des Funktionsmusters (Insektenaufzucht & Automatisierung.

5.2 AS 2: *Wissenschaftliche Untersuchungen der Zucht von Tenebrio molitor*

In diesem AS soll das Wachstum der Insekten durch Untersuchungen mittels unterschiedlicher Substrate, Umweltfaktoren etc. analysiert werden.

5.2.1 Auswirkung der Reststoffverfütterung auf Mehlkäferlarven

Zur Lebensmittel- oder Futtermittelgewinnung gezüchtete gemästete Insekten dürfen bisher nur mit für die Nutztierfütterung geeigneten Futtermitteln gefüttert werden. In der Europäischen Union aufgezogene Insekten fallen in die Kategorie "Nutztiere" gemäß den EU-Rechtsvorschriften über tierische Nebenprodukte (Verordnung (EG) Nr. 1069/2009). Infolgedessen dürfen diese Tiere nur mit für Nutztiere geeigneten Materialien gefüttert werden: d. h. Materialien pflanzlichen Ursprungs und / oder tierischen Ursprungs, die in den Anhängen der verschiedenen Verordnungen ((EU) Nr. 142/2011; (EU) Nr. 999/2001; (EU) Nr. 853/2004) aufgeführt sind. Dazu gehören z. B. Fischmehl, Honig, Eier und Eiprodukte, Milch und Milchprodukte. Die Verfütterung von Küchenabfällen, ehemaligen Lebensmitteln, die Fleisch und Fisch oder Gülle / Tierfäkalien enthalten, ist jedoch auf EU-Gebiet verboten (Verordnung (EG) 1069/2009; Verordnung (EU) 142/2011; Verordnung (EG) 767/2009).

Allerdings gibt es einige Insektenarten wie z. B. die Black soldier fly (*Hermetia illucens*), bei denen nachweislich eine Verfütterung von Abfällen wie Speiseresten oder Fäkalien zu einem besseren Wachstum geführt haben und eine Anreicherung von z. B. Omega-3-Fettsäuren durch die Verfütterung von Fischabfällen, einen positiven Effekt auf die Zusammensetzung der Larven hatte (Ites et al., 2019; Barroso et al., 2019). Die Versorgung mit Wasser kann entweder über die Luftfeuchtigkeit erfolgen oder über eine Wassergabe, die direkt, z. B. durch nasse Baumwolle (Rho und Lee, 2014), oder über Schalen von Obst oder Blätter unterschiedlicher Gemüsearten erfolgt (Houbraken et al., 2016). Wichtig ist hierbei der regelmäßige Austausch, um mikrobielle Kontaminationen zu vermeiden. Auch aus ökologischer Sicht ist die Verfütterung von Abfällen als sinnvoll zu betrachten, da diese nicht in Konkurrenz zur menschlichen Ernährung stehen. Daher sollte mit diesem Versuch der Einfluss der Verfütterung von Obst- und Gemüseresten auf das Wachstum der Mehlkäferlarven, deren Lebenszyklus und die Futtermittelakzeptanz untersucht werden.

In der Abb. 9 sind die verfütterten Obst- und Gemüsereste dargestellt. Diese wurden von der Mensa der Hochschule Bremerhaven bereitgestellt. Täglich fallen dort verschiedene Reste an Obst und Gemüse an, welche bei der Herstellung frischer Salate entstehen. Es wurden folgende Obst- und Gemüsesorten getestet:

- Kerngehäuse der roten, gelben und grünen Paprika
- Gurkenschale und -stiele
- Kerngehäuse der Tomate
- Spargelschalen
- Schalen und Fruchtfleisch mit Kernen von zwei Zuckermelonen
- Ananasschale mit Fruchtfleisch

Abb. 9: Verfütterte Obst- und Gemüsereste aus der Mensa der Hochschule Bremerhaven.

In diesem Versuch wurden 2 Gruppen mit jeweils 3 Replika in GN-Edelstahlbehältern gehalten. In jedem Behälter befanden sich zu Beginn 15 ± 0,1 g an Larven im Alter von 6 Wochen. Die Temperatur betrug während des Versuchs 26°C und die relative Luftfeuchte wurde auf 70% festgelegt. Die Versuchsdurchführung erfolgte im Haltungsraum für die Larven. Die Einteilung der Gruppen unterschied sich in der Zusammensetzung des Futters, welche den Larven während des Versuchs zur Verfügung stand. Die Gruppe A wurde während der Versuchslaufzeit ausschließlich mit Weizenkleie *ad libitum* gefüttert und täglich mit frischem Wasser versorgt. Die Gruppe B wurde mit einer Mischung aus 50% Weizenkleie und 50% Obst- und Gemüsereste gefüttert, jedoch nicht zusätzlich mit Wasser versorgt. Die Wasseraufnahme erfolgte durch die

Verfütterung der Obst- und Gemüsereste. Beide Gruppen bekamen wöchentlich frisches Futter, wobei das jeweilige Verhältnis der Versuchsgruppe mit der Weizenkleie und der Zufütterung von Obst- und Gemüseresten wieder den Startbedingungen (50:50) angepasst wurde. Ermittelt wurden bei allen Gruppen die Mortalität und das Biomassewachstum bei Versuchsende nach 6-wöchiger Fütterung.

In der Abb. 10 ist die Biomassezunahme der Larven nach Versuchsende dargestellt. Die Gruppe mit der Verfütterung der Obst- und Gemüsereste hat eine deutlich höhere Biomassezunahme erreicht, als die Verfütterung von reiner Weizenkleie mit der Bereitstellung von Wasser. Die Obst- und Gemüsereste wurden von den Larven sehr gut angenommen und gefressen, lediglich die Spargelschalen wurden nur zum Teil verzehrt, möglicherweise durch die im Spargel vorhandenen Bitterstoffe. Genauere wissenschaftliche Untersuchungen gibt es hierzu jedoch noch nicht. In beiden Gruppen kam es zu keiner Mortalität.

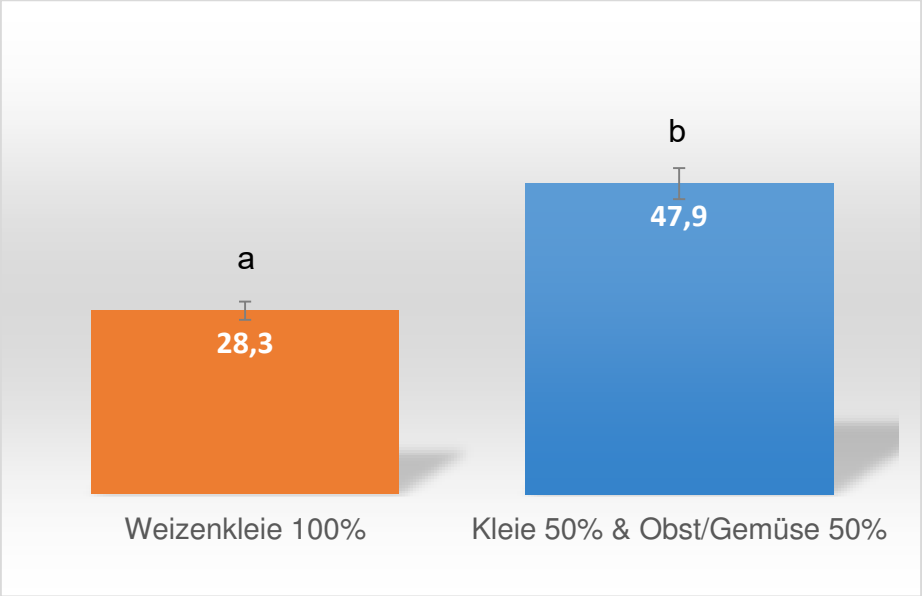

Abb. 10: Biomassezunahme der Larven. Treatments mit unterschiedlichem Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; $n = 3$).

Abschließend betrachtet ist die Versorgung mit Nahrung und Wasser über Obst- und Gemüsereste für die Larven sinnvoll. Die Ergebnisse zeigen ein stark verbessertes Wachstum gegenüber der Fütterung mit reiner Weizenkleie und dem Besprühen mit Wasser.

5.2.2 Auswirkung von Faeces auf Mehlkäferlarven

Dieser Versuch konzentrierte sich auf den Einfluss der Anwesenheit bzw. Zugabe von Faeces (Exkremente der Mehlwürmer) auf das Wachstum und die Mortalität der Larven. Ziel dieses Versuches war eine Optimierung der Haltung, um anfallende Faeces ggf. effektiv weiter verwerten zu können, da diese während der Massenaufzucht in erheblichen Mengen anfallen und entsorgt werden müssen. Bisher erfolgt eine regelmäßige, wöchentliche Abtrennung der Faeces in der Massenaufzucht der Larven. Während der Zusammenkunft des Projektbegleitenden Ausschusses wurde die Frage seitens der Industriepartner aufgeworfen, ob die Faeces für die Larven einen positiven Effekt haben könnten. Bei einigen Tieren wie dem Mistkäfer (Geotrupidae) oder zahlreichen Fadenwürmern kann der Verzehr von Exkrementen einen positiven Effekt auf das Wachstum und die Versorgung mit Nährstoffen haben (Wardhaugh et al., 2001; d`Alexis et al., 2009). Daher sollte mit diesem Versuch herausgefunden werden, ob das Vorhandensein oder die Zugabe von Faeces einen positiven Einfluss auf das Biomassewachstum von Mehlkäferlarven haben könnte.

In dem Versuch wurden 5 Untersuchungsgruppen mit jeweils 3 Replika in 400 ml Bechergläsern gehalten. In jedem Becherglas befanden sich 25 Larven im Alter von 8 Wochen. Die Temperatur betrug während des Versuchs 27°C und die relative Luftfeuchte wurde auf 75% festgelegt. Die Einteilung der Gruppen unterschied sich in der Menge bzw. dem Anteil an Faeces und Futter, welche den Larven während des Versuchs zur Verfügung stand, und ist in Abb. 11 dargestellt. Die Gruppe A wurde zu Beginn des Versuchs mit 10 g Weizenkleie gefüttert und dann unberührt belassen. Lediglich bei Versuchsende wurden die Larven von den Futterresten und den Faeces getrennt, gewogen und die Mortalität festgestellt. Die Gruppe B wurde ebenfalls zu Beginn mit 10 g Weizenkleie gefüttert, jedoch wöchentlich gesiebt, so dass die Faeces regelmäßig bis Versuchsende abgetrennt wurden. Die Gruppe C wurde zu Versuchsbeginn anteilig mit 5 g Weizenkleie und 5 g Faeces versetzt, so dass diesen Larven von Anfang an Futter und Faeces zur Verfügung standen. Bei Gruppe D und E wurde der Anteil an Futter reduziert und der Anteil an Faeces jeweils erhöht. Bei den Gruppen B-E wurden wöchentlich die Larven gesiebt und das jeweilige Verhältnis von Futter und Faeces wieder den Startbedingungen angepasst (Zugabe von neuem Futter und Faeces). Ermittelt wurden bei allen Gruppen die Mortalität und das Biomassewachstum bei Versuchsende.

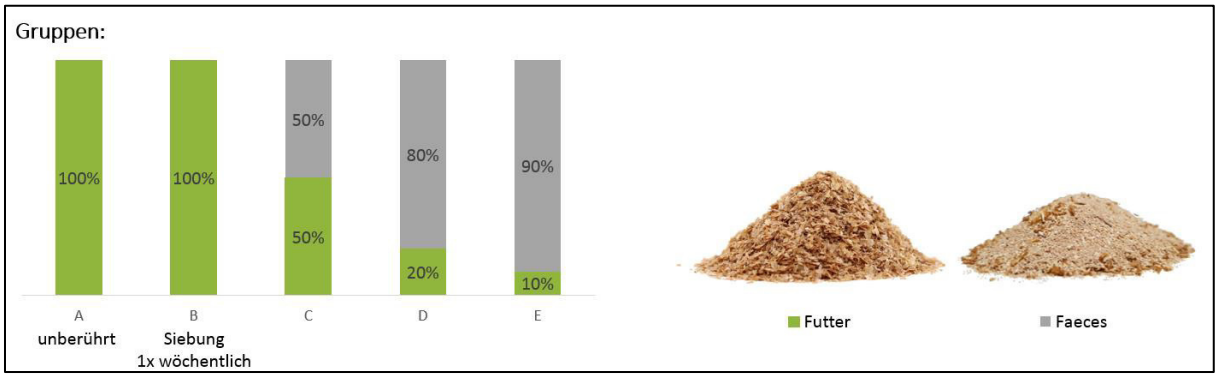

Abb. 11: Aufteilung der Gruppen. (A) 100% Futter, keine Faeces & Siebung, (B) 100% Futter, wöchentliche Abtrennung der Faeces, (C) 50% Futter & 50% Faeces, (D) 20% Futter & 80% Faeces, (E) 10% Futter & 90% Faeces.

Das Ergebnis ist in der Abb. 12 zu betrachten und zeigt, dass die Zugabe von Faeces nicht notwendig ist und das wöchentliche Abtrennen der Faeces keinen negativen Einfluss auf das Biomassewachstum der Larven hat. Die Reduzierung des Futters und die Erhöhung der Menge an Faeces bringt eine signifikante Verschlechterung des Biomassewachstums. Eine Mortalität konnte bei keiner Gruppe festgestellt werden.

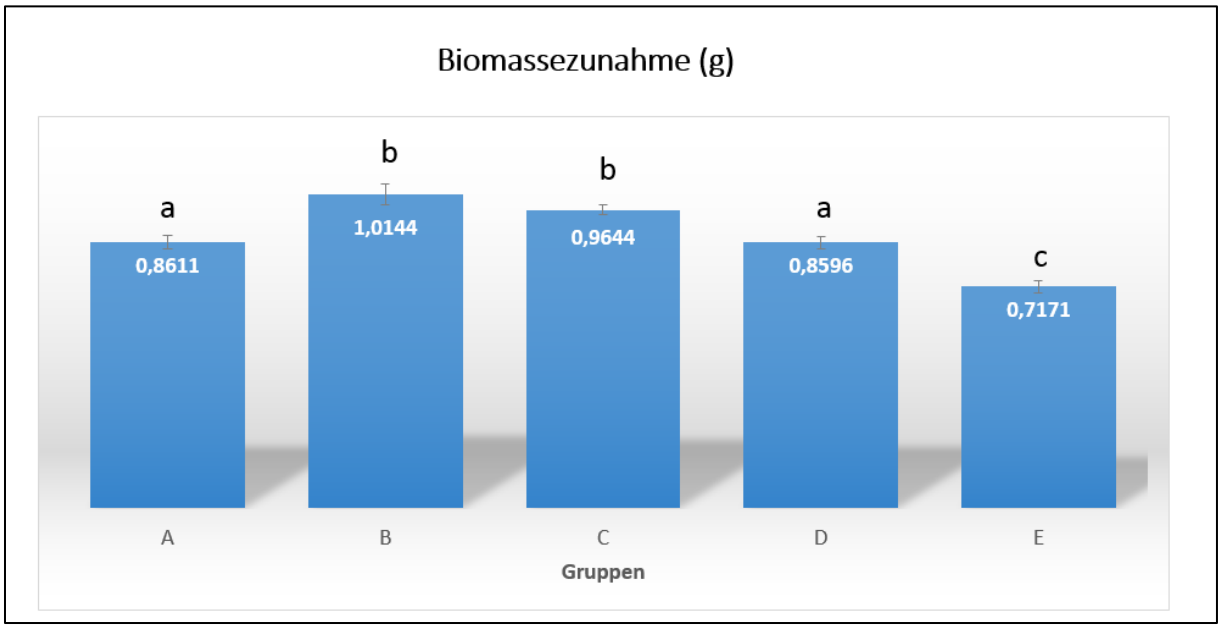

Abb. 12: Biomassezunahme (g) der Mehlkäferlarven. (A) 100% Futter, keine Faeces & Siebung, (B) 100% Futter, wöchentliche Abtrennung der Faeces, (C) 50% Futter & 50% Faeces, (D) 20% Futter & 80% Faeces, (E) 10% Futter & 90% Faeces. Treatments mit unterschiedlichem Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; $n = 3$).

5.2.3 Auswirkung von Zink auf Mehlkäferlarven

Zink ist ein wichtiges Spurenelement und eine Zink-Unterversorgung kann bei Menschen zahlreiche gesundheitliche Folgen haben wie z. B. ein geschwächtes Immunsystem, Hauterkrankungen oder hormonelle Störungen (Nriagu, 2011). Fast die Hälfte aller Menschen nimmt laut Weltgesundheitsorganisation (WHO) zu wenig Zink zu sich. Ein Grund für Zinkmangel ist die moderne Ernährung, die häufig sehr zinkarm ist. Der mittlere Zinkbedarf beträgt beim gesunden Erwachsenen laut WHO ca. 15 mg täglich. Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE) empfiehlt für Frauen eine tägliche Zufuhr von 7 mg (Schwangere und Stillende 10 bis 11 mg) und für Männer von 10 mg Zink (DGE, 2018). Auch bei Tieren kann Zinkmangel erhebliche Folgen haben, wie z. B. eine verminderte Nahrungsaufnahme, verschlechterte Verdauungsaktivität und reduzierte Immunabwehr (Brugger und Windisch, 2016).

Dieser Versuch soll deshalb den Einfluss der Zugabe von Zink in unterschiedlichen Konzentrationen zum Substrat (Weizenkleie) auf das Wachstum und die Mortalität von Mehlkäferlarven darstellen. Zudem sollte ermittelt werden, in welcher Konzentration und Form sich das Zink in den Larven anreichert. Bei einer positiven Bestätigung der Anreicherung von Zink im Organismus der Larve könnte durch den Verzehr dieser Larven eine ausreichende Versorgung und Aufnahme an Zink gewährleistet und so einer Mangelernährung bei Tieren und auch bei Menschen eventuell vorgebeugt werden.

In dem Versuch wurden 10 Untersuchungsgruppen mit jeweils 3 Replika in 400 ml Bechergläsern gehalten. In jedem Becherglas befanden sich 60 Larven im Alter von 6 Wochen. Die Temperatur betrug während des Versuchs 27°C und die relative Luftfeuchte wurde auf 75% festgelegt. Die Einteilung der Gruppen unterschied sich in der Menge des Zinkgehaltes im Futter und ist in Abb. 13 dargestellt. Die Gruppe A wurde als Kontrollgruppe festgelegt und enthielt unbehandelte Weizenkleie. Bei den Gruppen 2 – 10 wurde die Weizenkleie mit unterschiedlichen Anteilen an Zinksulfat ($ZnSO_4$) versetzt. Der natürliche Zinkgehalt der verwendeten Weizenkleie wurde vor Versuchsbeginn ermittelt und betrug 89,4 ± 4,6 mg/kg. Davon ausgehend wurde die Zinkkonzentration der Weizenkleie stufenweise bis zu 40fach erhöht. Die Fütterung erfolgte bei allen Gruppen *ad libitum*. Ermittelt wurden bei allen Gruppen die Mortalität und das Biomassewachstum bei Versuchsende.

Abb. 13: Aufteilung der Gruppen des Zinkversuchs. Gruppe 1: Kontrolle (Weizenkleie ohne Zusatz), Gruppen 2 – 10: Weizenkleie mit Zinkzusatz (2,5 bis 40 fache Menge des natürlichen Zinkgehalts der Weizenkleie).

Das Biomassewachstum der Mehlkäferlarven ist in der Abb. 14 dargestellt und zeigt, dass eine Erhöhung der Zinkkonzentration im Futter zu einer Einschränkung bzw. Abnahme des Biomassewachstums führt, sich jedoch lediglich die höheren Konzentrationen mit einer 20 – 40 fach erhöhten Zinkmenge (mit Ausnahme von 30 fach) signifikant auswirken. Eine Mortalität konnte bei keiner Gruppe festgestellt werden.

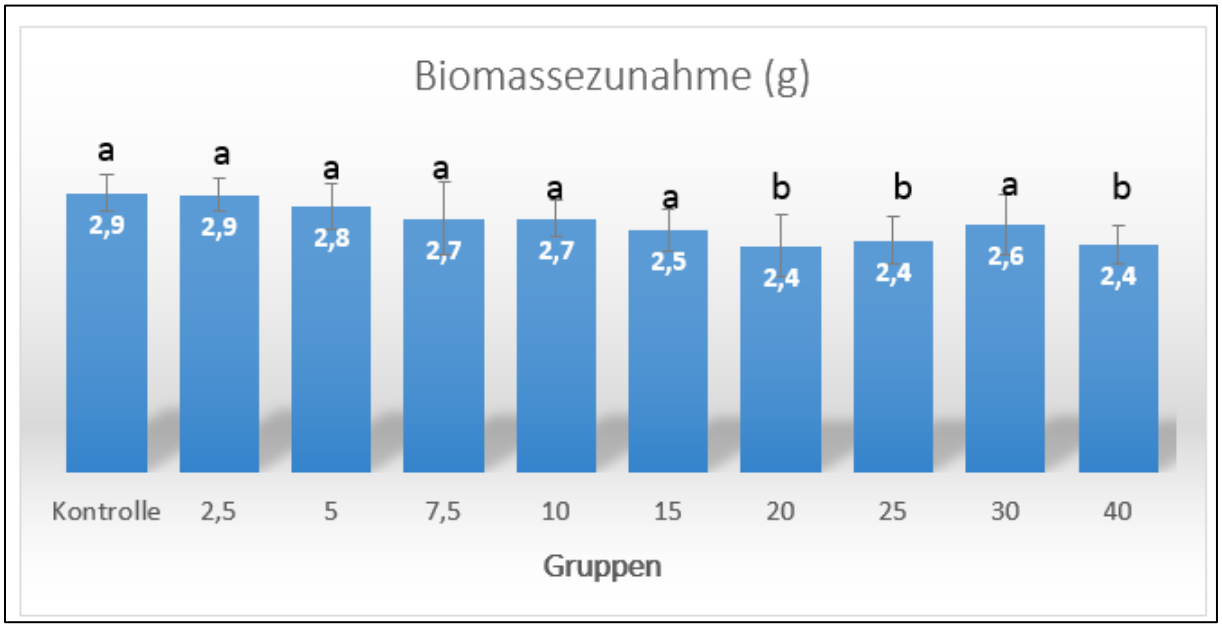

Abb. 14: Biomassezuname (g) der Mehlkäferlarven. Kontrollgruppe = Weizenkleie. 2,5 – 40 = Weizenkleie mit Zink in 2,5 bis 40facher Menge. Treatments mit unterschiedlichem Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; $n = 3$).

In der Abb. 15 ist die Wachstumseffizienz der Mehlkäferlarven (ECI) dargestellt. Diese wurde wie folgt berechnet:

$$\text{ECI (\%)} = \frac{\text{DWG} * 100}{\text{FC}}$$

DWG = Trockengewicht der Larven (g)

Berechnung: (Larvengewicht Versuchsende – Larvengewicht Versuchsbeginn) * 0,38

FC = Aufgenommene Nahrung (g) während der Versuchslaufzeit

Abb. 15 zeigt, dass die Wachstumseffizienz bei der Kontrollgruppe mit der reinen Weizenkleie am höchsten war. Die anderen Gruppen mit der erhöhten Zinkkonzentrationen unterscheiden sich nicht signifikant ($p > 0,05$).

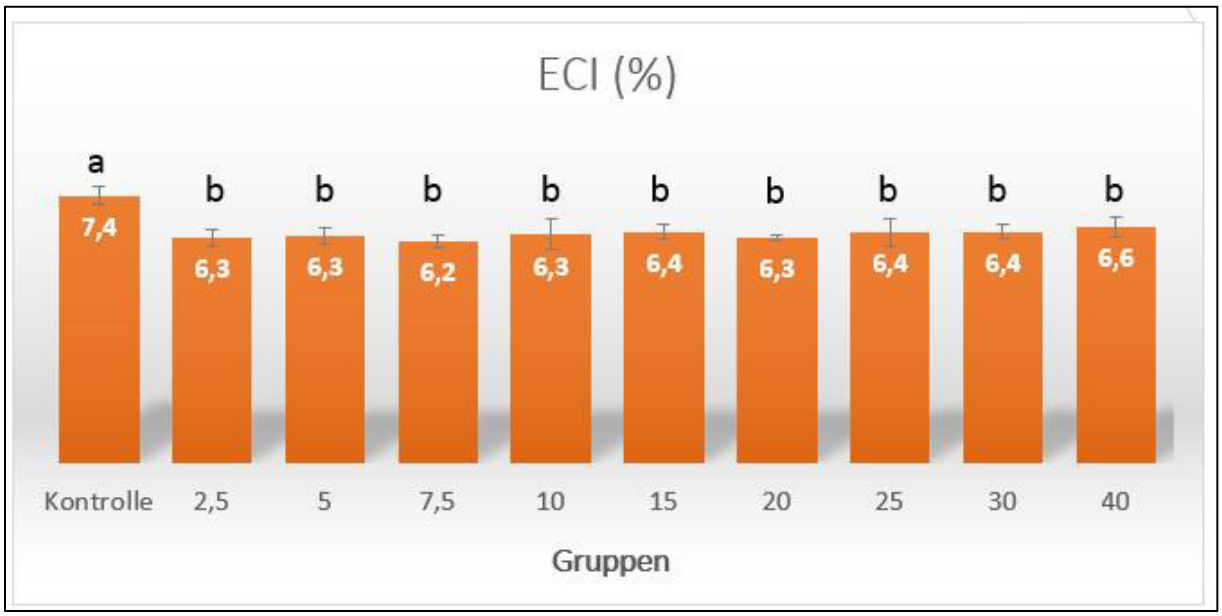

Abb. 15: ECI (%) der Mehlkäferlarven. Kontrollgruppe = Weizenkleie. 2,5 – 40 = Weizenkleie mit Zink in 2,5 bis 40facher Menge. Treatments mit unterschiedlichem Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; $n = 3$).

Die Berechnung des Bioakkumulationsfaktors (BAF) unter Einbezug der Zinkgehalte in den jeweiligen Futteransätzen wurde wie folgt vorgenommen:

$\text{Zn-Gehalt}_{\text{Larve}}$ [mg/kg]/ $\text{Zn-Gehalt}_{\text{Kleie}}$ [mg/kg]

Das Ergebnis des Bioakkumulationsfaktors ist in Abb. 16 abgebildet. Dieser stellt die Anreicherung des Zinks im Larvenkörper dar. Der Zinkgehalt im Larvenkörper nimmt zwar mit steigender Zinkkonzentration in der Weizenkleie zu, jedoch ist die Anreicherung vergleichsweise gering und sinkt mit erhöhter Zinkkonzentration. Eine mögliche

Begründung liegt hierbei in dem hohen Phytatgehalt der Weizenkleie, welches als Metal-Chelat-Bildner dafür sorgen kann, dass das Zink in gebundener Form vorliegt und nicht mehr von den Larven aufgenommen werden kann.

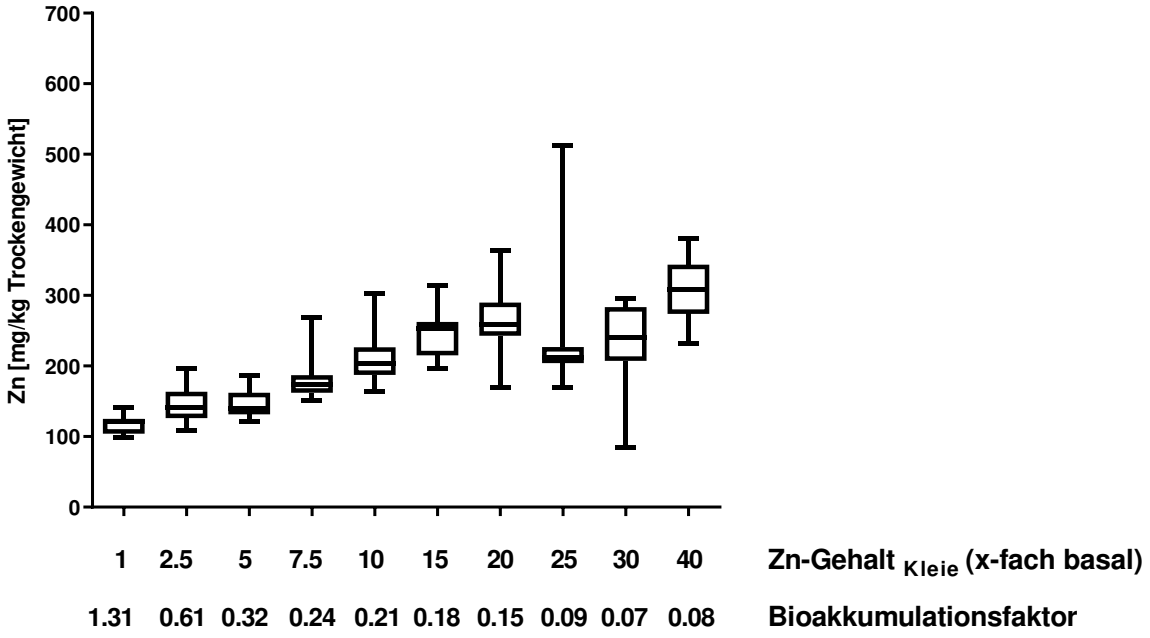

Abb. 16: Bioakkumlationsfaktor von Zink mit unterschiedlicher Konzentration in den Mehlkäferlarven.

In der Abb. 17 sind die Konzentrationen an Kupfer, Mangan und Cadmium in den Mehlkäferlarven in Abhängigkeit von der Zinkkonzentration dargestellt. Die ermittelten Zink-, Kupfer-, Mangan- und Cadmiumgehalte liegen in den Angaben der Literatur (Simon et al., 2013; Van der Fels-Klerx et al., 2016). Der Kupfergehalt wird nicht signifikant beeinflusst, jedoch unterscheiden sich der Mangan- und Cadmiumgehalt signifikant von der Anfangskonzentration, ausgehend von der natürlichen Menge an Zink in der Weizenkleie. Es besteht die Annahme, dass die Mehlkäferlarven, ähnlich wie Säugetiere, Transportzellen besitzen, welche bestimmte Metalle abfangen und für den Organismus unzugänglich machen.

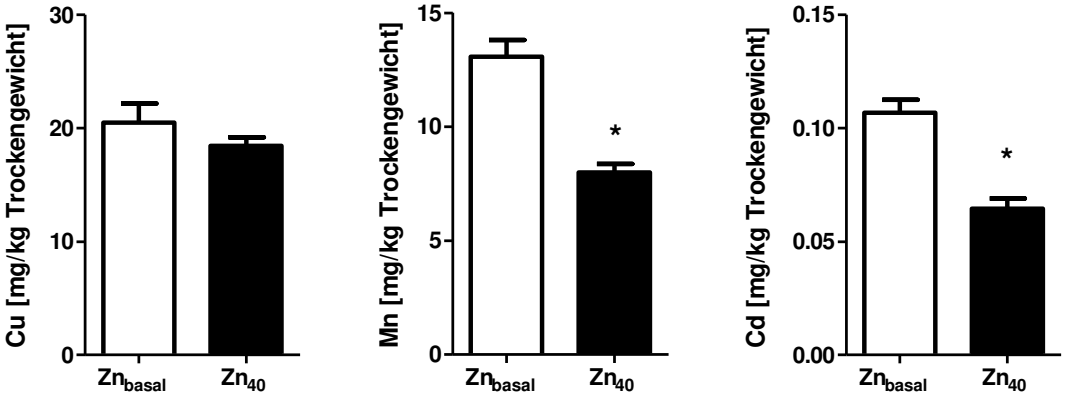

Abb. 17: Konzentration von Kupfer, Mangan und Cadmium in Mehlkäferlarven in Abhängigkeit von der Zinkkonzentration.

Für die weitere Erforschung der Auswirkungen der Zugabe von Zink bietet sich an, ein anderes Substrat zu wählen, welches weniger Phytat enthält, um die aufgestellte These zu überprüfen. Hierfür könnten andere Getreidearten oder auch Weizenmehl getestet werden.

5.2.4 Auswirkung von Stress auf Mehlkäferlarven

Dieser Versuch konzentriert sich auf den Einfluss von Stress durch Handling und dessen Auswirkung auf das Wachstum bei Mehlkäferlarven. Der Stress der Handhabung wurde in diesem Fall durch einen Siebprozess und einem anschließendem Selektieren per Hand oder Pinzette durchgeführt. Hierbei sollte untersucht werden, ob das häufige Handling der Larven mit einem Sieb die Akkumulation der Biomasse bei den Larven negativ beeinflusst. Dies würde auch bei der Automatisierung der Aufzucht eine Rolle spielen. Die Versuchsdauer betrug 3 Wochen.

In dem Versuch wurden 5 Untersuchungsgruppen mit jeweils 5 Replika in Petrischalen gehalten. Pro Petrischale befanden sich 27 Larven bzw. 0,44 Larven pro cm². Die Einteilung der Gruppen unterschied sich in der Handhabung der Larven, die während einer Messung durchgeführt wurden. Dazu gab es die Wahl, ob die Larven per Hand (Gruppenbezeichnung: H) aufgelesen wurden oder via einer Federstahlpinzette (Gruppenbezeichnung: T). Zudem wurde auch untersucht, ob eine Bemessung der Gruppe über eine Teilmenge pro Behälter ausreichend ist, um eine statistische verlässliche

Aussage treffen zu können. Als Teilmenge wurden bei jeder Messung 7 zufällig ausgewählte Larven pro Behälter gewählt (Bezeichnung: 7s), dem gegenüber stand die Bemessung alle Larven (35 Larven pro Behälter, Bezeichnung: t). Bis auf die Kontrollgruppen wurde alle zwei Tage die Biomasse der Gruppen aufgenommen. Die Kontrolle wurde nur zu Beginn bemessen und gegen Ende des Versuches.

Das Ergebnis ist in der Abb. 18 zu betrachten und zeigt übersichtlich, dass durch die Behandlung kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen und der Kontrolle zu sehen ist. Hierbei ist das Abgehen der Gruppe H7s nicht statistisch kräftig genug, da durch die Art und Weise der Selektion der 7 Larven ein starker „Observer-bias"-Effekt auftritt und daher für Folgeversuche nicht praktikabel ist.

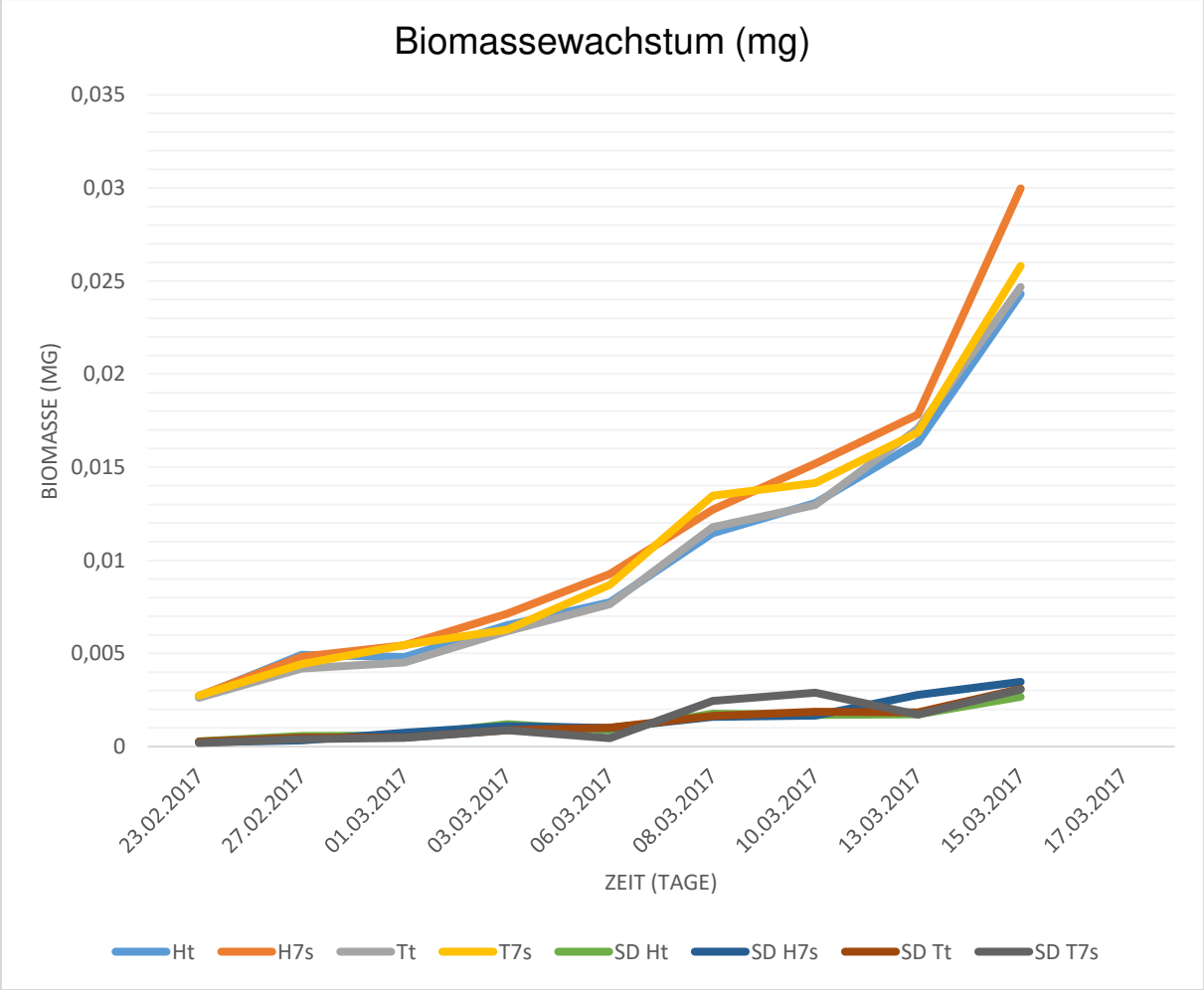

Abb. 18: Biomassenwachstum von *T. molitor* Larven über 3 Wochen mit Hand- oder Pinzetten-Handhabung der Larven. Bezeichnung: H) Handhabung direkt mit den Händen, T) Handhabung der Larven über eine Federstahlpinzette, 7s) Auswahl von zufällig 7 Larven aus 35 pro Petrischale, t) alle 35 Larven zur Bemessung herangezogen pro Petrischale, SD) Standardabweichung.

5.2.5 Auswirkung von Hefe auf Mehlkäferlarven

Über diesen Test sollte die Wirkung von Bierhefe untersucht werden. Nach Martin und Hare (1942) sowie Fraenkel, Blewett und Coles (1950) wird Bierhefe, als Zusatz im Substrat, ein Effekt der erhöhten Futteraufnahme zugesprochen.

In dem Versuch wurden 5 Untersuchungsgruppen mit jeweils 5 Replika in Petrischalen gehalten. In den Petrischalen befanden sich 27 Larven bzw. 0,44 Larven pro cm².
Die Gruppen bzw. die Larven wurden mit Weizenkleie gefüttert, die mit unterschiedlichen Hefe-Konzentrationen versetzt wurden ist. Als Kontrolle wurde eine Gruppe nur mit reiner Weizenkleie ohne zusätzliche Hefe gefüttert.

In der Abb. 19 zeigt sich, dass schon eine geringe Menge Hefe förderlich ist für den Biomassezuwachs für *T. molitor* Larven. Die Gruppe mit der höchsten Hefekonzentration von 8% erzielte auch den stärksten Biomassezuwachs in diesen Versuch und konnte damit nicht dazu genutzt werden, einen Sättigungsverhalten bzw. Kurve bei den Larven über die unterschiedlichen Hefekonzentrationen zu ermitteln. Ergänzend ist dieser einzelne Test nicht ausreichend, um eine optimale Hefezugabe pro Biomasse an Larve auszurechnen und erfordert weitere tiefergehende Untersuchungen.

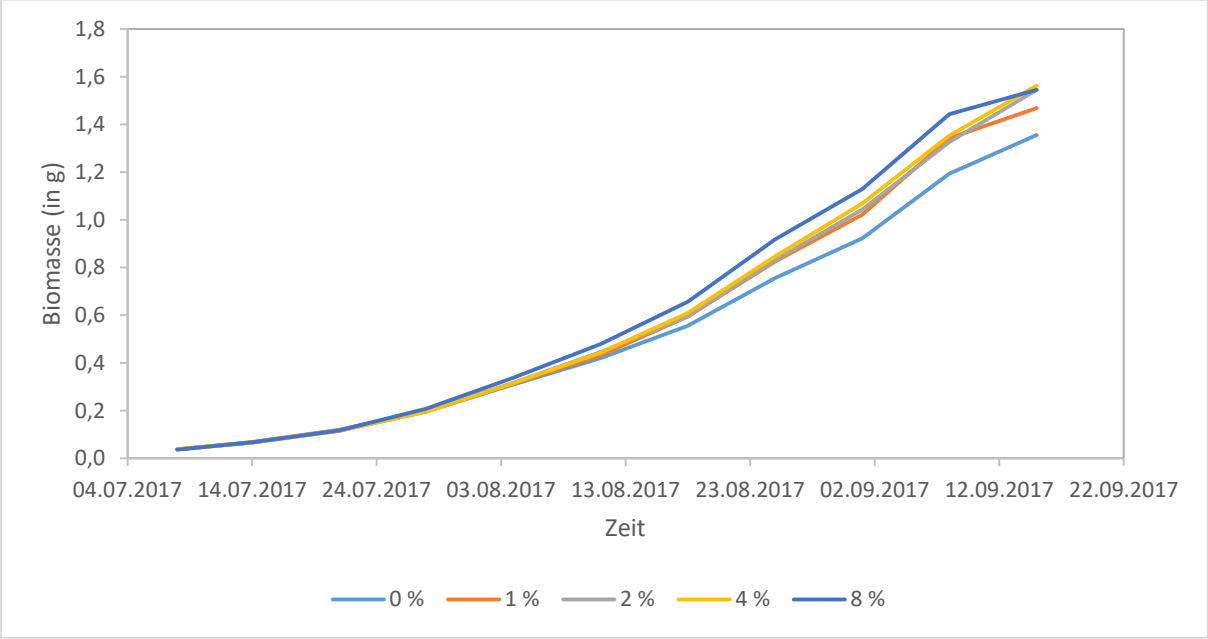

Abb. 19: Biomassenwachstum von T. molitor Larven über 3 Wochen in Abhängigkeit unterschiedlicher Hefekonzentrationen in der Weizenkleie. Bezeichnung: 0 %) Kontrollgruppe, keine Hefe in der Weizenkleie, 1 bis 8 %) Angabe über die Hefekonzentration im Nahrungssubtrat Weizenkleie.

5.2.6 Auswirkung von Champost auf Mehlkäferlarven

Champost (auch Champignonerde oder abgetragene Pilzkultursubstrate genannt) wird beim professionellen Champignon-Anbau verwendet. In diesem Substrat werden unter kontrollierten klimatischen Bedingungen Champignons herangezüchtet. Dabei dient das Substrat vor allem als Feuchtigkeitsspeicher. Überwiegende Komponente bei der Substratherstellung ist Pferdemist. Je nach Preisniveau und regionaler Verfügbarkeit werden Hühnermist, Stroh, Kalk und Torf hinzugemischt. Champost wurde von der Firma Weiße Köpfe Vertriebs-GmbH (Emstek, Deutschland) für Versuchszwecke zur Verfügung gestellt. Getestet werden sollte hierbei, ob es sich als Substrat für die Ernährung von Mehlkäferlarven eignet.

In dem Versuch wurden 5 Untersuchungsgruppen mit jeweils 3 Replika in 400 ml Bechergläsern gehalten. In jedem Becherglas befanden sich 100 Larven im Alter von 6 Wochen. Die Temperatur betrug während des Versuchs 27°C und die relative Luftfeuchte wurde auf 75% festgelegt. Die Einteilung der Gruppen unterschied sich in der unterschiedlichen Menge an Champost und Weizenkleie, welche den Larven während des Versuchs zur Verfügung stand, und ist in Abb. 20 dargestellt. Die Gruppe E wurde ausschließlich mit Weizenkleie, die Gruppe A mit Champost und Weizenkleie im Verhältnis 50:50 gefüttert. In der Gruppe B wurde der Anteil an Champost reduziert (25%) und der Anteil an Weizenkleie angehoben (75%). Bei Gruppe C wurden 10% Champost zu 90% Weizenkleie hinzugegeben und bei Gruppe D 2% Champost und 98% Weizenkleie. Ermittelt wurden bei allen Gruppen die Mortalität und das Biomassewachstum bei Versuchsende. Die Versuchslaufzeit betrug 6 Wochen.

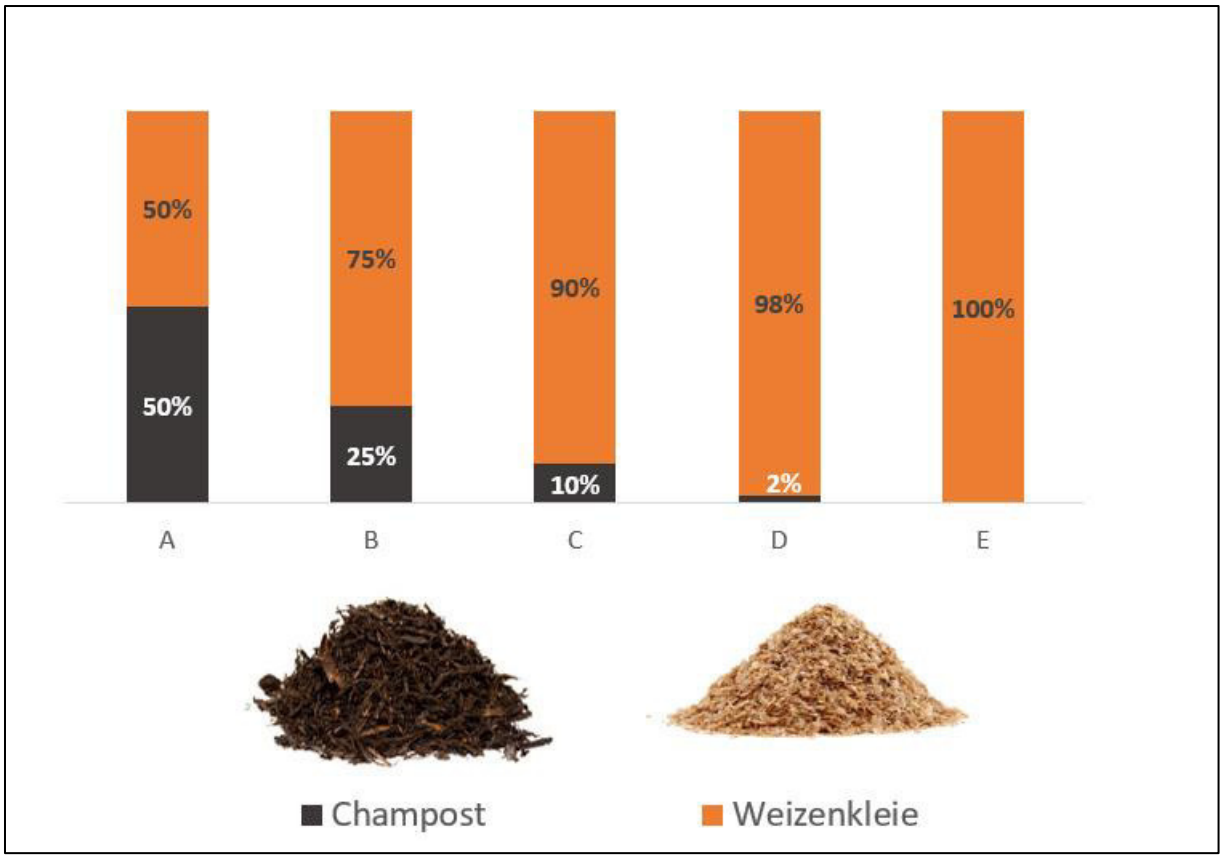

Abb. 20: Aufteilung der Gruppen. (A) 50% Champost & 50% Weizenkleie, (B) 25% Champost & 75% Weizenkleie, (C) 10% Champost & 90% Weizenkleie, (D) 2% Champost & 98% Weizenkleie, (E) 100% Weizenkleie.

In der Abb. 21 ist die Biomassezunahme der Mehlkäferlarven nach Verfütterung von Champost und der Kontrolle (Weizenkleie) dargestellt. Die Kontrollgruppe und die Gruppe mit der 2%igen Zugabe von Champost unterscheiden sich nicht signifikant. Je höher der Anteil an Champost in der Ernährung der Larven, umso niedriger fallen die Wachstumsraten aus. Es kam in allen Gruppen zu keinerlei Mortalität. Dies zeigt, dass eine geringe Zugabe von bis zu 2% für die Larven keine negative Wachstumsbeeinträchtigung ergibt, allerdings kann nicht sichergestellt werden, dass die Larven Champost verwertet haben, ggf. haben sie sich nur von der Weizenkleie ernährt. Dies müsste bei Bedarf näher untersucht werden, um sicherzustellen, dass Champost mit einem geringen Anteil als Substrat verwendet werden kann. Jedoch sollten keine zu hohen Mengen an die Insekten verfüttert werden.

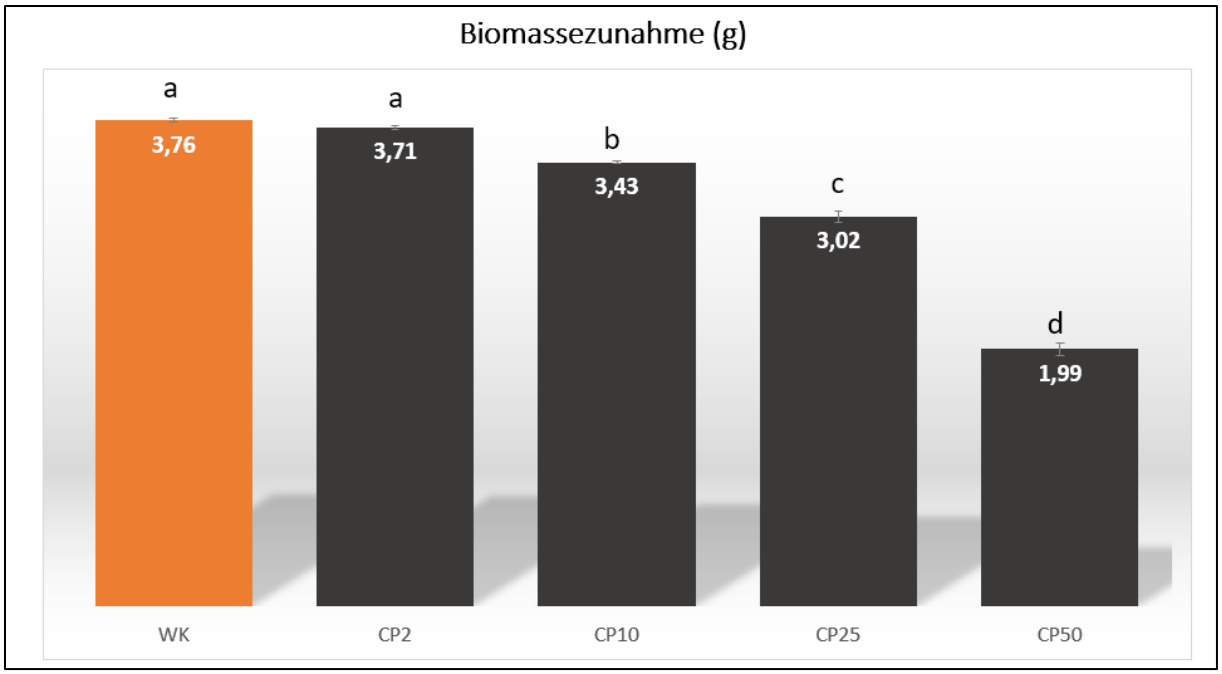

Abb. 21: Biomassezunahme der Larven. Treatments mit unterschiedlichem Buchstaben unterscheiden sich signifikant (p < 0,05; n = 3). Gruppen: (WK) 100 % Kleie, (CP2) 2% Champost & 98% Kleie, (CP10) 10% Champost & 90% Kleie, (CP25) 25% Champost & 75% Kleie, (CP50) 50% Champost & 50% Kleie.

5.2.7 Auswirkung von Kaffeetreber auf Mehlkäferlarven

In diesem Versuch sollte die Auswirkung von Kaffeetreber, der nach der Kaffeezubereitung im Filter zurückbleibende Rest der gemahlenen Kaffeebohne, untersucht werden. Der Kaffeetreber wurde von der Firma Neuhaus Neotec Maschinen und Anlagenbau GmbH (Ganderkesee, Deutschland) zur Verfügung gestellt und vor Versuchsbeginn auf einen Feuchtegehalt von ca. 7% getrocknet.

In dem Versuch wurden 5 Untersuchungsgruppen mit jeweils 3 Replika in Petrischalen mit einem Durchmesser von 10 cm gehalten (siehe Abb. 22). In jeder Petrischale befanden sich 20 Larven im Alter von 6 Wochen. Die Temperatur betrug während des Versuchs 27°C und die relative Luftfeuchte wurde auf 75% festgelegt. Die Einteilung der Gruppen unterschied sich in der unterschiedlichen Menge an Kaffeetreber und Weizenkleie, welche den Larven während des Versuchs zur Verfügung stand, und ist in Abb. 22 dargestellt. Die Gruppe A wurde ausschließlich mit Kaffeetreber gefüttert und Gruppe E nur mit Weizenkleie. Die Gruppe B wurde mit Kaffeetreber und Weizenkleie im Verhältnis 50:50 gefüttert. In der Gruppe C wurde der Anteil an Kaffeetreber reduziert (25%) und der Anteil an Weizenkleie angehoben (75%). Bei Gruppe D wurden 10% Kaffeetreber zu 90% Weizenkleie hinzugegeben. Ermittelt wurden bei allen

Gruppen die Mortalität und das Biomassewachstum bei Versuchsende. Die Versuchslaufzeit betrug 3 Wochen.

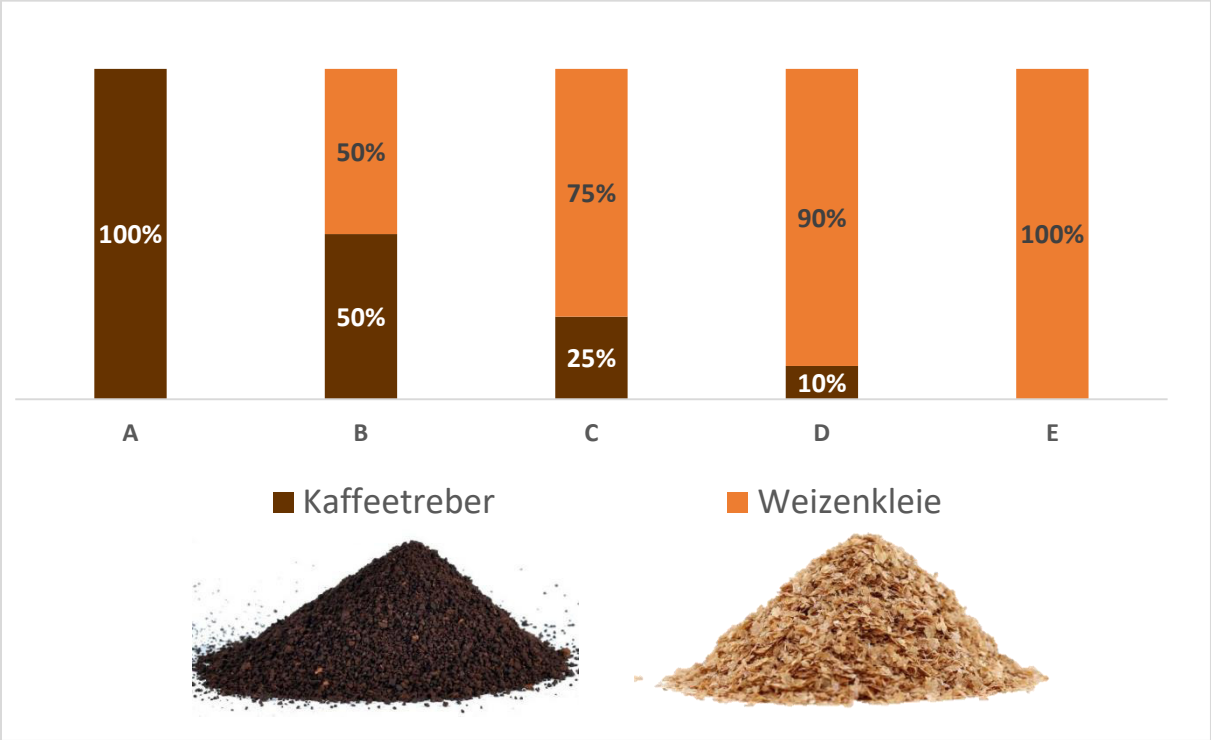

Abb. 22: Aufteilung der Gruppen. (A) 100% Kaffeetreber, (B) 50% Kaffeetreber & 50% Weizenkleie, (C) 25% Kaffeetreber & 75% Weizenkleie, (D) 10% Kaffeetreber & 90% Weizenkleie, (E) 100% Weizenkleie.

Das Biomassewachstum der Mehlkäferlarven ist in der Abb. 23 dargestellt und zeigt, dass das höchste Wachstum mit der Kontrollgruppe (Weizenkleie) erreicht wurde. Je höher der Gehalt an Kaffeetreber, je schlechter ist die Nahrungsaufnahme bzw. die Biomassezunahme der Larven. Zudem konnte eine erhöhte Mortalität bei hoher Dosierung von Kaffeetreber festgestellt werden. Bei anderen Schwarzkäferarten wie dem Rotbraunen Reismehlkäfer (*Tribolium castaneum*) konnte ermittelt werden, dass bei einer Verfütterung von Kaffee das Koffein toxisch wirkt (Nishi et al., 2010; Phankaen et al., 2017). Viele Pflanzen, wie z. B. die Kaffee-, Kakao- oder Teepflanze, produzieren Koffein als Fraßschutz gegen Insekten. Daher wird angenommen, dass das enthaltene Koffein ebenfalls einen negativen Effekt auf die Larven von *T. molitor* hat und diese deshalb den Kaffeetreber nicht gefressen haben

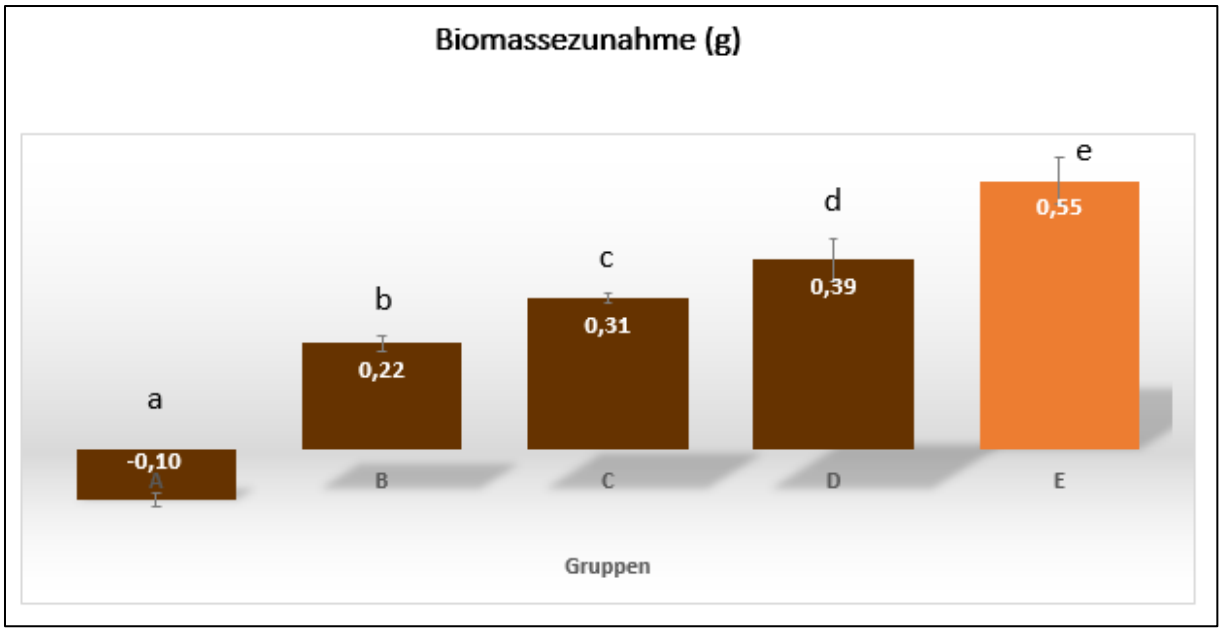

Abb. 23: Biomassezunahme der Larven. Treatments mit unterschiedlichem Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; $n = 3$). Gruppen: (A) 100 % Kaffeetreber, (B) 50% Kleie & 50% Kaffeetreber, (C) 75% Kleie & 25% Kaffeetreber, (D) 90% Kleie & 10% Kaffeetreber, (E) 100% Kleie.

In Abb. 24 sind die Larven der Gruppe B dargestellt. Hier ist zu erkennen, dass die Larven ausschließlich die Weizenkleie, jedoch nicht den Kaffeetreber gefressen haben. Die hellen Partikel sind die Faeces der Larven, die Weizenkleie wurde komplett gefressen, die dunklen größeren Partikel sind der Kaffeetreber. Abschließend betrachtet eignet sich Kaffeetreber nicht als Nahrung für Mehlkäferlarven.

Abb. 24: Mehlkäferlarven in der Gruppe B, welche zu 50% mit Kleie und Kaffeetreber gefüttert wurden. Hier ist deutlich erkennbar, dass die Larven lediglich die Kleie, jedoch nicht den Kaffeetreber gefressen haben.

5.2.8 Auswirkung von Algen auf Mehlkäferlarven

Mikroalgen werden wegen ihrer hochwertigen und gesundheitsfördernden Inhaltsstoffe vor allem als Ausgangsstoff für die Herstellung von Lebens- und Futtermitteln geschätzt. Das hochwertige pflanzliche Protein macht sie zu einer Alternative für tierische oder andere Eiweißquellen. Wegen ihres geringeren Ausstoßes von Treibhausgasen helfen sie zudem, Ressourcen zu schonen. In diversen Studien mit z. B. Fischen und Schweinen, konnte herausgefunden werden, dass die Zugabe von Algen wie *Spirulina platensis* zur Ernährung dieser Tiere, einen wachstumsfördernden Effekt hat (Grinstead et al., 2000; Teimouri et al., 2019). Daher sollte in diesem Versuch die Zugabe von *Spirulina platensis* und *Chlorella vulgaris* als Ergänzungsfuttermittel für Mehlkäferlarven getestet werden.

Das hier getestete Bio Spirulina Pulver (NaturaForte, Deutschland) enthält das Cyanobakterium *Spirulina platensis.* Spirulina gehört zur Gattung der Cyanobakterien und lässt sich in bis zu 35 Arten unterteilen. Das Bio Chlorella Pulver ist ebenfalls von NaturaForte (Deutschland). Chlorella ist eine kugelförmige Süßwasseralge, die durch das enthaltene Chlorophyll in einer intensiv grünen Farbe strahlt. Mit einem Durchmesser von 2 bis 10 µg sind sie sehr klein und nur unter dem Mikroskop sichtbar.

In dem Versuch wurden 5 Untersuchungsgruppen mit jeweils 3 Replika in 400 ml Bechergläsern gehalten. In jedem Becherglas befanden sich 100 Larven im Alter von 6 Wochen. Die Temperatur betrug während des Versuchs 27°C und die relative Luftfeuchte wurde auf 75% festgelegt. Die Einteilung der Gruppen unterschied sich in der unterschiedlichen Menge an Algen (Spirulina oder Chlorella) und Weizenkleie, welche den Larven während des Versuchs zur Verfügung stand, und ist in Abb. 25 dargestellt. Die Gruppe E wurde ausschließlich mit Weizenkleie gefüttert. Die Gruppe A wurde ausschließlich mit 100% Spirulina oder 100% Chlorella gefüttert. Die Gruppe B wurde entweder mit Spirulina und Weizenkleie oder mit Chlorella und Weizenkleie im Verhältnis 50:50 gefüttert. In der Gruppe C wurde der Anteil an Alge reduziert (25%) und der Anteil an Weizenkleie angehoben (75%). Bei Gruppe D wurden 5% Alge zu 95% Weizenkleie hinzugegeben. Gruppe E wurde mit reiner Weizenkleie gefüttert. Ermittelt wurden bei allen Gruppen die Mortalität und das Biomassewachstum bei Versuchsende. Die Versuchslaufzeit betrug 6 Wochen.

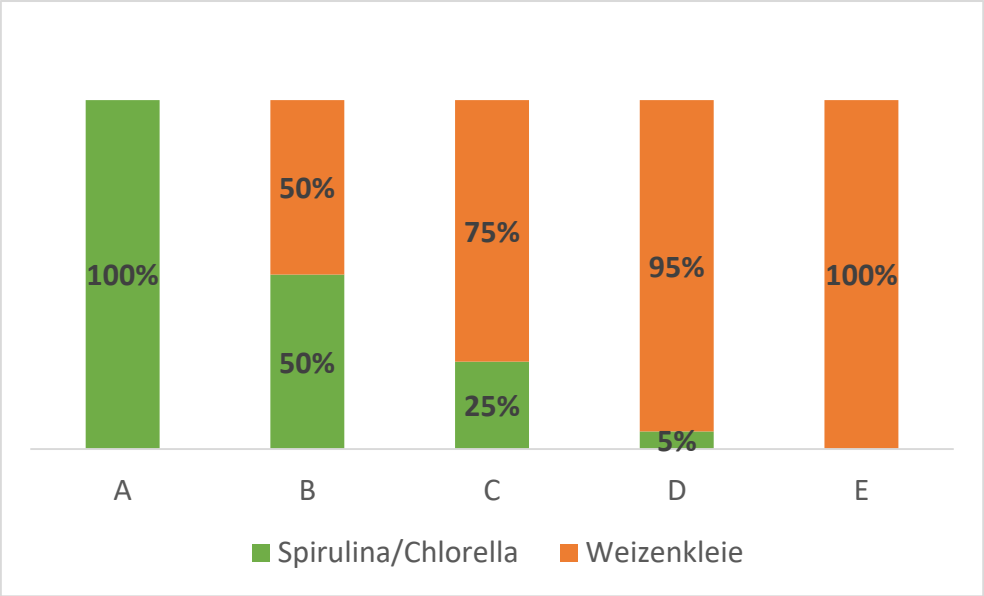

Abb. 25: Aufteilung der Gruppen. (A) 100% Spirulina/Chlorella, (B) 50% Spirulina/Chlorella & 50% Weizenkleie, (C) 25% Spirulina/Chlorella & 75% Weizenkleie, (D) 5% Spirulina/Chlorella & 95% Weizenkleie, (E) 100% Weizenkleie.

In der Abb. 26 ist das Biomassewachstum der Larven bei Fütterung mit Spirulina dargestellt. Im Vergleich zur Kontrollgruppe (Weizenkleie) konnte eine signifikante Steigerung des Wachstums bei bis zu 25%iger Zugabe der Alge festgestellt werden. Bei einer höheren Dosierung sind sinkende die Wachstumsraten zu verzeichnen. Es kam in allen Gruppen zu keinerlei Mortalität.

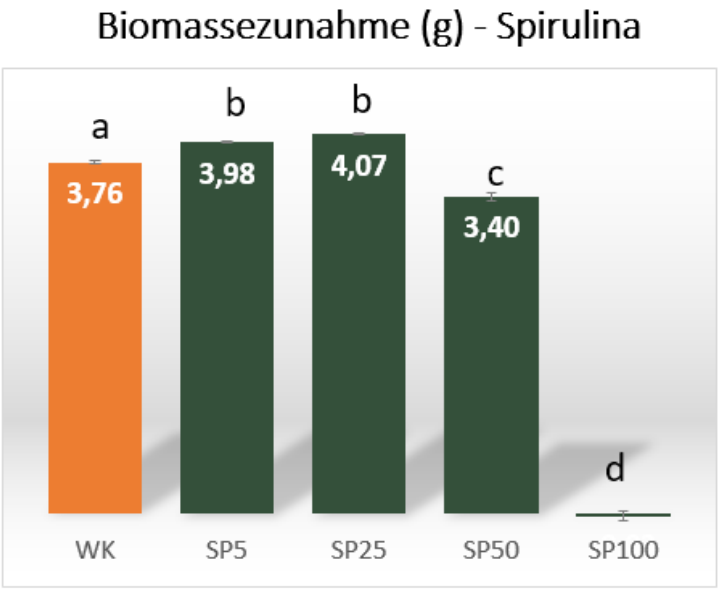

Abb. 26: Biomassezunahme der Larven. Treatments mit unterschiedlichem Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; $n = 3$). (SP100) 100% Spirulina/Chlorella, (SP50) 50% Spirulina/Chlorella & 50% Weizenkleie, (SP25) 25% Spirulina/Chlorella & 75% Weizenkleie, (SP5) 5% Spirulina/Chlorella & 95% Weizenkleie, (WK) 100% Weizenkleie.

In der Abb. 27 ist das Biomassewachstum der Larven bei Fütterung mit Spirulina dargestellt. Im Vergleich zur Kontrollgruppe (Weizenkleie) konnte eine signifikante Steigerung des Wachstums bei bis zu 25%iger Zugabe der Alge festgestellt werden. Bei einer höheren Dosierung sind sinkende die Wachstumsraten zu verzeichnen. Es kam in allen Gruppen zu keinerlei Mortalität.

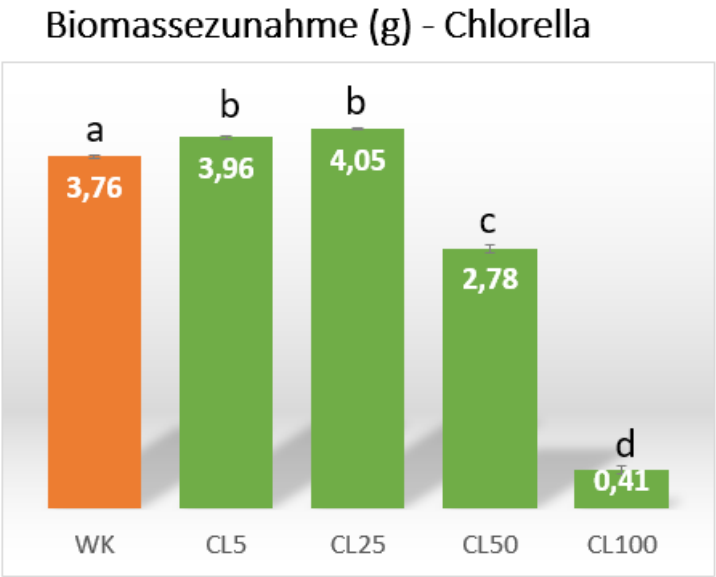

Abb. 27: Biomassezunahme der Larven. Treatments mit unterschiedlichem Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; $n = 3$). (CL100) 100% Spirulina/Chlorella, (CL50) 50% Spirulina/Chlorella & 50% Weizenkleie, (CL25) 25% Spirulina/Chlorella & 75% Weizenkleie, (CL5) 5% Spirulina/Chlorella & 95% Weizenkleie, (WK) 100% Weizenkleie.

Eine Begründung für die erhöhten Wachstumsraten kann in der Zusammensetzung der Weizenkleie und den Algen gefunden werden. Spirulina und auch Chlorella haben einen Proteingehalt von 50 – 60%, einen Fettgehalt von 8 – 10% und einen Gehalt an Kohlenhydraten von 20 – 30% (Celekli et al., 2019; Xie et al., 2017). Im Vergleich dazu hat Weizenkleie einen Proteingehalt von 20 – 30 %, einen Fettgehalt von 5 – 10% und einen Kohlenhydratgehalt von 20 - 30% (Prückler et al., 2014). Vor allem die Zusammensetzung des Substrats hat einen großen Einfluss auf die Zusammensetzung der Insekten. Algen haben einen viel höheren Gehalt an Proteinen und Fetten, welcher bei Insekten zu einem erhöhten Biomassewachstum führen kann (Van Broekhoven et al., 2014).

Als Ergänzungsfuttermittel können Algen wie Spirulina oder Chlorella durchaus eine Möglichkeit zur Ernährung von Insekten darstellen und als Nahrungsergänzungsfuttermittel verwendet werden, als Alleinfuttermittel (100%) eignen sich diese Algen jedoch nicht.

5.3 AS 3: *Futtermittelsicherheit*

Im Zentrum dieser Frage steht zu Beginn die Untersuchung des Substrats hinsichtlich der Zusammensetzung und des Vorhandenseins unerwünschter Stoffe.

5.3.1 Auswirkung von Fusarium-Toxinen auf Mehlkäferlarven

Im Fokus steht hier die Untersuchung der Auswirkung von mykotoxinbelastetem Futter und deren Einfluss auf die Entwicklung von Mehlkäferlarven. Hierfür wurde ein Versuch mit unterschiedlichen Mykotoxinkonzentrationen bei einer hohen Larvendichte (2,26 Larven pro cm² bzw. 100 Larven pro Becherglas) angesetzt. Zu diesem Zweck wurde Zearalenon als Mykotoxin ausgewählt und mit unterschiedlichen Konzentrationen (500 µg/kg und 2000 µg/kg) und unterschiedlichen Vorbehandlungen (künstlich oder natürlich appliziert) in Weizenmehl hinzugemischt. Zudem liefen parallel eine mykotoxinfreie Kontrollgruppe und zwei Gruppen, deren Weizenmehl mit dem zearalenon-produzierendem Pilz (*Fusarium spp.*) versetzt war. Der Untersuchungszeitraum betrug insgesamt 8 Wochen, in denen nach den ersten 4 Wochen die erste Messung stattfand und nach weiteren 4 Wochen eine zweite Messung den Versuch abschloss. Das Ergebnis kann in der Abb. 28 betrachtet werden und zeigt, dass die unterschiedlichen Konzentrationen (T2 bis T5) sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe (T1) unterscheiden. Dies deutet darauf hin, dass zumindest bei diesen Konzentrationen von Zearalenon das Wachstum von *T. molitor* Larven weder negativ noch positiv beeinflusst wird. Jedoch scheint der Fusarium-Pilzkörper (T6 und T7) selbst eine sehr positive Wirkung auf das Wachstum der Larven zu haben. Hierbei ist anzumerken, dass nicht nur die Biomasseakkumulation davon positiv beeinflusst wird sondern auch die allgemeine Larvenentwicklung beschleunigt wird. Innerhalb des Versuchs sind die beiden Gruppen mit *Fusariumhyphen* im Weizenmehl (T6 und T7) die einzigen, deren Larven sich im Versuchszeitraum weiter zu Puppen entwickelt haben.

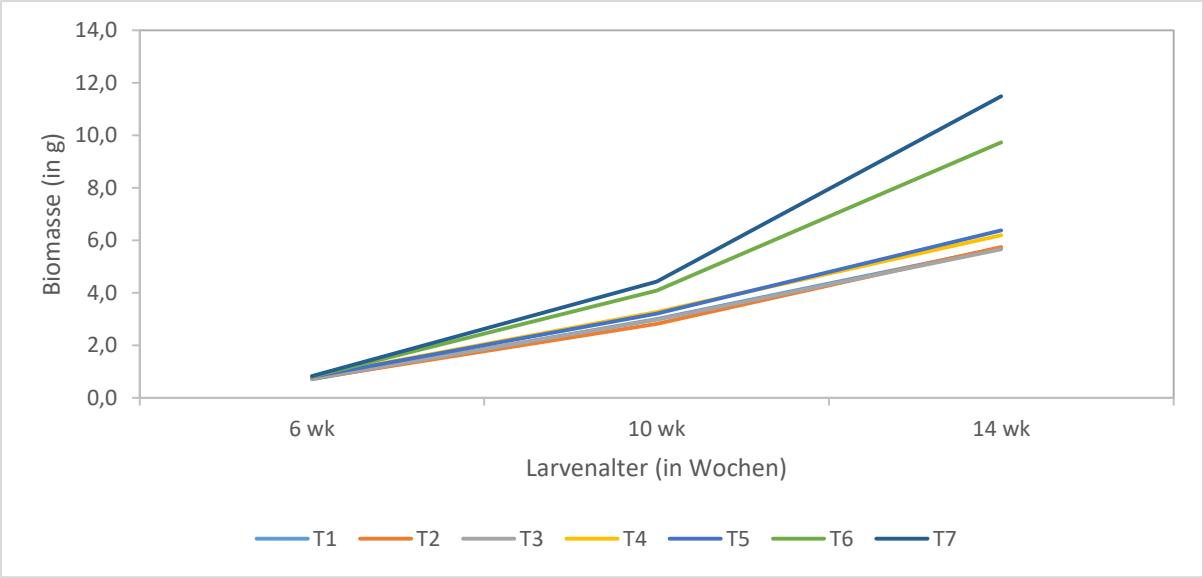

Abb. 28: Biomassenwachstum von T. molitor Larven über 8 Wochen in Abhängigkeit von unterschiedlichen Mykotoxinkonzentrationen im Nahrungssubtrat. Bezeichnung: T1) Kontrolle kein Mykotoxin, T2) Zearalenon künstlich 500 µg/kg, T3) Zearalenon künstlich 2000 µg/kg, T4) Zearalenon natürlich 500 µg/kg, T5) Zearalenon künstlich 2000 µg/kg, T6) Fusarium spp. 500 µg/kg, T7) Fusarium spp. 840 µg/kg.

Hier sind eine weitere Untersuchungen nötig, um zu verstehen, wie es durch die Verfütterung von Fusarienhyphen zu einer Wachstumssteigerung kommen konnte und wie genau die Verstoffwechselung von Mykotoxinen abläuft.

5.3.2 Auswirkung von Fusarium- & Aspergillus-Toxinen auf Mehlkäferlarven

Hierfür wurde ein Versuch mit unterschiedlichen Mykotoxinenkonzentrationen bei einer hohen Larvendichte (2,26 Larven pro cm² bzw. 100 Larven pro Becherglas) für 6 Wochen angesetzt. Da eine natürliche Kontamination mit Zearalenon überwiegend bei Weizen erfolgt und Aflatoxin B1 sich zum größten Teil in Mais befindet, wurden für diesen Versuch Weizenmehl bzw. Maismehl verwendet. Zu diesem Zweck wurde das Fusarium-Toxin Zearalenon (ZEA) mit unterschiedlichen Konzentrationen (1400 µg/kg und 3000 µg/kg) in Weizenmehl hinzugemischt. Zudem wurde parallel der Einfluss des Aspergillus-Toxins Aflatoxin B1 (AFB1) in den Konzentrationen 5000 µg/kg und 25000 µg/kg zu Maismehl gegeben und deren Einfluss auf die Mortalität und das Biomassewachstum untersucht. Die Gruppeneinteilung ist in Abb. 29 dargestellt. Die Temperatur betrug während des Versuchs 27°C und die relative Luftfeuchte wurde auf 75% festgelegt. Das Alter der Larven betrug bei Versuchsstart 8 Wochen.

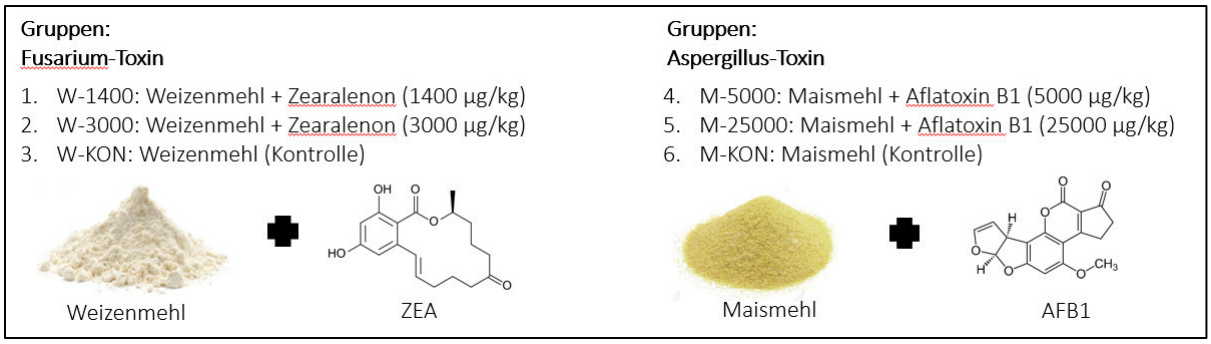

Abb. 29: Aufteilung der Gruppen des Mykotoxinversuchs.

Das Ergebnis der Biomassezunahme der Larven mit der Fütterung von Weizenmehl und ZEA kann in der Abb. 30 betrachtet werden. Es zeigt sich, dass die unterschiedlichen Konzentrationen sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe (W-KON) unterscheiden. Dies lässt darauf hin deuten, dass zumindest bei diesen Konzentrationen von Zearalenon das Wachstum von *T. molitor* Larven nicht negativ oder positiv beeinflusst wird. Die Mortalitätsrate mit insgesamt vier Larven war sehr niedrig (W- KON: 0, W-1400: 2, W-3000: 2).

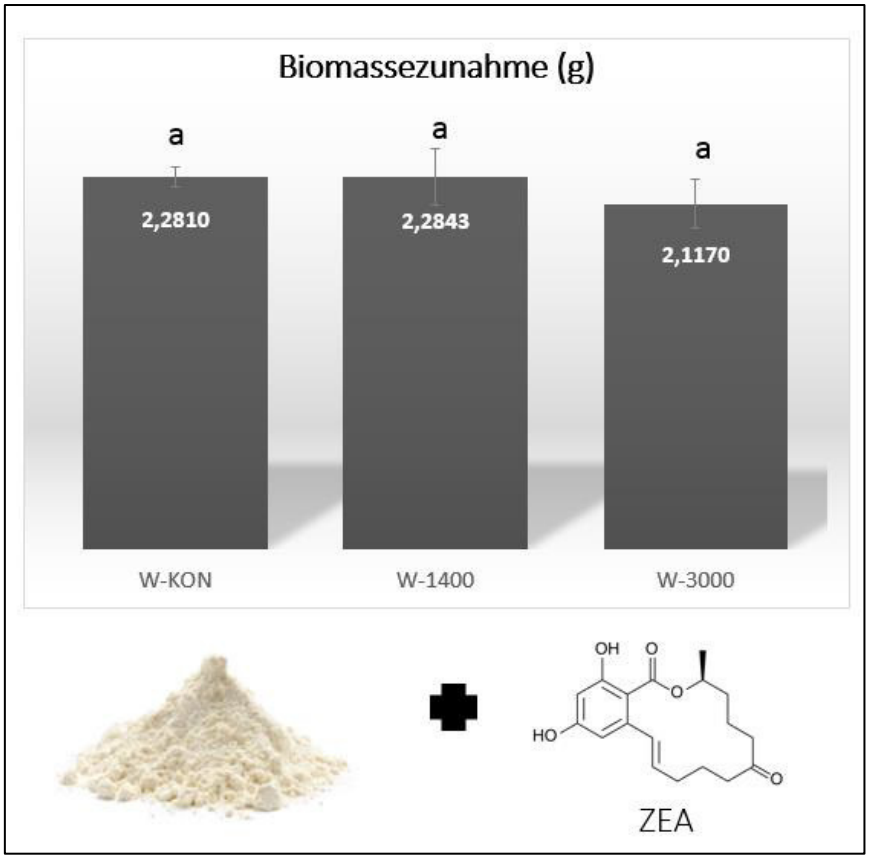

Abb. 30: Biomassezuname (g) der Mehlkäferlarven. W-KON = Kontrollgruppe reines Weizenmehl, W-1400 = Weizenmehl mit ZEA (1400 µg/kg), W-3000 = Weizenmehl mit ZEA (3000 µg/kg). Treatments mit unterschiedlichem Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; $n = 3$).

Das Ergebnis der Biomassezunahme der Larven mit der Fütterung von Maismehl und AFB1 kann in der Abb. 31 betrachtet werden. Es zeigt sich, dass die Zugabe von AFB1 mit einer Konzentration von 5000 µg/kg sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe (M-KON) unterscheidet. Jedoch führen sehr hohe AFB1 Konzentrationen von 25000 µg/kg zu einer verminderten Biomassezunahme. Die Mortalitätsrate war mit insgesamt 10 Larven ebenfalls sehr niedrig (M-KON: 2, M-5000: 2, M-25000: 6).

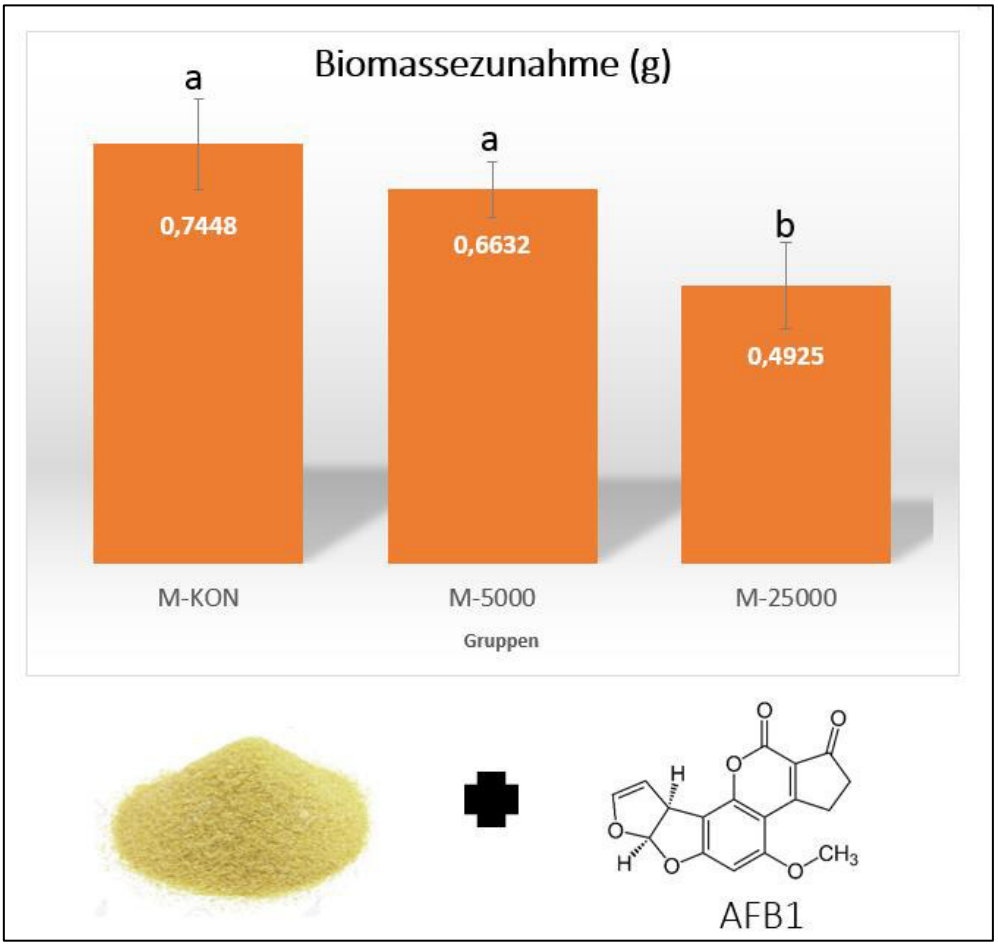

Abb. 31: Biomassezuname (g) der Mehlkäferlarven. M-KON = Kontrollgruppe mit Maismehl, M- 5000 = Maismehl mit AFB1 (5000 µg/kg), M-25000 = Maismehl mit AFB1 (25000 µg/kg). Treatments mit unterschiedlichem Buchstaben unterscheiden sich signifikant (p < 0,05; n = 3).

Beim Vergleich der beiden Kontrollgruppen (Weizenmehl und Maismehl) fällt auf, dass das Maismehl zu einer verminderten Biomassezunahme führt. Ein Grund hierfür könnte sein, dass Maismehl mit einem Proteingehalt von 6 - 9 g/100g und einem Fettgehalt von 2 - 3 g/100g einen sehr viel geringen Nährwert im Vergleich zur Weizenkleie besitzt (Sripem *et al.*, 2010), welche einen Proteingehalt von 15 - 25 g/100g und einen

Fettgehalt von 5 - 9 g/100g aufweist (Rezaei *et al.*, 2019). Auch hier sind weitere Untersuchungen notwendig, um ein besseres Verständnis für die Wirkungsweise von Mykotoxinen auf die Mehlkäferlarven zu bekommen.

5.3.3 Auswirkung von Aspergillus-Toxinen auf Mehlkäferlarven

Da die Larven im vorherigen Versuch das Maismehl sehr schlecht bis teilweise gar nicht gefressen haben, wurde ein nachfolgender kleinerer Test durchgeführt, bei dem Weizenmehl, statt Maismehl, mit Aflatoxin B1 mit einer Konzentration von 20000 µg/kg versetzt wurde. Als Kontrollgruppe wurde hier wieder reines Weizenmehl verwendet, mit dem im vorherigen Versuch eine gute Futteraufnahme bestätigt wurde. Die 8 Wochen alten Larven wurden ebenfalls wieder in einer hohen Besatzdichte (2,26 Larven pro cm² bzw. 100 Larven pro Becherglas) gehalten. Auch hier wurden die Biomassezunahme, Mortalität und die Verstoffwechselung untersucht.

Das Ergebnis der Biomassezunahme der Larven mit der Fütterung von Weizenmehl mit AFB1 ist in der Abb. 32 dargestellt. Die Kontrollgruppe hat im Vergleich ein höheres Biomassewachstum erreicht, jedoch weisen die beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede auf ($p > 0,05$). Während des Versuchszeitraumes kam es zu einer geringen Mortalität von insgesamt fünf Larven (Kontrollgruppe W- KON: 1, W-20000: 4).

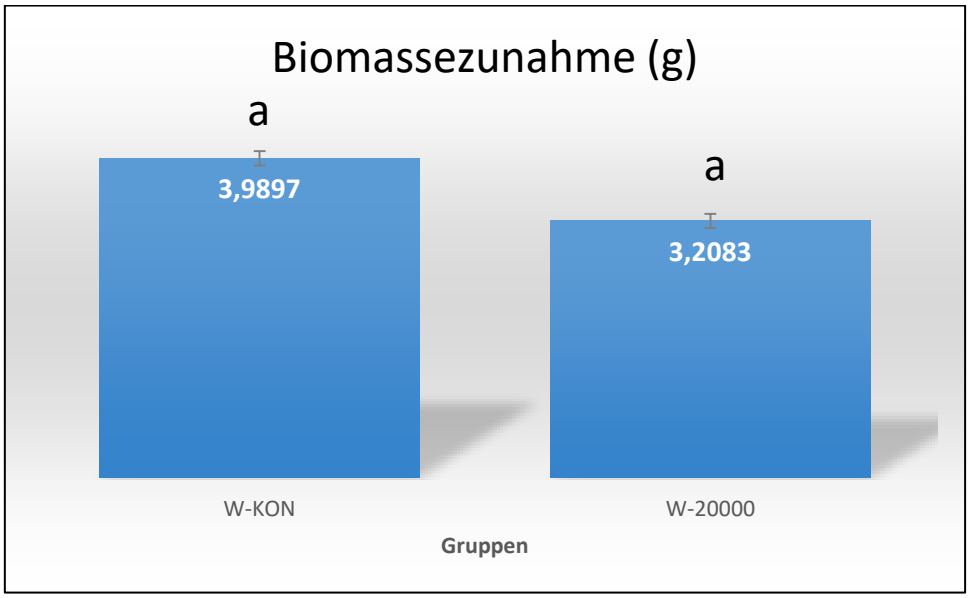

Abb. 32: Biomassezuname (g) der Mehlkäferlarven. W-KON = Kontrollgruppe reines Weizenmehl, W-20000 = Weizenmehl mit AFB1 (20000 µg/kg). Treatments mit unterschiedlichem Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; $n = 3$).

5.4 AS 4: *entfällt*

5.5 AS 5: *Technofunktionalität der Proteine*

Die Bestimmung der Technofunktionalität von Insektenproteinen ist mit einem erheblichen Aufwand verbunden, da die Aufarbeitung des Proteins selbst eine große Herausforderung der Bioanalytik darstellt. Sie ist sehr zeitaufwendig und verlangt fundierte Kenntnisse über Trennmethoden und Eigenschaften der Proteine. Datenbanken ermöglichen üblicherweise den Vergleich und die Einordnung eigener Ergebnisse. Allerdings kann bei der Insektenanalytik kaum auf wissenschaftlichem Standard entsprechende Ergebnisse zurückgegriffen werden. Werden die Vielfalt an Proteinstrukturen und die daraus folgenden Eigenschaften berücksichtigt, wird die Komplexität der Proteinreinigung deutlich. Generell gilt, je größer ein Protein ist, desto schwieriger ist die Isolierung und Aufreinigung dieser. Kleine Moleküle wie Aminosäuren sind gut mittels Chromatographie bestimmbar, wohingegen größere Proteinkomplexe besser durch elektrophoretische Verfahren getrennt werden. Ein weiterer wichtiger Faktor ist die Löslichkeit. Sowohl für die Elektrophorese als auch für die Chromatographie müssen die Proteine in Lösung vorliegen. Intrazelluläres Protein ist i. d. R. gut wasserlöslich, wohingegen strukturgebende Proteine oft unlöslich sind. Es ist bekannt, dass ein Teil des im Insekt enthaltenen Proteins mit Chitin quervernetzt ist. Die Vernetzung muss aufgebrochen werden, um an die Proteine zu gelangen. Da der Mensch in erster Linie die wasserlöslichen Proteine verwerten kann, sollte es Ziel weiterer Forschung sein, diesen Anteil zu maximieren, d.h. Chitin und Protein zu trennen, ohne die Proteineigenschaften zu verändern. Dieses war im Rahmen des durchgeführten Vorhabens nicht in ausreichendem Umfang machbar. Ausgehend davon kann dann untersucht werden, inwiefern Insektenproteine mit einer hohen Löslichkeit Anwendung in Produkten finden können.

5.5.1 Funktionalität und Anwendung von Insektenproteinmehl

Im TP5 (siehe Abschlussbericht 18235) wurden Versuche zur Trocknung von Mehlkäferlarven und die Auswirkung auf die Produktqualität durchgeführt. Hierbei wurde z. B. untersucht, inwiefern die Trocknungsart und -temperatur einen Einfluss auf die technofunktionellen Eigenschaften wie die Proteinlöslichkeit hat. Dabei hat sich herausgestellt, dass eine Trocknung bei hohen Temperaturen die Proteinlöslichkeit sehr stark

reduziert. Die Ergebnisse dieser Voruntersuchungen wurden verwendet, um eine Grundlage für die weiteren Anwendungsmöglichkeiten und Versuche mit Insektenproteinen in diesem TP1 zu schaffen.

Es existieren bereits einige Produkte auf dem deutschen Markt, welche mit Insekten angereichert sind. Für den Großteil der in Deutschland angebotenen Insekten-Produkte wird ein Mehl verwendet, welches in ein bereits bekanntes Produkt wie Nudeln, Kekse, Proteinriegel oder Burger eingearbeitet wird.

Das Ziel dieses Versuchs bestand darin verschiedene Kekse herzustellen, welche mit unterschiedlichen Mengen an Larvenmehl angereichert wurden. Untersucht wurde hierbei die Möglichkeit den Proteingehalt in den Keksen signifikant zu erhöhen, ohne dass die Eigenschaften, wie die Textur, der Geschmack oder der Geruch davon negativ beeinflusst werden. Ein weiterer Aspekt bestand darin den Proteingehalt der Kekse durch die Verwendung von entfettetem Larvenmehl weiter zu steigern. Es stellt sich die Frage wie groß der Einfluss von entfettetem Larvenmehl auf die Produktqualität ist. Durch einen Vergleich beider Varianten (Larvenmehl entfettet und Larvenmehl nicht-entfettet) sollten die Auswirkungen auf die Produktqualität und die Anwendbarkeit untersucht werden. Damit lässt sich unter anderem abschätzen, inwieweit Insektenproteine, z.B. hinsichtlich der Vernetzungsfähigkeit, für die Herstellung von Teigen geeignet sind.

Mithilfe dieser Ergebnisse sollen Aussagen über die Verwendbarkeit von Proteinlarvenmehlen in bereits bekannten Produkten getroffen werden. Daraus lassen sich Rückschlüsse ziehen, ob die Verwendung und die funktionellen Eigenschaften von Proteinmehl aus Insekten in Produkten für den menschlichen Verzehr sinnvoll sind, und wie diese weiter verbessert werden können. Aufgrund der Ergebnisse zur Proteinlöslichkeit aus dem TP5 wurde sich bei diesem Versuch für eine Trocknungstemperatur von 60°C entschieden, um ein Larvenmehl mit einer möglichst hohen Proteinlöslichkeit herstellen zu können.

Keksherstellung

Für die Teigherstellung wurde zunächst Weizenmehl oder Larvenmehl, Zucker, Salz, Vanillezucker, sowie Backpulver in eine Rührschüssel gegeben und miteinander vermengt. Die Eier wurden aufgeschlagen und zu einer homogenen Masse verrührt. Die Butter wurde für eine Minute in einer Mikrowelle zum Schmelzen gebracht. Anschließend wurden die flüssigen Komponenten in die Rührschüssel gegeben und mit den trockenen Komponenten vermengt. Mit den Händen wurden die Zutaten für etwa fünf Minuten zu einem homogenen Teig verarbeitet.

Die Teigruhe fand bei etwa acht Grad Celsius im Kühlschrank statt. Hierfür wurde der Teig in Frischhaltefolie eingewickelt. Anschließend wurde der Teig auf einer mit Mehl bestreuten Unterlage ausgerollt. Die Dicke des Teiges betrug etwa einen halben Zentimeter. Mit einem Messer wurden quadratische Formen mit einer Kantenlänge von etwa fünf Zentimeter ausgeschnitten. Die quadratischen Teigformen wurden auf ein Blech, welches mit Backpapier versehen war, für 16 min bei 180 °C gebacken. Die Kekse wurden für eine Stunde auf dem Backblech zum Erkalten liegen gelassen und anschließend in Gefrierbeuteln verpackt. Die Lagerung der Kekse fand bei etwa 20 °C statt.

Für die Keksherstellung wurden fünf Chargen Larvenmehl hergestellt und miteinander vermengt. In den nachfolgenden Tabellen (**Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**, **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**, **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**, **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**, **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**) sind die verwendeten Rezepturen aufgeführt. Es wurden insgesamt fünf verschiedene Rezepturen getestet und miteinander verglichen. Diese wurden auf Unterschiede hinsichtlich der Akzeptanz, Nährstoffzusammensetzung und Textur untersucht.

Tab. 2: Rezeptur 1: Kakaokeks ohne Larvenmehl

Zutaten	Menge [g]	Anteil [%]
Weizenmehl	300	43,5
Butter	200	29,0
Zucker	90	13,1
Vanillezucker	8	1,2
Backpulver	1	0,1
Vollei	50	7,3
Backkakao	40	5,8

Larvenmehl	0	0,0
Summe	**689**	**100**

Tab. 3: Rezeptur 2: Kakaokeks mit Larvenmehl (10 %, nicht-entfettet)

Zutaten	Menge [g]	Anteil [%]
Weizenmehl	270	43,5
Butter	200	29,0
Zucker	90	13,1
Vanillezucker	8	1,2
Backpulver	1	0,1
Vollei	50	7,3
Backkakao	40	5,8
Larvenmehl (nicht-entfettet)	30	4,4
Summe	**689**	**100**

Tab. 4: Rezeptur 3: Kakaokeks mit Larvenmehl (20 %, nicht-entfettet)

Zutaten	Menge [g]	Anteil [%]
Weizenmehl	240	43,5
Butter	200	29,0
Zucker	90	13,1
Vanillezucker	8	1,2
Backpulver	1	0,1
Vollei	50	7,3
Backkakao	40	5,8
Larvenmehl (nicht-entfettet)	60	8,7
Summe	**689**	**100**

Tab. 5: Rezeptur 4: Kakaokeks mit Larvenmehl (10 %, entfettet)

Zutaten	Menge [g]	Anteil [%]
Weizenmehl	270	43,5
Butter	200	29,0
Zucker	90	13,1
Vanillezucker	8	1,2
Backpulver	1	0,1
Vollei	50	7,3
Backkakao	40	5,8
Larvenmehl (entfettet)	30	4,4
Summe	**689**	**100**

Tab. 6: Rezeptur 5: Kakaokeks mit Larvenmehl (20 %, entfettet)

Zutaten	Menge [g]	Anteil [%]

Weizenmehl	240	43,5
Butter	200	29,0
Zucker	90	13,1
Vanillezucker	8	1,2
Backpulver	1	0,1
Vollei	50	7,3
Backkakao	40	5,8
Larvenmehl (entfettet)	60	8,7
Summe	**689**	**100**

Ergebnisse

In den nachfolgenden Tabellen und Abbildungen sind die Ergebnisse der Akzeptanzanalyse, Nährstoffbestimmung und Texturanalyse dargestellt.

Akzeptanzanalyse der verschiedenen Kekse

In der **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.** sind die Ergebnisse der Akzeptanzanalyse für die sechs verschiedenen Rezepturen dargestellt. Mit einer Gesamtbewertung von 6,9 wurde der Keks mit 10 % nicht-entfettetem Larvenmehl (Rezeptur 2) am besten bewertet. Bei diesem Keks konnten vor allem die Bissfestigkeit mit 6,8, der Geruch mit 7,0, sowie der Geschmack mit 6,9 überzeugen. Der Keks ohne Larvenmehl wurde mit einer Gesamtbewertung von 6,7 am zweitbesten bewertet. Am besten wurde hier der Geschmack mit einer Bewertung von 6,9 eingeschätzt, während der Geruch mit 6,6 und die Farbe mit 6,6 am niedrigsten bewertet wurden. Der Keks mit 20 % nicht-entfettetem Larvenmehl hat deutlich schlechter abgeschnitten, als das Pendant mit 10 % Larvenmehlanteil. Die Gesamtbewertung beträgt hier 6,5. Bei diesem Keks wurde die Bissfestigkeit mit 6,9 besser bewertet, während die anderen Attribute, besonders der Geschmack mit 6,2 deutlich schlechter bewertet wurde. Mit einer Gesamtbewertung von 6,0 wurde der Keks mit 10 % entfettetem Larvenmehl noch schlechter bewertet. Hier wurde vor allem das Attribut Bissfestigkeit mit 5,7 gering bewertet, während sich die anderen Eigenschaften kaum ins Negative entwickelt haben. Der Keks mit 20 % entfettetem Larvenmehl wurde im Vergleich zum Keks mit 10 % entfettetem Larvenmehl ähnlich bewertet. Hier haben sich hauptsächlich die Attribute Geruch und Geschmack verändert.

Tab. 7: Ergebnisse der Akzeptanzanalyse für die Rezepturen 1-6 (n=10).

Bewertungen	Gesamt	Farbe	Bissfestigkeit	Geruch	Geschmack
Rezeptur 1 (ohne Larvenmehl)	6,7 ± 1,0	6,6 ± 1,4	6,7 ± 0,8	6,6 ± 1,2	6,9 ± 0,8
Rezeptur 2 (10% Larvenmehl, nicht-entfettet)	6,9 ± 0,8	6,6 ± 1,5	6,8 ± 1,1	7,0 ± 1,1	6,9 ± 1,6
Rezeptur 3 (20% Larvenmehl, nicht-entfettet)	6,5 ± 1,4	6,3 ± 1,5	6,9 ± 0,7	6,5 ± 1,7	6,2 ± 1,8
Rezeptur 4 (10% Larvenmehl, entfettet	6,0 ± 1,1	6,4 ± 1,1	5,7 ± 1,2	6,1 ± 1,3	6,1 ± 1,5
Rezeptur 5 (20% Larvenmehl, entfettet)	5,9 ± 0,8	6,4 ± 0,8	5,6 ± 1,2	5,9 ± 1,2	5,8 ± 1,2

Nährstoffbestimmungen

In der **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.** sind die ermittelten Gehalte an Trockenmasse, Asche, Gesamtfett und Rohprotein in den analysierten Mehlen dargestellt.

Tab. 8: Ermittelte Trockenmassegehalte, Aschegehalte, Gesamtfettgehalte und Rohproteingehalte der analysierten Mehle in % (n=5).

Nährwerte der Mehle in %	Trockenmasse	Asche	Gesamtfett	Rohprotein
Weizenmehl	88,5 ± 0,13	0,42 ± 0,03	1,09 ± 0,05	9,87 ± 0,06
Larvenmehl (nicht-entfettet)	94,0 ± 0,17	3,87 ± 0,05	26,29 ± 0,08	56,33 ± 0,18
Larvenmehl (entfettet)	87,5 ± 0,14	4,14 ± 0,05	12,42 ± 0,14	62,10 ± 0,12

Alle verwendeten Mehle unterscheiden sich in den Trockenmassegehalten, den Aschegehalten, den Gesamtfettgehalten und den Rohproteingehalten voneinander. Der Trockenmassegehalt des Weizenmehls unterscheidet sich mit 88,5 % nur geringfügig vom Trockenmassegehalt des entfetteten Larvenmehls mit 87,5 %. Der Trockenmassegehalt des entfetteten Larvenmehls ist mit 94,0 % deutlich höher. Der Aschegehalt des Weizenmehls fällt mit 0,42 % am geringsten aus. Einen deutlich höheren Aschegehalt weisen die beiden Larvenmehle auf. Das nicht-entfettete Larvenmehl hat einen Aschegehalt von 3,87 %, während das entfettete Larvenmehl mit 4,14 % einen

etwas höheren Aschegehalt hat. Der Gesamtfettgehalt des Weizenmehls ist mit 1,09 % im Vergleich zu den Larvenmehlen am geringsten. Das entfettete Larvenmehl hat mit 12,42 % einen deutlich geringeren Gesamtfettanteil als das nicht-entfettete Larvenmehl mit 26,29 %. Auch der Rohproteingehalt des Weizenmehls ist in Relation zu den Rohproteingehalten der Larvenmehle mit 9,87 % deutlich geringer. Das nicht-entfettete Larvenmehl hat einen Rohproteingehalt von 56,33 %, während das entfettete Larvenmehl einen Rohproteingehalt von 62,10 % hat.

In der **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.** sind die ermittelten Gehalte an Trockenmasse, Asche, Gesamtfett und Rohprotein der analysierten Kekse dargestellt.

Tab. 9: Ermittelte Trockenmassegehalte, Aschegehalte, Gesamtfettgehalte und Rohproteingehalte der analysierten Kekse in % (n=5).

Nährwerte der Kekse in %	Trockenmasse	Asche	Gesamtfett	Rohprotein	Kohlenhydrate*
Rezeptur 1 (ohne Larvenmehl)	97,4 ± 0,08	1,02 ± 0,03	26,29 ± 0,08	8,04 ± 0,04	62,05
Rezeptur 2 (10% Larvenmehl, nicht-entfettet)	97,7 ± 0,09	1,10 ± 0,03	31,03 ± 0,07	9,95 ± 0,05	55,62
Rezeptur 3 (20% Larvenmehl, nicht-entfettet)	97,2 ± 0,10	1,24 ± 0,03	32,40 ± 0,12	11,84 ± 0,02	51,72
Rezeptur 4 (10% Larvenmehl, entfettet	97,0 ± 0,18	1,27 ± 0,04	30,92 ± 0,04	10,06 ± 0,07	54,76
Rezeptur 5 (20% Larvenmehl, entfettet)	97,4 ± 0,09	1,38 ± 0,01	31,60 ± 0,13	11,94 ± 0,06	52,48

Die Trockenmassegehalte der Keksrezepturen weisen in den meisten Fällen einen Unterschied auf. Lediglich zwischen den Keksen ohne Larvenmehl und den Keksen mit 20 % entfettetem Larvenmehl, sowie den Keksen mit 20 % nicht-entfettetem Larvenmehl und den Keksen mit 10 % entfettetem Larvenmehl treten keine signifikanten Unterschiede im Trockenmassegehalt auf. Die Trockenmassegehalte sind sehr ähnlich und bewegen sich im Bereich von 97,0 % bis 97,7 %. Auch die Aschegehalte der Keksrezepturen unterscheiden sich mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von fünf Prozent signifikant voneinander. Lediglich die Kekse mit 20 % nicht-entfettetem Larvenmehl und die Kekse mit 10 % entfettetem Larvenmehl unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Die Kekse ohne Larvenmehl wiesen mit 1,02 % den geringsten

Aschegehalt auf, während die Kekse mit 20 % entfettetem Larvenmehl mit 1,38 % den höchsten Aschegehalt aufweisen. Die Gesamtfettgehalte liegen zwischen 26,29 % und 32,40 %. Der geringste Gesamtfettgehalt liegt in den Keksen, welche ohne Larvenmehl hergestellt wurden, vor. In diesem Fall wiesen die Kekse mit 20 % nicht-entfettetem Larvenmehl den höchsten Gesamtfettgehalt auf. Die Rohproteingehalte unterscheiden sich zwischen den meisten Keksrezepturen voneinander. Den geringsten Rohproteingehalt weisen die Kekse ohne Larvenmehl auf, während die Kekse mit 20 % entfettetem Larvenmehl den höchsten Rohproteingehalt aufweisen. Zwischen den Keksen mit 10 % nicht-entfettetem Larvenmehl und 10 % entfettetem Larvenmehl konnte kein großer Unterschied festgestellt werden. Auch zwischen der Verwendung von 20 % nicht-entfettetem Larvenmehl und 20 % entfettetem Larvenmehl konnte nur ein geringer Anstieg gemessen werden. Im Vergleich zum Keks ohne Larvenmehl konnte der Rohproteingehalt in allen anderen Keksen deutlich gesteigert werden. Die Kekse mit 10 %, bzw. 20 % nicht-entfettetem Larvenmehl konnten eine Steigerung von etwa 23,8 %, bzw. 47,3 % erreichen. Die Kekse mit 10 % und 20 % entfettetem Larvenmehl konnten eine Steigerung im Rohproteingehalt von 25,1 % und 48,5 % gegenüber den Keksen ohne Larvenmehl erreichen.

Texturanalyse

In der nachfolgenden **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.** ist das Ergebnis der Texturanalyse der Teige hinsichtlich der Festigkeit, Klebrigkeit und Bindekraft dargestellt.

Die größte Festigkeit liegt im Teig, welcher ohne Larvenmehl hergestellt wurde, mit 0,9 N vor. Die zweithöchste Festigkeit weisen die Teige mit 10 % nicht-entfettetem Larvenmehl, mit 0,76 N, auf. Die geringste Festigkeit kann für die Teige, in denen nicht-entfettetes Larvenmehl zu 20 % eingesetzt wurde, gemessen werden. Die beiden Keksteige mit entfettetem Larvenmehl weisen Festigkeiten mit 0,56 N und 0,65 N auf und liegen damit mittleren Bereich. Die Klebrigkeit der Keksteige unterscheidet sich nur teilweise signifikant voneinander. Die Teige mit 20 % nicht-entfettetem Larvenmehl, 10 % entfettetem Larvenmehl und 20 % entfettetem Larvenmehl weisen keine signifikanten Unterschiede auf. Der Teig ohne Larvenmehl ist mit 0,60 mj am klebrigsten. Durch die Verwendung von 10 % nicht-entfettetem Larvenmehl sink die Klebrigkeit der Kekse auf 0,47 mj. Die restlichen Teige liegen in einem Bereich von 0,31 mj bis 0,36 mj. Die

Bindekraft innerhalb der Teige unterscheidet sich zwischen der Verwendung von 20 % nicht-entfettetem Larvenmehl und 10 % entfettetem Larvenmehl, sowie die Verwendung von 10 % entfettetem Larvenmehl und 20 % entfettetem Larvenmehl, nicht voneinander. Ähnlich wie bei den beiden vorigen Textureigenschaften wiesen die Teige ohne Larvenmehl und mit 10 % nicht-entfettetem Larvenmehl die höchsten Werte in der Bindekraft auf. Die restlichen Teige haben eine ähnliche Bindekraft mit 0,16 mj bis 0,19 mj.

Tab. 10: Ergebnisse der Texturanalyse der verwendeten Teige hinsichtlich der Festigkeit, der Klebrigkeit und der Bindekraft (n=5).

Texturanalyse der Teige	Festigkeit [N]	Klebrigkeit [mj]	Bindekraft [N]
Rezeptur 1 (KoL)	0,9 ± 0,05	0,60 ± 0,07	0,28 ± 0,02
Rezeptur 2 (KmL10%ne)	0,76 ± 0,03	0,47 ± 0,04	0,24 ± 0,01
Rezeptur 3 (KmL20%ne)	0,45 ± 0,03	0,31 ± 0,03	0,16 ± 0,01
Rezeptur 4 (KmL10%e)	0,56 ± 0,02	0,36 ± 0,07	0,18 ± 0,02
Rezeptur 5 (KmL20%e)	0,65 ± 0,02	0,33 ± 0,03	0,19 ± 0,01

In der nachfolgenden **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.** ist das Ergebnis der Texturanalyse der Teige hinsichtlich der Festigkeit, Klebrigkeit und Bindekraft dargestellt. Die Härte unterscheidet sich zwischen den Keksen mit 10 % nicht-entfettetem Larvenmehl und 20 % nicht-entfettetem Larvenmehl nicht signifikant voneinander. Auch die Kekse mit 20 % nicht-entfettetem Larvenmehl und 10 % entfettetem Larvenmehl unterscheiden sich mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von fünf Prozent nicht signifikant. Der Keks ohne Larvenmehl weist mit 117,29 N die größte Härte auf. Mit 65,35 N ist der Keks mit 10 % nicht-entfettetem Larvenmehl am zweithärtesten. Mit absteigenden Härtegeraden folgen die Kekse mit 20 % nicht-entfettetem Larvenmehl, 10 % entfettetem Larvenmehl und 20 % entfettetem Larvenmehl.

Tab. 11: Ergebnisse der Texturanalyse der Kekse hinsichtlich der Härte in N (n=5).

Texturanalyse Kekse	Härte [N]

Rezeptur 1 (KoL)	117,29 ± 3,84
Rezeptur 2 (KmL10%ne)	65,35 ± 5,35
Rezeptur 3 (KmL20%ne)	59,75 ± 6,99
Rezeptur 4 (KmL10%e)	50,91 ± 3,50
Rezeptur 5 (KmL20%e)	42,31 ± 4,09

Schlussfolgerung

Dieser Versuch hat gezeigt, dass die Zugabe von Larvenmehl in Keksen zu einem höheren ernährungsphysiologischen Wert führt. Der Proteingehalt steigt mit der Zugabe von Larvenmehl in jedem Fall an. Gleichzeitig verändern sich Qualitätsparameter der Keksteige und der Kekse. Die Teige, in denen Larvenmehl zugefügt wurde, weisen eine geringere Festigkeit, eine geringere Klebrigkeit, sowie eine geringere innere Bindekraft auf. Die Härte der Kekse nimmt mit der Verwendung von Larvenmehl ab. Die Veränderung der Kekshärte kann allerdings nur teilweise durch die Verbraucher wahrgenommen werden. Andere Attribute der Kekse, wie der Geschmack, der Geruch und der Farbeindruck können ebenfalls negativ beeinträchtigt werden, wenn die Kekse mit Larvenmehl angereichert werden. Die Veränderungen in den Qualitätsparametern der Kekse hängen stark mit der Menge des verwendeten Larvenmehls ab. Die geringere Menge Larvenmehl sorgt für eine bessere Kundenakzeptanz der Kekse.

Damit sensorisch ansprechende Produkte mit Larvenmehl hergestellt werden können, müssen weitere Studien durchgeführt werden. Es ist die Frage zu beantworten, in welchen Mengen Larvenmehl eingesetzt werden kann, damit der ernährungsphysiologische Wert signifikant gesteigert werden kann, ohne dass die sensorische Qualität der Kekse spürbar ins Negative verändert wird. Außerdem stellt sich die Frage, ob der bittere Geschmack, welcher häufig für die Kekse mit Larvenmehl beschrieben wurde, durch andere Trocknungsmethoden (Gefriertrocknung, Mikrowellentrocknung) beseitigt oder verringert werden kann.

5.5.2 Funktionalität und Anwendung von Insektenproteinhydrolysat

Weltweit werden Proteinisolate, -konzentrate und -hydrolysate als Emulgatoren, Schaum- oder Gelbildner bei der Herstellung von Lebensmitteln, wie z.B. Backwaren, Suppen, Soßen, Aufstrichen und Wurstwaren, eingesetzt. Dabei werden derzeit vorwiegend Proteine tierischen Ursprungs, wie z.B. Gelatine, Casein, Molkenproteine und Eiweiß- oder Eigelbproteine genutzt (Grossmann et al., 2014).

Chemische oder enzymatische Hydrolyseverfahren können eine Löslichkeitsverbesserung bewirken, jedoch weisen die so gebildeten Proteinhydrolysate oft einen starken Fehlgeschmack (bitter, adstringierend) auf (Grossmann et al., 2014). Ziel dieses Versuches war es, den Einfluss des Herstellungsprozesses auf die organoleptischen und technofunktionellen Eigenschaften zu untersuchen. Obwohl viele technologisch nutzbare Eigenschaften von Peptiden bekannt sind, ist deren gezielte Gewinnung und Anwendung bis heute nicht im technischen Maßstab umgesetzt. In diesem Versuch soll die Gewinnung technofunktioneller Peptide aus getrockneten Mehlkäferlarven aufgezeigt werden. Dadurch eröffnet sich den Lebensmittelproduzenten die Möglichkeit, neue wohlschmeckende Produkte mit höheren Proteinanteilen aus Insekten zu entwickeln. Hierbei ist es wichtig, dass die Proteine bestimmte Eigenschaften aufweisen, damit sie für technische Anwendungen geeignet sind.

Würze ist ein flüssiges, pastenförmiges oder trockenes Erzeugnis, das zur Geschmacksbeeinflussung von Suppen, Fleischbrühen und anderen Lebensmitteln dient. Allgemein wird Würze aus eiweißhaltigen, meist pflanzlichen Rohstoffen wie Raps- und Sojaschrot sowie Weizenkleber hergestellt, die durch Hydrolyse, Erhitzen und andere Methoden zu Peptiden und Aminosäuren reduziert wurden. Das so gewonnene Produkt erinnert geschmacklich an Fleischbrühe und ist die Grundlage für Flüssigwürzen, für Brühwürfel und gekörnte Brühe. Beim Herstellungsprozess für Würze wird das Eiweiß mit Salzsäure verkocht und anschließend mit Natriumcarbonat oder Natronlauge neutralisiert, wobei reichlich Kochsalz entsteht.

Um die Anwendbarkeit aufzuzeigen, wurde zusammen mit der Firma Zamek (Düsseldorf, Deutschland) eine Würze aus Mehlkäferlarven hergestellt. Die Speisewürze der Firma Zamek enthält als Bestandteile Wasser, pflanzliches Eiweißhydrolysat aus Soja

und Speisesalz. Dies gegenüber gestellt, wurden die Sojabestandteile durch ein hergestelltes Proteinhydrolysat aus Mehlkäferlarven ersetzt. Die Herstellung der Würze ist in Abb. 33 dargestellt. Das pflanzliche Eiweiß (Soja) wird mit einer Temperatur von über 100°C und einem hohen Druck mit Salzsäure gekocht, so dass eine saure Hydrolyse stattfindet. Nach der Hydrolyse bleiben einzelne Aminosäuren und Peptide zurück, welche dann in der Würze als Inhaltsstoff verwendet wird.

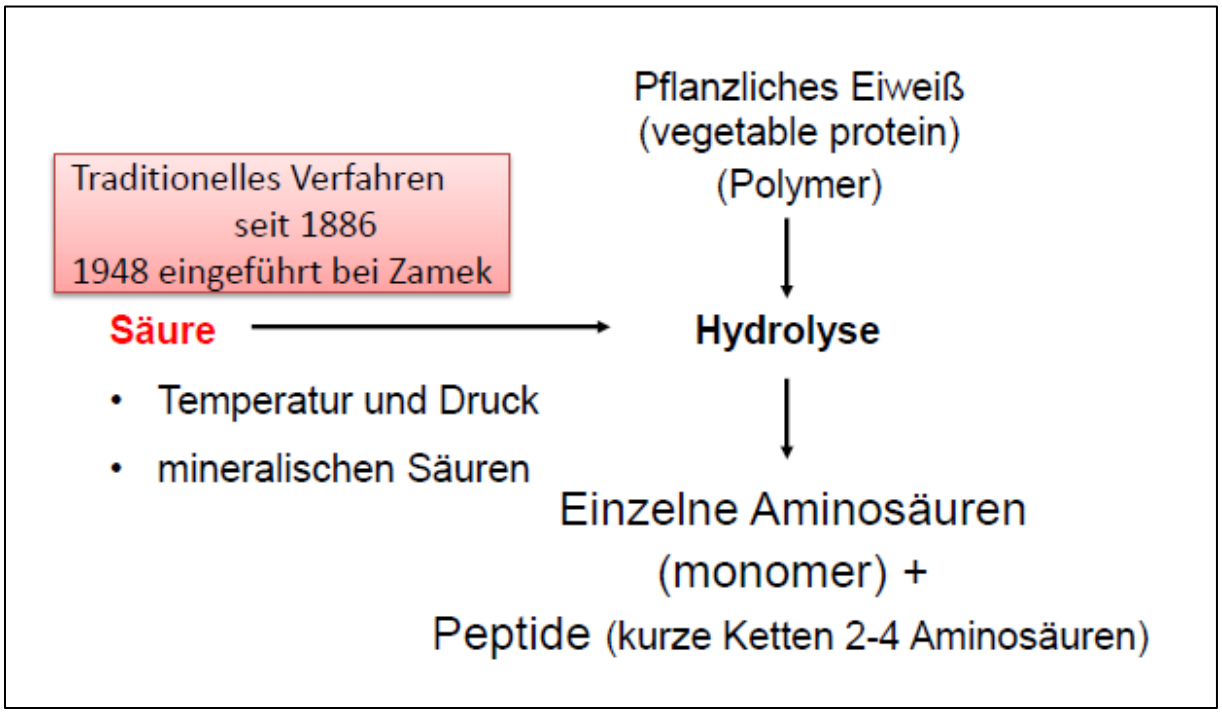

Abb. 33: Würzeherstellung der Firma Zamek. Mit hoher Temperatur und Druck wird das Sojaprotein hydrolysiert. Dabei bleiben einzelne Aminosäuren und Peptide übrig.

In der Abb. 34 ist der Vergleich der beiden Würzen gegenübergestellt. Auf der linken Seite ist die Würze aus den Mehlkäferlarven dargestellt. Diese unterscheidet sich sowohl farblich, als auch geruch- und geschmacklich von der Stammwürze der Firma Zamek. Die Würze aus Mehlkäferlarven ist wesentlich heller und riecht nicht ganz so intensiv. Der Geruch ist leicht metallisch und weniger stark ausgeprägt. Der Geschmack ist salzig, mit einem leichten Röstaroma. Die Würze von Zamek hat ein sehr intensives Aroma. Diese riecht nach Brühe und schmeckt intensiv nach umami und ist sehr salzig. Die Herstellung der Würze aus Mehlkäferlarven verlief problemlos. Die Firma Zamek konnte eine gute Löslichkeit und Wasseraufnahme der Proteine feststellen, so dass das gewonnene Proteinhydrolysat aus den Larven sich sehr gut eignet, um daraus, wie hier aufgezeigt, eine Stammwürze aus Insekten herzustellen. Aller-

dings konnte ein leicht bitterer, metallischer Geschmack nachgewiesen werden, welcher ggf. durch Anpassung des Herstellungsprozesses oder Zugabe von anderen Geschmacksstoffen in der Würze sich verringern lassen.

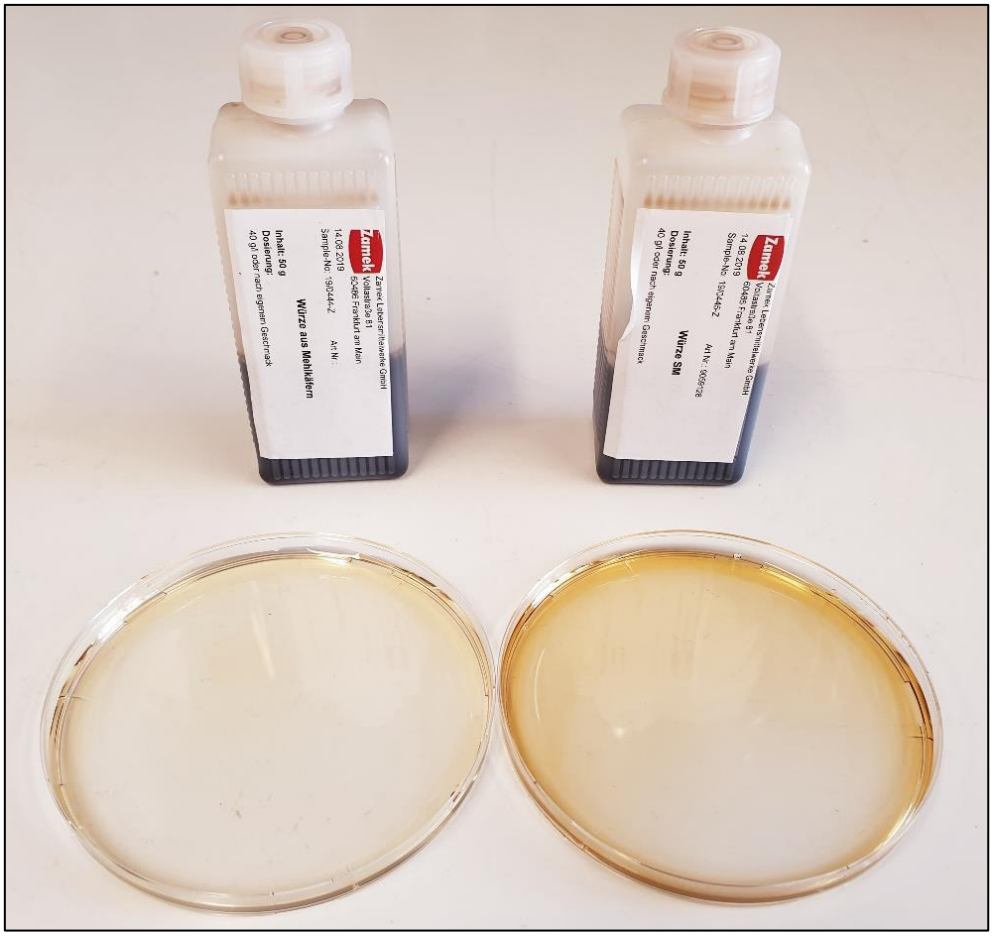

Abb. 34: Farblicher Vergleich der beiden Würzen. Die Würze aus Mehlkäferlarven (links) ist wesentlich heller als die Sojawürze (rechts).

5.6 AS 6: *Tötung der Insekten*

Die Tötung von Insekten sollte so schonend und schnell wie möglich durchgeführt werden. Vielfach diskutiert werden Tötungsmethoden mittels Temperaturschock wie z. B. durch Gefrieren bzw. Schockfrosten, Wasserdampf oder mit kochendem Wasser (I-PIFF, 2019). Bisher gibt es nur wenig Literatur und Empfehlungen zu diesem Thema. Zudem ist das Töten von Insekten bisher nicht gesetzlich geregelt, daher gibt es hierzu noch keinerlei Vorgaben. Da das Töten der Insekten in diesem Projekt unumgänglich ist, um die Insekten verarbeiten zu können, wurde während der ersten Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses über die Tötungsweise diskutiert und sich für das Töten durch Gefrieren (-21°C) entschieden, da angenommen wird, dass das Töten

durch Gefrieren eine schonende Tötungsmethode darstellt. Jedoch sollten hierzu Versuche erfolgen, um die Auswirkung der Tötung auf die Zusammensetzung der Larven zu untersuchen.

Bei dieser Untersuchung sollte die Frage beantwortet werden, inwiefern sich die Tötungsmethode auf die qualitative Zusammensetzung (Protein- und Fettgehalt) der Mehlkäferlarven auswirkt. Die Larven wurden bis zur Ernte (Alter ca. 15 Wochen) *ad libitum* mit Weizenkleie gefüttert und bei einer Temperatur von 26°C ± 1°C und einer Luftfeuchte von 70% ± 3% aufgezogen. Anschließend erfolgte die Durchführung der Tötungsversuche. Es wurden vier verschiedene Tötungsmethoden (Tiefkühlen, Schockfrosten, Heißluftdampf, kochendes Wasser) getestet. Dafür wurde eine Tiefkühltruhe (HAS 47520, Beko, Deutschland), ein Schockfroster (TF102S Flash, Zaugg, Österreich), ein Kombidämpfer (CM 61, Rational, Deutschland) und ein handelsüblicher Kochtopf (10l) verwendet. Die Parameter sind in der nachfolgenden Tab. 12 dargestellt. Bei jeder Tötungsmethode wurden ca. 40 g lebende Larven verwendet. Nach der Tötung erfolgte die Bestimmung des Wasser-, Protein- und Fettgehalts der toten Larven.

Tab. 12: Methoden zur Tötung der Mehlkäferlarven mit den Parametern.

Tötungsmethode	Tötungsart	Temperatur	Zeit
Tiefkühlen	Kälte	-20°C	48 Std.
Schockfrosten	Kälte	-40°C	20 Min.
Heißluftdampf	Hitze	150°C	4 Min.
Kochendes Wasser	Hitze	100°C	25 Sek.

Die Ergebnisse des Tötungsversuchs sind in den nachfolgenden drei Abbildungen (Abb. 35, Abb. 36, Abb. 37) zusammengefasst. In der Abb. 35 ist der Einfluss der Tötungsmethode auf den Wassergehalt der Larven zu sehen. Lediglich der Wassergehalt der Larven, welche mit Heißluftdampf getötet wurden, unterscheidet sich signifikant von den anderen drei Tötungsmethoden. Hierbei kann es aufgrund von Wasserverdunstung zu einem Wasserverlust kommen, welcher den Gehalt an Trockensubstanz erhöhen kann (Juárez *et al.*, 2010).

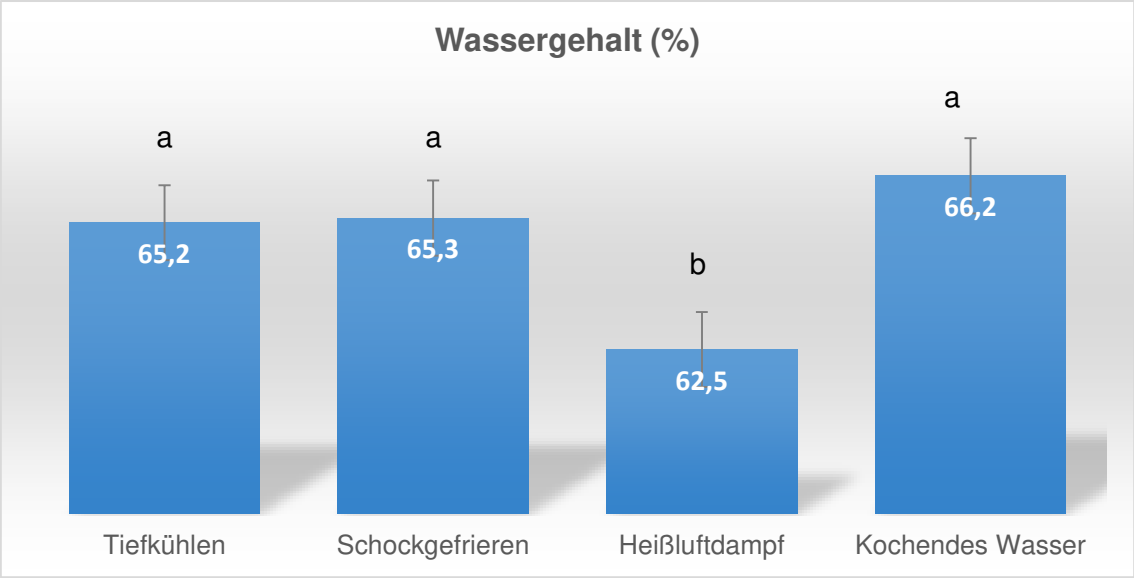

Abb. 35: Wassergehalt (%) der Mehlkäferlarven im Vergleich zu den Tötungsmethoden. Gruppen mit unterschiedlichem Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; $n = 3$).

In der Abb. 36 ist der Proteingehalt der Larven nach der Tötung dargestellt. Der Proteingehalt variiert lediglich bei den mit Heißluftdampfgetöteten Larven signifikant. Dies korreliert wahrscheinlich mit dem geringeren Wassergehalt, da dadurch bedingt der Gehalt an Trockensubstanz erhöht wird. Megido *et al.* (2018) konnte ebenfalls keine Veränderungen beim Proteingehalt bei gekochten und rohen Larven feststellen. Allerdings kann die Tötungsmethode einen Einfluss auf die Zusammensetzung der Proteine und deren Verdaulichkeit haben. Leni *et al.* (2019) fanden in ihrer Studie heraus, dass das Töten durch Hitze dazu führen kann, dass die enzymatische Verdaulichkeit erhöht wird und die Extraktion der Proteine in wässrigen Lösungen einfacher ist, im Vergleich zu Gefrierverfahren.

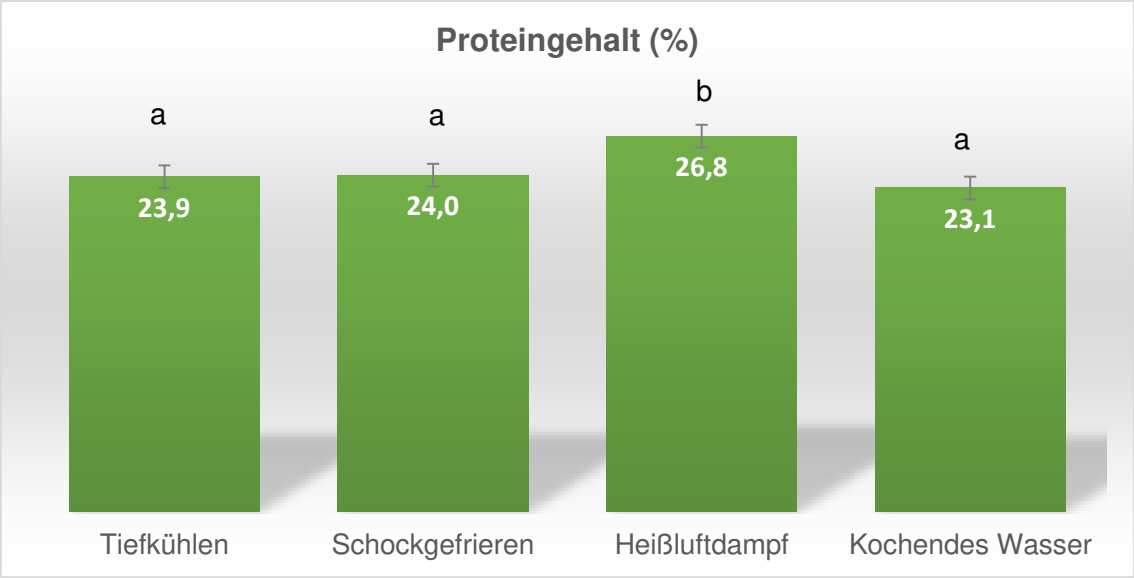

Abb. 36: Proteingehalt (%) der Mehlkäferlarven im Vergleich zu den Tötungsmethoden. Gruppen mit unterschiedlichem Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; $n = 3$).

In der Abb. 37 ist der Fettgehalt der Larven nach der Tötung dargestellt. Der Fettgehalt unterscheidet sich signifikant bei den Larven, welche mit Heißluftdampf getötet worden sind. Dies kann ebenfalls auf den niedrigeren Wassergehalt zurückzuführen sein. Allerdings konnten Caligiani *et al.* (2019) bei Ihrer Studie herausfinden, dass die Tötungsmethode bei der Black soldier fly (*Hermetia illucens*) einen Einfluss auf den Lipidgehalt und die Lipidzusammensetzung hat.

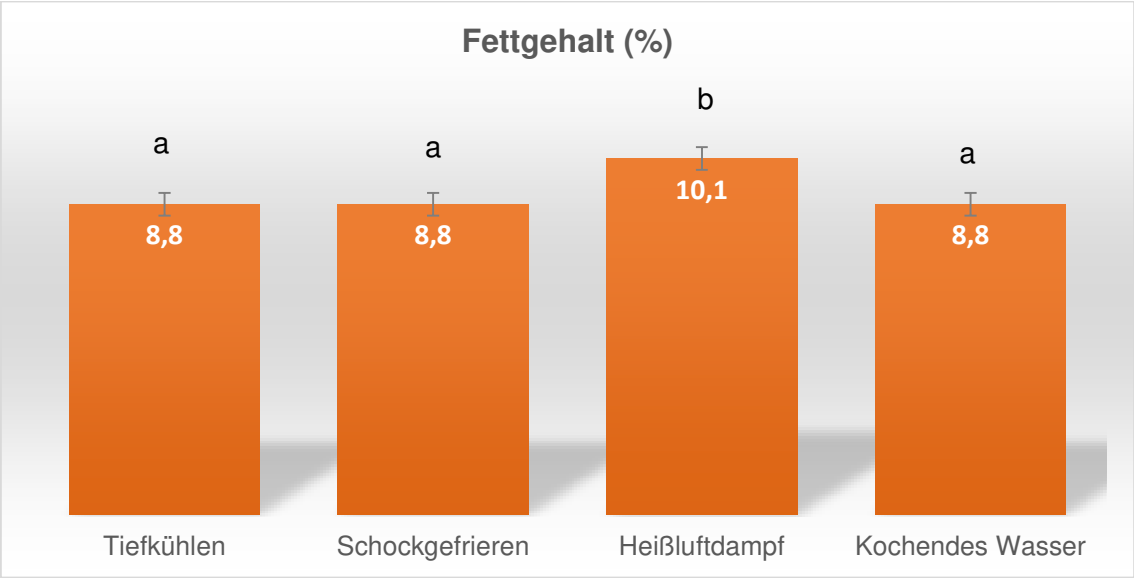

Abb. 37: Fettgehalt (%) der Mehlkäferlarven im Vergleich zu den Tötungsmethoden.

Abschließend betrachtet können verschiedene Verfahren für die Tötung von Mehlkäferlarven zum Einsatz kommen. Durch Schockfrieren und kochendes Wasser sterben die Larven am schnellsten. Bei einem Töten durch Tiefkühlen müssen die Larven für min. 24 Std. gefroren werden, damit ein sicheres Abtöten gewährleitstet wird. Bis auf das Töten mittels Heißluftdampf konnte keine Änderung des Protein- oder Fettgehalts festgestellt werden.

5.7 AS 7: *Konsumentenforschung*

In diesem AS sollte untersucht werden, wie die Verwendung von Insekten dem Verbraucher kommuniziert werden kann. Aufgrund des vergleichsweise großen zeitlichen Abstands zwischen Antragsstellung und Projektbearbeitung wurde dieser Ansatz von aktuellen Entwicklungen überholt. Auch die Gewinnung von Probanden für die sensorischen Untersuchungen in AS 5 erwies sich als problemlos. Aus diesen Gründen wurde in Absprache mit den Unternehmen des PA auf diesen AS verzichtet (stattdessen wurden die Untersuchungen hinsichtlich unterschiedlicher Substrate in AS2 intensiviert). Die genannten Entwicklungen werden im Folgenden skizziert.

Schon heute bringen die Hersteller jährlich 40.000 neue Produkte auf den Markt. Jeder zehnte Verbraucher hat schon einmal Lebensmittel gekauft, die von einem Start-up hergestellt wurden. Bei der Ernährung ist den Verbrauchern wichtig, dass die Lebensmittel in Deutschland hergestellt wurden. 81 Prozent der Deutschen wollen auch in Zukunft nicht auf heimische Produkte verzichten. Zu diesem Ergebnis kommt eine repräsentative Verbraucherumfrage der BVE in Zusammenarbeit mit dem Start-up Unternehmen Appinio (BVE, 2019). Befragt wurden über 1000 Menschen im Alter von 16-44 Jahren, die die deutsche Staatsbürgerschaft besitzen. Die Umfrage zeigt darüber hinaus, dass bei den deutschen Verbrauchern durchaus auch neue Produktgruppen oder neuartige Herstellungsweisen auf dem Speiseplan stehen: So können sich in zehn Jahren 58 Prozent der Befragten vorstellen, alternative Proteine aus Pflanzen, wie zum Beispiel Algen, zu essen, wenn dies Ressourcen schont, bei Insekten lag die Zustimmung bei 20 Prozent. 15 Prozent gaben aber auch an, nicht über alternative Proteine nachzudenken, sondern allgemein mehr auf den ökologischen Fußabdruck von Lebensmittel zu achten. Bereits über ein Viertel der Umfrageteilnehmerinnen und -teilnehmer rechnet damit, dass sich Insekten künftig weiter als Lebensmittel in Deutschland durchsetzen werden. 20 Prozent der männlichen Befragten gaben an,

Insekten bereits probiert zu haben. Bei den Frauen waren es zehn Prozent. Das größte Interesse existiert an gerösteten Insekten als Topping für den Salat/als Snack (22 Prozent) und an Pasta aus Insektenmehl (21 Prozent). Burger aus Wurmlarven und Proteinriegel aus Wurmlarven und Grillen kamen jeweils auf 13 Prozent. Auf die Frage, ob Insekten zukünftig häufiger auf dem persönlichen Speiseplan stehen würden, antworteten drei Prozent mit „ja, definitiv“ und 14 Prozent mit „eher ja“. Auch wenn bei dieser Umfrage das Ergebnis noch recht verhalten war, werden immer mehr Produkte mit Insekten auf den Markt gebracht und von den Verbrauchern gekauft bzw. angenommen. Anfang des Jahres 2019 wurde von dem Startup Unternehmen Bugfoundation ein Insektenburger auf den Markt gebracht, der es ins Regal der Rewe geschafft hat und auch bei der Burgerkette Hans im Glück angeboten wurde. Der Insektenburger war nach kurzer Zeit in allen Filialen ausverkauft. Die Nachfrage war so hoch, dass es zu Lieferschwierigkeiten bei der Firma Bugfoundation gekommen ist. Auch der große schwedische Einrichtungskonzern Ikea hat den Markt für sich entdeckt und forscht bzw. entwickelt seit Anfang 2018 an Köttbullar und Burgerpatties, bestehend aus den Larven des Mehlkäfers. Dies zeigt, dass die Konsumenten durchaus bereit sind, neuartige Produkte zu probieren, und das Interesse nicht nur beim Endverbraucher, sondern auch bei vielen verschiedenen Unternehmen daran zunimmt. Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat ebenfalls zwei Studien zur Berichterstattung und Risikowahrnehmung von Insekten als Lebens- und Futtermittel in Auftrag gegeben. Demnach akzeptiert laut aktueller Repräsentativbefragung des BfR die Mehrheit der Deutschen Insekten als Futtermittel. Bei der Akzeptanz als Lebensmittel dagegen sind die Befragten gespalten. Als Vorteil wird vor allem der hohe Eiweißgehalt, als Nachteil die individuelle Ekelbarriere genannt. Die Mehrheit der Befragten vermutet keine gesundheitlichen Risiken durch den Verzehr von Insekten. Die Akzeptanz von Insekten als Lebensmittel würde laut Studie steigen, wenn diese durch Verarbeitung unkenntlich gemacht würden und mehr Informationen, insbesondere zur gesundheitlichen Unbedenklichkeit, vorlägen. Die größte Akzeptanz für Insekten als Lebensmittel liegt bei gebildeten, urbanen Männern zwischen 18 und 30 Jahren (BfR, 2016).

Anfang des Jahres 2018 hat sich zudem die Novel-Food-Verordnung geändert, so dass Insekten als neuartiges Lebensmittel aufgenommen worden sind und einer Zulassung bedürfen. Derzeitig liegen der EU-Kommission viele Anträge für Insektenarten oder bestimmte Produkte daraus vor, über die sie noch zu entscheiden hat. Dies zeigt,

dass Insekten zunehmend in den Fokus der Gesellschaft rücken und in Zukunft zur Ernährung der westlichen Gesellschaft beitragen können.

Während der Laufzeit dieses Forschungsprojektes zeigte sich, dass ebenfalls viele Unternehmen, vor allem aus dem Bereich der Futtermittelherstellung, ein großes Interesse am Einsatz von Insektenproteinen haben. Hierzu gehört z. B. die Vitakraft GmbH, welche gemeinsam mit der Hochschule Bremerhaven Versuche zum Einsatz von Mehlkäferlarven in ihren Petfoodprodukten gemacht haben. Auch die Versuche mit Zamek zeigen, dass der Einsatz von Insektenproteinen in den verschiedensten Produkten möglich ist und die Unternehmen Interesse bekunden. Bisher scheitert die Verwendung meist an den rechtlichen Vorgaben (Einsatzverbot) oder an den Lieferschwierigkeiten seitens der Insektenproduzenten.

6 Zusammenfassung und Ausblick

Die stetig wachsende Weltbevölkerung und die damit verbundene Notwendigkeit der Bedarfsdeckung der Menschen mit Protein erfordert ein Nachdenken über alternative Proteinquellen. In diesem Zusammenhang sind Insekten als ein möglicher alternativer Proteinträger in den Bereich der Forschung gerückt.

Insekten bieten neben einer platzsparenden Haltung weitere Vorteile wie (Van Huis, 2013):

- sie liefern sehr hochwertige Proteine, die alle 21 proteinogenen Aminosäuren enthalten,
- sie sind exzellente Futterverwerter mit Protein-Konversionsraten um 1,5:1 und
- haben eine kurze Generationszeit, mitunter weniger als 4 Wochen,
- sie haben einen geringen Platz- und Wasserbedarf und
- eine geringe Produktion an Treibhausgasemissionen im Vergleich mit anderen Nutztieren

Ziel der vorliegenden Arbeit war die optimalen Haltungsbedingungen für die Aufzucht von Mehlkäferlarven (*Tenebrio molitor*) herauszuarbeiten. Eine zentrale Rolle spielt hierbei die Ernährung der Tiere bzw. die Untersuchung von unterschiedlichen Substraten auf ihre Eignung. Zudem sollte herausgefunden werden, welche im Substrat

enthaltenen Stoffe, sich negativ oder positiv auf das Wachstum der Insekten auswirken oder möglicherweise zu einer erhöhten Mortalität führen. Darunter zählen z. B. die Mykotoxine, welche oftmals in hohen Mengen in Getreide vorkommen. Ziel war es herauszufinden, ob mit Mykotoxinen belastetes Getreide als Substrat von den Larven verwertet werden kann und ob bzw. inwiefern sich Mykotoxine und deren Metabolite im Larvenkörper anreichern.

Die angestrebten Erkenntnisse sollen nicht nur die Einsatzmöglichkeiten von Insekten als Proteinträger in der Ernährung von Nutztieren absichern, sondern auch erstmals die Möglichkeit aufzeigen, wie eine Aufzucht von Insekten aussehen könnte, um den Rohstoff „Insekt“ in ausreichend großen Mengen produzieren zu können.

Um diese Ziele zu erreichen wurde in enger Kooperation mit den anderen Forschungsstellen und dem Projektbegleitenden Ausschuss zusammengearbeitet. Dadurch konnten folgende Erkenntnisse gewonnen werden:

1. **Etablierung einer Zucht zur Bereitstellung von Insekten:**
    - Für die **Aufzucht** von *T. molitor* ist es zwingend notwendig, eine **Regelung der klimatischen Bedingungen (Temperatur und Luftfeuchte)** zu gewährleisten, um optimale Wachstumsleistungen mit geringer Mortalität zu erreichen. Das optimale Wachstum der Larven erfolgt bei einer Temperatur zwischen 28-30°C mit einer Luftfeuchtigkeit von 70-75%.
    - Die **Besatzdichte** der Larven sollte **nicht höher als 2 kg pro Edelstahlbehälter** betragen, da es sonst zu einem erhöhten Wärmestau durch die Entstehung von Reibungswärme durch die ständige Bewegung der Larven kommen kann und die Tiere daraufhin absterben.
    - Die **Haltung** der **Larven** in **Edelstahlbehältern** stellte sich als vorteilhaft und am geeignetsten heraus, da die Behälter leicht zu reinigen, lange nutzbar, genormt und einfach zu beschaffen sind. Zudem sind haben die Behälter eine glatte Oberfläche, so dass die Tiere nicht so leicht aus den Behältern entfliehen konnten.
    - Für die **Nachzucht** und die **Haltung** der **Käfer** sind **Kunststoffboxen** mit abnehmbaren Boden gut geeignet, da hier die Käfer getrennt vom

Legesubstrat gehalten werden konnten und ein Abtrennen der Eier problemlos erfolgte.

2. **Wissenschaftliche Untersuchungen der Zucht von *Tenebrio molitor*:**
   - Die Verfütterung von **Reststoffen** in Form von Obst- und Gemüseresten als Substrat eignet sich sehr gut, um das **Wachstum von Mehlkäferlarven** zu **beschleunigen** und die **Entwicklungsdauer** zu **verkürzen**. Zudem ist durch die Fütterung von frischem Material die Versorgung mit Wasser sichergestellt.
   - Die **Faeces** der Larven sollten in regelmäßigen Abständen aus den Haltungseinheiten **entfernt werden**, da die **Wachstumsraten** mit zunehmendem Anteil an Faeces sich **verschlechtern**. Zudem sinkt durch den steigenden Anteil an Faeces das Platzangebot in den Edelstahlbehältern.
   - Eine Anreicherung der Weizenkleie mit **Zink** hat einen Einfluss auf das Wachstum von Mehlkäferlarven, wenn die Konzentration im Futter ansteigt. Es konnte eine **Bioakkumulation** von Zink in den Larven bis zu **dem 3fachen Gehalt** des ursprünglich in der Weizenkleie vorhandenen Zinkgehalts erreicht werden.
   - **Stress** durch **Handling** kann einen **Einfluss auf das Biomassewachstum** der Larven haben, jedoch ist kein Unterschied zwischen der direkten Aufnahme per Hand oder indirekt durch eine Pinzette ermittelt worden.
   - Der Einsatz von **Hefe** als Ergänzungsfuttermittel hat einen Einfluss auf die Biomassezunahme der Larven. Bei einer **Zugabe von 1% bis zu 8 %** Hefe konnte ein **höheres Biomassewachstum** festgestellt werden. Daher kann geschlussfolgert werden, dass Hefe sich als Nahrungszusatz für Mehlkäferlarven eignet.
   - **Champost** ist **bis zu 2 %** als Nahrungsergänzung geeignet, höhere Mengen reduzieren das Wachstum signifikant.
   - **Kaffeetreber** ist als Nahrung für Mehlkäferlarven **vollkommen ungeeignet**, da die Larven den Kaffeetreber nicht aufnehmen. Als Ursache wird der Koffeingehalt angenommen, welcher nachweislich toxisch auf Insekten wirken kann.

- **Algen** wie Spirulina und Chlorella eignen sich gut als Ergängzungsfuttermittel für Mehlkäferlarven **bis zu einem Anteil von 25% in der Nahrung**.

3. **Futtermittelsicherheit:**
   - Hohe Konzentrationen an **Fusarium-Toxinen (bis zu 2000 µg/kg)** können das **Larvenwachstum beschleunigen** und zu einem erhöhten Biomassewachstum führen. Es gab dabei keine Mortalität in den Versuchen. In den ausgeschiedenen Faeces der Larven konnten verschiedene **Metabolite nachgewiesen** werden, welche toxischer sind, als die Ausgangssubstanz.
   - **Maismehl** ist als Substrat eher **ungeeignet** und führte zu einem schlechten Biomassewachstum in der Kontrollgruppe. Eine hohe Konzentration von **Aflatoxinen (AFB1)** in Maismehl führte zu einer **Reduktion des Biomassewachstums**.
   - Eine hohe Konzentration an **Aflatoxinen (AFB1) bis zu 20000 µg/kg** in Weizenmehl führte zu einer **geringen Mortalität** der Larven und einem annähernd **vergleichbaren Biomassewachstum zur Kontrollgruppe mit reinem Weizenmehl**.
4. **Technofunktionalität der Proteine:**
   - **Proteinhydrolysate** aus Mehlkäferlarven besitzen die nötigen funktionellen Eigenschaften um daraus eine **Würze**, vergleichbar mit bestehenden Würzen, **herzustellen**. Diese weicht zwar farblich, geruchlich und geschmacklich leicht von den auf dem Markt bestehenden Produkten ab, ist aber trotzdem als Produktneuheit sicherlich interessant.
   - **Proteinmehl** aus Mehlkäferlarven kann in entfetteter Variante oder unentfettet zur **Herstellung von Keksen** verwendet werden. Die Vernetzungs- und Backeigenschaften der Proteine waren vergleichbar mit dem von Weizenmehl, Unterschiede konnten in der Textur und Akzeptanz festgestellt werden.
5. **Tötung der Insekten:**
   - Die **Tötung** von Mehlkäferlarven durch **Tiefkühlen, Schockfrosten** und mit **kochendem Wasser** lieferten **vergleichbare Ergebnisse** hinsicht-

lich des Protein-, Fett- und Wassergehalts. Lediglich das Töten mit **Heißluftdampf** führte zu einem **höheren Protein- bzw. Fettgehalt** mit Wasserverlust.

Aus diesem Projekt ergeben sich folgende weitere Fragestellungen:

- Welche Zinkkonzentration führt zu einer erhöhten Mortalität bei den Larven? Wo sind die Grenzen der Anreicherung im Larvenkörper? Wie sehen die Mechanismen zur Regulierung von Spurenelementen bei *T. molitor* aus?
- Wo befinden sich die Grenzen für die Aufnahme an Mykotoxinen in Mehlkäferlarven? Welche Metaboliten werden noch gebildet zu den bereits bekannten? Hat Zearalenon als Östrogen einen Einfluss auf die Geschlechtsentwicklung von Mehlkäfern, wenn die Larven nicht geerntet werden, sondern die komplette Entwicklung für die Nachzucht durchlaufen?
- Welche weiteren Substrate sind noch als Futtermittel für Mehlkäferlarven geeignet? Inwieweit kann die Zusammensetzung von Proteinen und Fetten in den Larven mit der Fütterung von unterschiedlichen Futtermitteln beeinflusst werden?
- Welche weiteren Möglichkeiten zur Tötung durch Insekten sind vorstellbar? Wie wirkt sich die Tötungsmethode auf die Fettsäure- und Aminosäurezusammensetzung aus?

Es wird angestrebt, diesen Fragestellungen in neuen Projekten nachzugehen. Für KMU sind solche Untersuchungen aus betrieblichen und kapazitiven Gründen nicht leistbar.

7 Nachweis der Verwendung der Zuwendung

7.1 Nutzen und industrielle Anwendungsmöglichkeiten

Im Rahmen des Projektes wurden nicht nur die nötigen Grundlagen und erkenntnisorientierten Fragestellungen aufgegriffen, die so nur im Rahmen eines derartigen Forschungsprojektes effektiv bearbeitet werden, es wurden schon während der Projektlaufzeit vorwettbewerbliche Schritte und Strategien eingeschlagen, die im Anschluss an die Laufzeit einen effektiven Transfer in die Wirtschaft und eine Umsetzung der Ergebnisse ermöglichen. Die erfolgreiche Etablierung neuartiger technischer Entwicklungen im Markt bedarf erfahrungsgemäß 2-5 Jahre Vorlaufzeit nach Projektende. Dies soll unter besonderer Berücksichtigung der Rahmenbedingungen von KMU erfolgen. Dazu erfolgte die Konstruktion und Fertigung der einzelnen Einheiten in enger Zusammenarbeit mit den Mitgliedern des Projektbegleitenden Ausschusses und KMU des Maschinenbaus, Mess-, Steuerungs- und Regelungstechnik bzw. Prozessautomation und Insektenzüchter.

Den interessierten Wirtschaftszweigen (insbesondere Futtermittel, Maschinen- und Anlagenbau, Mess- und Regelungstechnik, Insektenzucht) stehen die im Rahmen des Vorhabens erworbenen Kenntnisse zur Insektenzucht zur Verfügung, welches die Grundlagen zur industrietauglichen Umsetzung der Forschungsergebnisse demonstriert. Über die Umsetzbarkeit im Hinblick auf den Aufbau einer Insektenzucht können sich in konkreten Fällen interessierte Unternehmen anhand des Funktionsmusters und der bestehenden Insektenzucht informieren. Prinzipielle Anforderungen der Industrie wurden aber bereits in der Konzeption berücksichtigt, so dass in dieser Hinsicht keine Hinderungsgründe zu erwarten sind.

Es ist davon auszugehen, dass die zu entwickelnde verfahrenstechnische Lösung zur Prozessierung bzw. Zucht von Insekten hinsichtlich der Kostenstruktur gerade für innovative KMU finanziell erreichbare Größenordnungen einer industriellen Umsetzung und Nutzung bietet. Zum einen stellt die angestrebte insektenproduzierende Anlage an sich eine Innovation dar, zum anderen lassen sich die einzelnen Verfahrensschritte (z. B. Substratzugabe, Insektenboxendesign, Boxentransport, Klimatisierung der Zuchteinheit, Sortierungseinheit der Insekten) auch getrennt umsetzen oder an andere Aufgaben anpassen.

7.2 Verwendung der zugewendeten Mittel

Personaleinsatz

- Wissenschaftlich-technisches Personal (Einzelansatz A.1 des Finanzierungsplans):

HPA A 41,24 Personenmonate und HPA B 6,74, insgesamt Personenmonate 47,98

Die geleistete Arbeit entspricht in vollem Umfang dem begutachteten und bewilligten Antrag und war daher für die Durchführung des Vorhabens notwendig und angemessen.

- Geräte:

2 Konstantklimakammern, Fisher Scientific: 13.418,54 €

- Leistungen Dritter:

Analysen der Gehalte an Pestiziden in Insekten und Substraten, Intertek Food Services GmbH: 3.141,60 €

Trocknung von Mehlkäferlarvenmus, TTZ Bremerhaven: 12.850,00 €

7.3 Plan zum Ergebnistransfer

Durchgeführte Transfermaßnahmen

Maßnahme	**Ziel**	**Aktion**	**Zeitraum**
A: IFF- und HSB-Newsletter	Rasche und umfassende Verbreitung von Teilergebnissen durch Nutzung elektronischer Medien	A1: Vorstellung ausgewählter Ergebnisse während der Projektlaufzeit	2016, 2017, 2018, 2019
B: Projektbegleitender Ausschuss PA	Diskussion der Forschungsergebnisse unter Berücksichtigung des Projektziels	B1: Vorstellung des Projektes, der geplanten Arbeiten sowie erster Ergebnisse B2: Vorstellung Zwischenergebnisse und Diskussion des weiteren Vorgehens B3: Vorstellung Endergebnisse	09.10.2015 (Kickoff) 24.03.2017 23.04.2018 25.09.2018 03.09.2019

C: Transfer in die Industrie	Umfassende Verbreitung der Ergebnisse sowie direkte Umsetzung in der betrieblichen Praxis	C1: Einbeziehung von Teilergebnissen in die Beratung von vorrangig KMU der Mischfutter- und Maschinenbaubranche, insbesondere bei Umbauten bzw. Neuinstallationen und Rezeptur- und Verfahrensoptimierungen; Firmeninteresse seitens Vitakraft petcare GmbH & Co. KG & Jäckering Mühlen- und Nährmittelwerke GmbH für weitere Versuche C2: Fachvortrag der Ergebnisse in Fachtagungen	Insecta 2017 ProcessNet 2018 Insecta 2018 GDL-Kongress 2018 Insecta 2019 Conference on Food Science & Technology London 2019
D: Aus- und Weiterbildung	Übernahme der Ergebnisse in die akademische Lehre bzw. berufliche Aus- und Weiterbildung	D1: Integration in Verfahrenstechnik- und Lebensmittelchemie-Praktika sowie Vorlesungen (Grundlagen der Automatisierung)	2018, 2019
E: Veröffentlichung	Umfassende Verbreitung der Ergebnisse	J1: Posterpräsentation und Fachvorträge der Ergebnisse in Fachtagungen, Messen und Konferenzen J2: Publikation in wissenschaftlichen Zeitschriften & Online-Artikel (siehe 7.4)	Insecta 2017 ProcessNet 2018 Insecta 2018 GDL-Kongress 2018 Insecta 2019 Conference on Food Science & Technology London 2019
F: Weiterbildung und Transfer der Projektergebnisse in die Industrie über IFF-Veranstaltungen	Weiterbildung von Mitarbeitern vorrangig kleiner und mittlerer Unternehmen ohne eigene Forschungskapazitäten	F1: Präsentation von Ergebnissen und Teilergebnissen auf Sitzungen des Wissenschaftlichen Beirates der IFF	01.03.2018, 27.09.2018, 28.03.2019

Geplante spezifische Transfermaßnahmen nach der Projektlaufzeit

Maßnahme	Ziel	Aktion
G: Weiterbildung und Transfer der Projektergebnisse in die Industrie über Fachveranstaltungen	Weiterbildung von Mitarbeitern vorrangig kleiner und mittlerer Unternehmen ohne eigene Forschungskapazitäten	G1: Übernahme der Ergebnisse in Vorträgen der Hochschule G2: Präsentation von Ergebnissen und Teilergebnissen auf Sitzungen des Wissenschaftlichen Beirates der IFF
H: Veröffentlichung	Ergebnistransfer in die Wirtschaft	H1: Beitrag in internationalen wissenschaftlichen Zeitschriften H2: Internet-Website des Institutes für Lebensmitteltechnologie und Bioverfahrenstechnik (ILB) H3: Posterpräsentation der Ergebnisse in Fachtagungen und Messen
I: Transfer in die Industrie	Umfassende Verbreitung der Ergebnisse sowie direkte Umsetzung in der betrieblichen Praxis	I1: Einbeziehung der Projektergebnisse in die Beratung von vorrangig kleinen und mittleren Unternehmen der Mischfutterbranche I2: Vortrag über Mehlkäferlarven-Produktion bei der Landberatung e.V.
J: Aus- und Weiterbildung	Übernahme der Ergebnisse in die akademische Lehre bzw. berufliche Aus- und Weiterbildung	J1: Übernahme der Ergebnisse in die akademische Lehre im Rahmen der Vorlesungen für Lebensmitteltechnologen an der Hochschule Bremerhaven

Transfermaßnahme durchgeführt

Einschätzung der Realisierbarkeit des Transferkonzeptes

Die Maßnahmen zum Ergebnistransfer wurden im Wesentlichen wie geplant umgesetzt. Auch die nach Abschluss des Forschungsprojektes geplanten Maßnahmen werden als gut realisierbar eingeschätzt.

7.4 Veröffentlichungen und Tagungsbeiträge

7.4.1 Scientific Papers

Kröncke, N., Grebenteuch, S., Keil, C., Demtröder, S., Kroh, L., Thüneman, A. F., Benning, R., Haase, H. (2019). Effect of Different Drying Methods on Nutrient Quality of the Yellow Mealworm (*Tenebrio molitor* L.). Insects, 10 (4), 84.

Niermans, K., Woyzichovski, J., Kröncke, N., Benning, R., Maul, R. (2019). Feeding study for the mycotoxin zearalenone in yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae - investigation of biological impact and metabolic conversion. Mycotoxin Research, 1 - 12.

Kröncke, N., Böschen, V., Woyzichovski, J., Demtröder, S., Benning, R. (2018). Comparison of suitable drying processes for mealworms (*Tenebrio molitor*). Innovative Food Science and Emerging Technologies, 50, 20 - 25.

7.4.2 Vorträge

Kröncke, N., Demtröder, S., Benning, R.: Feeding study for the mycotoxin zearalenone in yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae – investigation of biological impact and metabolic conversion. 2nd Euro-Global Conference on Food Science and Technology (Keynote speaker & Commitee member), 19.-21. September 2019, London.

Demtröder, S., Kröncke, N., Benning, R.: Biofortifcation of Zinc and manipulation of its overall quantity in mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae by using Zinc-enriched substrate. 2nd Euro-Global Conference on Food Science and Technology (Session chair), 19.-21. September 2019, London.

Kröncke, N., Demtröder, S., Benning, R.: Feeding study for the mycotoxin zearalenone in yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae – investigation of biological impact and metabolic conversion. Insecta 2019 – 5th International Symposium on Insects, 05.-06. September 2019, Potsdam.

Kröncke, N., Böschen, V., Keil, C., Grebenteuch, S., Demtröder, S., Thünemann, A., Kroh, L., Haase, H., Benning, R.: Vergleich geeigneter Verfahren zur Trocknung von Mehlkäferlarven (*Tenebrio molitor* L.); GDL-Kongress Lebensmitteltechnologie, 11.-13.10.2018, Bremerhaven.

Kröncke, N., Böschen, V., Keil, C., Grebenteuch, S., Demtröder, S., Thünemann, A., Kroh, L., Haase, H., Benning, R.: Comparison of suitable drying techniques on nutritional quality of mealworms (*Tenebrio molitor* L.); Insecta 2018 – 4th International Symposium on Insects, 05.-07. September 2018, Gießen.

Kröncke, N., Woyzichovski, J., Böschen, V., Demtröder, S., Benning, R.: Kurzvortrag: Entwicklung geeigneter Verfahren zur Trocknung von Mehlkäferlarven (*Tenebrio molitor*); 05.-06. Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppe Lebensmittelverfahrenstechnik, März 2018, Berlin.

7.4.3 Poster

Keil, C., Maares, M., Kröncke, N., Demtröder, S., Grebenteuch, S., Benning, R., Haase, H.: Zink-Biofortifikation von *Tenebrio molitor* – Larven. 48. Deutscher Lebensmittelchemikertag, 16.-18. September 2019, Dresden.

Keil, C., Maares, M., Demtröder, S., Kröncke, N., Grebenteuch, S., Benning, R., Haase, H.: Biofortification of zinc and manipulation of ist overall quantity in mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae by using zinc-enriched substrate. Insecta 2019 – 5th International Symposium on Insects, 05.-06. September 2019, Potsdam.

Kröncke, N., Böschen, V., Keil, C., Grebenteuch, S., Demtröder, S., Thünemann, A., Kroh, L., Haase, H., Benning, R.: Vergleich geeigneter Verfahren zur Trocknung von Mehlkäferlarven (*Tenebrio molitor* L.); GDL-Kongress Lebensmitteltechnologie, 11.-13.10.2018, Bremerhaven.

Keil, C., Kröncke, N., Grebenteuch, S., Böschen, V., Demtröder, S., Kroh, L., Thünemann, A., Haase, H., Benning, R.: Vergleich geeigneter Trocknungstechniken bezüglich der Nährstoffqualität von *Tenebrio molitor* (L.); 47. Deutscher Lebensmittelchemikertag (Posterpreis gewonnen), 17.-19. September 2018, Berlin.

Kröncke, N., Böschen, V., Keil, C., Grebenteuch, S., Demtröder, S., Thünemann, A., Kroh, L., Haase, H., Benning, R.: Comparison of suitable drying techniques on nutritional quality of mealworms (*Tenebrio molitor* L.); Insecta 2018 – 4th International Symposium on Insects, 05.-07. September 2018, Gießen.

Kröncke, N., Woyzichovski, J., Böschen, V., Demtröder, S., Benning, R.: Kurzvortrag: Entwicklung geeigneter Verfahren zur Trocknung von Mehlkäferlarven (*Tenebrio molitor*); Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppe Lebensmittelverfahrenstechnik, 05.-06. März 2018, Berlin.

7.4.4 TV-Beiträge

18.03.2019:
Buten un binnen:
https://www.butenunbinnen.de/videos/mehlwuermer-als-futterersatz-100.html

26.04.2019:
Sat1 regional:
https://www.sat1regional.de/insekten-als-tierfutter-wissenschaftler-forschen-an-nachhaltiger-proteinquelle/

03.10.2019:
Arte Xenius:
https://www.arte.tv/de/videos/084700-021-A/xenius-alternative-proteinquellen/

7.4.5 Radio-Beiträge

09.04.2019:
Deutschlandfunk Nova:
https://ondemand-mp3.dradio.de/file/dradio/2019/04/09/deutschlandfunknova_podcast_vom_09042019_20190409_d940dadc.mp3

10.04.2019:
RTL Radio:
https://www.rtl.lu/radio/reportage/s/2649409.html

7.4.6 Internetartikel (Online)

09.04.2019:

Tagesspiegel:
https://www.tagesspiegel.de/wissen/alternatives-tierfutter-maden-vor-die-saeue/24204078.html

Abendblatt:
https://www.abendblatt.de/region/niedersachsen/article216872385/Wissenschaftler-pruefen-Insekten-als-Futter-fuer-Nutztiere.html

Greenpeace magazin:
https://www.greenpeace-magazin.de/ticker/statt-soja-und-fischmehl-insekten-als-futter-fuer-schweine-und-huehner-von-janet-binder-dpa

Handelsblatt:
https://www.handelsblatt.com/dpa/wirtschaft-handel-und-finanzen-statt-soja-und-fischmehl-insekten-als-futter-fuer-schweine-und-huehner/24197284.html?ticket=ST-3062896-qgbbLtgCayeoN5q9HmCP-ap5

Sat1regional:
https://www.sat1regional.de/newsticker/wissenschaftler-pruefen-insekten-als-futter-fuer-nutztiere/

Welt:
https://www.welt.de/regionales/niedersachsen/article191573803/Wissenschaftler-pruefen-Insekten-als-Futter-fuer-Nutztiere.html

Cellesche Zeitung:
https://www.cellesche-zeitung.de/Der-Norden/Wissenschaftler-pruefen-Insekten-als-Futter-fuer-Nutztiere

Ad-hoc News:
https://www.ad-hoc-news.de/boerse/news/ueberblick/bremerhaven-so-richtig-setzen-sich-insekten-als-leckerbissen-bislang/58912387

Süddeutsche:

https://www.sueddeutsche.de/news/wissen/wissenschaft---bremerhaven-wissen-schaftler-pruefen-insekten-als-futter-fuer-nutztiere-dpa.urn-newsml-dpa-com-20090101-190409-99-740759

Bild:
https://www.bild.de/regional/bremen/bremen-aktuell/fuer-schweine-und-huehner-wis-senschaftler-pruefen-insekten-als-futter-61130528.bild.html

Waz Online:
http://www.waz-online.de/Nachrichten/Wissen/Statt-Soja-und-Fischmehl-Insekten-ko-ennten-eine-Tierfutter-Alternative-sein

NW:
https://www.nw.de/nachrichten/thema/22425837_Insekten-als-Futter-fuer-den-Schweinestall.html

Wallstreet Online:
https://www.wallstreet-online.de/nachricht/11369248-soja-fischmehl-insekten-futter-schweine-huehner

Proplanta:
https://www.proplanta.de/Agrar-Nachrichten/Wissenschaft/Insekten-als-Futter-fuer-Huehner-und-Schweine-geeignet_article1554786813.html

Focus:
https://www.focus.de/finanzen/boerse/wirtschaftsticker/statt-soja-und-fischmehl-in-sekten-als-futter-fuer-schweine-und-huehner_id_10566864.html

RTL:
https://www.rtl.de/cms/wissenschaftler-pruefen-insekten-als-futter-fuer-nutztiere-4321268.html

T-online:
https://www.t-online.de/nachrichten/id_85551768/wissenschaftler-pruefen-insekten-als-futter-fuer-nutztiere.html

NDR:
https://www.ndr.de/nachrichten/niedersachsen/oldenburg_ostfriesland/Insekten-das-neue-Futter-fuer-Schweine-und-Huehner,tierfutter116.html

Oberhessische Presse:
https://www.op-marburg.de/Mehr/Welt/Wissen/Statt-Soja-und-Fischmehl-Insekten-koennten-eine-Tierfutter-Alternative-sein

Landeszeitung:
https://www.landeszeitung.de/blog/nachrichten/wissen/2522022-statt-soja-und-fischmehl-insekten-koennten-eine-tierfutter-alternative-sein

Antenne:
https://www.antenne.com/niedersachsen/statt-soja-und-fischmehl-insekten-als-futter-fuer-schweine-und-huehner-id263374.html

Hildesheimer-allgemeine:
https://www.hildesheimer-allgemeine.de/news/article/fressen-schwein-und-huhn-bald-insekten.html

Neue Osnabrücker Zeitung:
https://www.noz.de/deutschland-welt/gut-zu-wissen/artikel/1701611/insekten-als-futter-fuer-schweine-und-huehner

LVZ:
http://www.lvz.de/Nachrichten/Wissen/Statt-Soja-und-Fischmehl-Insekten-koennten-eine-Tierfutter-Alternative-sein

Neue Presse:
http://www.neuepresse.de/Nachrichten/Wissen/Statt-Soja-und-Fischmehl-Insekten-koennten-eine-Tierfutter-Alternative-sein

EJZ:
https://www.ejz.de/blick-in-die-welt/wissen/statt-soja-und-fischmehl-insekten-knnten-eine-tierfutter-alternative-sein_245_111694406-122-.html

Ariva:
https://www.ariva.de/news/statt-soja-und-fischmehl-insekten-als-futter-fuer-schweine-7514863

Börse:
https://www.boerse.de/nachrichten/Statt-Soja-und-Fischmehl-Insekten-als-Futter-fuer-Schweine-und-Huehner/8033440

World News:
https://theworldnews.net/de-news/fur-schweine-und-huhner-wissenschaftler-prufen-insekten-als-futter

Weser Kurier:
https://www.weser-kurier.de/bremen/bremen-stadt_artikel,-insekten-statt-soja-und-fischmehl-_arid,1821085.html

Volksstimme:
https://www.volksstimme.de/deutschland-welt/vermischtes/nahrungsmittel-insekten-als-futter-fuer-schweine-und-huehner/20190410

CNV Medien:
https://www.cnv-medien.de/news/wissenschaftler-pruefen-insekten-als-futter-fuer-nutztiere-1.html

Göttinger Tageblatt:
http://www.goettinger-tageblatt.de/Nachrichten/Wissen/Statt-Soja-und-Fischmehl-Insekten-koennten-eine-Tierfutter-Alternative-sein

16.04.2019:
Kreiszeitung:
https://www.kreiszeitung.de/lokales/bremen/krabbelnde-leckerbissen-12195443.html

10.09.2019:
Göttinger Tageblatt:
https://www.goettinger-tageblatt.de/Nachrichten/Wirtschaft/Regional/Wissenschaftliches-Projekt-Mehlwuermer-als-Nahrung-fuer-Nutztiere

18.09.2019:
Laborfachzeitschrift (LABO):
https://www.labo.de/news/mehlwurm-statt-schnitzel.htm

7.4.7 Zeitungsartikel (Printversion)

09.04.2019:
Dpa: Statt Soja und Fischmehl: Insekten als Futter für Schweine und Hühner

10.04.2019:

Schwarzwälder Bote: Mehlkäfer-Larven als Alternative?

Lahrer Zeitung: Mehlkäfer-Larven als Alternative?

Weiler Zeitung: Mehlkäfer-Larven als Alternative?

Markgräfler Tagblatt: Mehlkäfer-Larven als Alternative?

Die Oberbadische Landkreis Lörrach: Mehlkäfer-Larven als Alternative?

Thüringische Landeszeitung Unstrut-Hainich-Kreis: Insekten als Futter für Masttiere?

Thüringer Allgemeine: Insekten als Futter für Masttiere?

Wolfenbütteler Zeitung: Insekten als Proteinquelle in Tierfutter?

Helmstedter Nachrichten: Insekten als Proteinquelle in Tierfutter?

Gifhorner Rundschau: Insekten als Proteinquelle in Tierfutter?

Braunschweiger Zeitung: Insekten als Proteinquelle in Tierfutter?

Ostfriesische Nachrichten: Insekten als Futter fürs Vieh?

Wittlager Kreisblatt: Insekten als Futter fürs Vieh?

Meppener Tagespost: Insekten als Futter fürs Vieh?

Meller Kreisblatt: Insekten als Futter fürs Vieh?

Lingener Tagespost: Insekten als Futter fürs Vieh?

Ems Zeitung: Insekten als Futter fürs Vieh?

Bersenbrücker Kreisblatt: Insekten als Futter fürs Vieh?

Bramscher Nachrichten: Insekten als Futter fürs Vieh?

Delmenhorster Kreisblatt: Insekten als Futter fürs Vieh?

Hockenheimer Tageszeitung: Insekten als Futter für Schweine und Hühner

Schwetzinger Zeitung: Insekten als Futter für Schweine und Hühner

Fränkische Nachristen: Insekten als Futter für Schweine und Hühner

Mannheimer Morgen Stadtausgabe: Insekten als Futter für Schweine und Hühner

Badisches Tagblatt: Insekten als Futter für Schweine und Hühner

Peiner Allgemeine Zeitung: Insektenfutter für Schweine

Eichsfelder Tageblatt: Insektenfutter für Schweine

Aller Zeitung: Insektenfutter für Schweine

Syker Kurier: Insekten statt Soja und Fischmehl

Die Norddeutsche: Insekten statt Soja und Fischmehl

Verdener Nachrichten: Insekten statt Soja und Fischmehl

Bremer Nachrichten: Insekten statt Soja und Fischmehl

27.10.2019:

Nordsee Zeitung: Mehlwürmer statt Soja

7.4.8 Zeitschriftenartikel (Printversion)

Deutsche Lebensmittel-Rundschau (DLR): Ausgezeichnete Poster thematisch breit aufgestellt. Kröncke, N. und Keil, C., Posterpreis, November 2018, Behr´s Verlag

Deutsche Lebensmittel-Rundschau (DLR): Insekten – Nahrungsmittel der Zukunft? Kröncke, N. Keil, C. und Grebenteuch, S., Dezember 2018, Behr´s Verlag

7.4.9 Nominierung

Aufforderung zur Bewerbung beim Innovationspreis 2019 des Landkreises Göttingen.

Literaturverzeichnis

Barroso, F. G., Sánchez-Muros, M. J., Rincón, M. A., Rodriquez-Rodriquez, M., Fabrikov, D., Morote, E., Guil-Guerrero, J. L. (2019). Production of n-3-rich insects by bioaccumulation of fishery waste. Journal of Food Composition and Analysis, 82.

BfR (2016). Insekten als Lebens- und Futtermittel – Nahrung der Zukunft? https://www.bfr.bund.de/de/presseinformation/2016/16/insekten_als_lebens__und_futtermittel___nahrung_der_zukunft_-197550.html (abgerufen am 18.12.2019)

Brugger, D., Windisch, W. (2017): Short-term subclinical zinc deficiency in weaned piglets affects cardiac redox metabolism and zinc concentration. Journal of Nutrition, 147, 521-527.

BVE (2019). Jahresbericht 2018/2019. https://www.bve-online.de/download/bve-jahresbericht-ernaehrungsindustrie-2019 (abgerufen am 12.12.2019)

Caligiani, A., Marseglia, A., Sorci, A., Bonzanini, F., Lolli, V., Maistrello, L., Sforza, S. (2019). Influence of the killing method of the black soldier fly on ints lipid composition. Food Research International, 116, 276 – 282.

Celekli, A., Alslibi, Z. A., Bozkurt, H. (2019). Influence of incorporated *Spirulina platensis* on the growth of microflora and physiochemical properties of ayran as a functional food. Algal Research, 44, 101710.

DGE (2018). Zink – Empfohlene Zufuhr. https://www.dge.de/wissenschaft/referenzwerte/zink/ (abgerufen am 02.12.2019)

FAO (2002). Soybeans: Post-harvest Operations. Post-harvest Compendium. Information prospect.

FAO (2009). How to Feed the World in 2050. Information prospect.

FAO (2013). Edible insects. Future prospects for food and feed security. Forestry Paper, Rome.

Grossmann, L., Holder, A., Hinrichs, J. (2014). Technofunktionelle Peptide als Emulgatoren in der Lebensmittelindustrie. Die Milchwirtschaft, 4, 113-116.

Houbraken, M., Spranghers, T., De Clercq, P., Cooreman-Algoed, M., Couchement, T., De Clerq, G., Verbeke, S., Spanoghe, P. (2016). Pesticide contamination of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) for human consumption. Food Chemistry, 201, 264-269.

IPIFF (2017). IPIFF position paper on the use of insect proteins as animal feed. Brussel, 1-3.

IPIFF (2019). Draft EU Guide on Good Hygiene Practices. For Producers of insects as food and feed. http://ipiff.org/wp-content/uploads/2019/03/IPIFF_Guide_A4_2019-v5-separate.pdf (abgerufen am 06.11.2019).

Ites, S., Smetana, S., Töpfl, S., Heinz, V. (2019). Modularity of insect production and processing as a path to efficient and sustainable food waste treatment. Journal of Cleaner Production.

Kroeckel, S., Harjes, A.-G. E., Roth, I., Katz, H., Wuertz, S., Susenbeth, A., Schulz, C. (2012). When a turbot catches a fly: Evaluation of a pre-pupae meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute – Growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture, 364, 345 – 352.

Leni, G., Caligiani, A., Sforza, S. (2019). Killing method affects the browning and the quality of the protein fraction of Black Soldier Fly (Hermetia illucens) prepupae: a metabolomics and proteomic insight. Food Research International, 115, 116 – 125.

Juárez, M., Failla, S., Ficco, A., Peña, F., Avilés, C., Polvillo, O. (2010). Buffalo meat composition as affected by different cooking methods. Food and Bioproducts Processing, 88, 145 – 148.

Megido, R. C., Poelaert, C., Ernens, M., Liotta, M., Blecker, C., Danthine, S., Tyteca, E., Haubruge, É., Alabi, T., Bindelle, J., Francis, F. (2018). Effect of household cooking techniques on the microbiological load and the nutritional quality of mealworms (*Tenebrio molitor* L., 1758). Food Research International, 106, 503 – 508.

Nakagaki, B. J., Defoliart, G. R. (1991). Comparison of diets for mass-rearing Acheta domesticus (Orthoptera, Gryllidae) as a novelty food and comparison of food conversion efficiency with values reported for livestock. Journal of Economic Entomology, 84, 891 – 896.

Nishi, Y., Sasaki, K., Miyatake, T. (2010). Biogenic amines, caffeine and tonic immobility in *Tribolium castaneum*. Journal of Insect Physiology, 56, 622-628.

Nriagu, J. (2011). Zinc Deficiency in Human Health. Encyclopedia of Environmental Health, 789-800.

Phankaen, Y., Manaprasertsak, A., Pluempanupat, W., Koul, O., Kainoh, Y., Bullangpoti, V. (2017). Toxicity and repellent action of Coffea arabica against *Tribolium castaneum* (Herbst) adults under laboratory conditions. Journal of Stored Products Research, 71, 112-118.

Piccolo, G., Iaconisi, V., Marono, S., Gasco, L., Loponte, R., Nizza, S., Bovera, F., Parisi, G. (2017). Effect of Tenebrio molitor larvae meal on growth performance, in vivo nutrients digestibility, somatic and marketable indexes of gilthead sea bream (Sparus aurata). Animal Feed Science and Technology, 226, 12 – 20.

Protix (2014). Method to convert insects or worms into nutrient streams and compositions obtained thereby. Patent Nr. WO2014/123420.

Prückler, M., Siebenhandl-Ehn, S., Apprich, S., Höltinger, S., Haas, C., Schmid, E., Kneifel, W. (2014). Wheat bran-based biorefinery 1: Composition of wheat bran and strategies of functionalization. LWT – Food Science and Technology, 56, 211-221.

Ramos-Elorduy, J., Gonzales, E. A. (2002). Use of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) to recycle organic wastes and as feed for broiler chickens. Journal of Economic Entomology, 214–220.

Rho, M. S., Lee, K. P. (2014). Geometric analysis of nutrient balancing in the mealworm beetle, Tenebrio molitor L. (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Insect Physiology, 71, 37-45.

Rumpold, B. A., Schlüter, O. K. (2013). Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 17, 1–11.

Schmidt, T. (2014). Eiweißstrategie Futtermittel: Die Rolle von Soja und Raps als Proteinfuttermittel in Deutschland und Europa. Positionspapier. OVID, Verband der Ölsaatenverarbeitenden Industrie in Deutschland.

Simon, E., Baranyai, E., Braun, M., Fabián, I., Tóthmérész, B. (2013). Elemental concentration in mealworm beetle (*Tenebrio molitor* L.) during metamorphosis. Bio. Trace. Elem. Res., 154, 81-87.

UN (2017). World Population Prospects. Data Booklet. 2017 Revision.

Van Broekhoven, S., Oonincx, D. G. A. B., Van Huis, A., Van Loon, J. J. A. (2014). Growth performance and feed conversion efficiency of three edible mealworm species (Coleoptera: Tenebrionidae) on diets composed of organic by-product. Journal of Insect Physiology, 73, 1-10.

Van Huis, A. (2013). Potential of Insects as Food and Feed in Assuring Food Security. Annual Review of Entomology, 58, 563 – 583.

Van der Fels-Klerx, H. J., Camenzuli, J., van der Lee, M. K., Oonincx, D. G. (2016). Uptake of Cadmium, Lead and Arsenic by *Tenebrio molitor* and *Hermetia illucens* from contaminated substrated. PLoS One, 15,11(11).

Veldkamp, T. et al. (2012). Insects as a sustainable feed ingredient in pig and poultry diets – a feasibility study. Report 638, Lelystad: Wageningen UR Livestock Research.

Xie, T., Xia, Y., Zeng, Y., Li, Xingrui, Zhang, Y. (2017). Nitrate concentration-shift cultivation to enhance protein content of heterotrophic microalga *Chlorella vulgaris*: Overcompensation strategy. Bioresource Technology, 233, 247-255.