



Vlaanderen
is materiaalbewust

ONDERZOEK 'FRASS'

RESTSUBSTRAAT VAN INSECTENKWEK (BESTEKNUMMER 8278)

SAMEN MAKEN WE
MORGEN MOOIER

OVAM

WWW.OVAM.BE

DOCUMENTBESCHRIJVING

- | | |
|---|--|
| 1 <i>Titel van publicatie:</i>
Document1 | 2 <i>Verantwoordelijke Uitgever:</i>
OVAM |
| 3 <i>Wettelijk Depot nummer::</i> 2016 | 4 <i>Trefwoorden:</i>
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX |
| 5 <i>Samenvatting:</i>
Deze brochure | |
| 6 <i>Aantal bladzijden:</i> 64 | 7 <i>Aantal tabellen en figuren:</i> / |
| 8 <i>Datum publicatie:</i>
2016 | 9 <i>Prijs*:</i> / |
| 10 <i>Begeleidingsgroep en/of auteur:</i> / | 11 <i>Contactpersonen:</i>
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX |
| 12 <i>Andere titels over dit onderwerp:</i> /
xxxx | |

U hebt het recht deze brochure te downloaden, te printen en digitaal te verspreiden. U hebt niet het recht deze aan te passen of voor commerciële doeleinden te gebruiken.

[De meeste OVAM-publicaties kunt u raadplegen en/of downloaden op de OVAM-website.](#)

* Prijswijzigingen voorbehouden.

INHOUD

Inleiding	6
1 Deelvraag 1: Wat is de exacte samenstelling van het restsubstraat?.....	8
1.1 Inleiding	8
1.2 Materiaal & Methode	8
1.3 Resultaten	10
1.4 Discussie en besluit	14
2 Deelvraag 2: Kan het restsubstraat gescheiden worden in de verschillende fracties (mest, resten van voeder en (resten van) insecten)?.....	15
2.1 Inleiding	15
2.2 Materiaal & Methode	15
2.3 Resultaten	16
2.4 Discussie en besluit	18
3 Deelvraag 3: Wat zijn de mogelijke risico's (van de verschillende onderdelen) van het restsubstraat?	20
3.1 Inleiding	20
3.2 Materiaal & Methode	20
3.2.1 Microbiologische analyses	20
3.2.2 Aanwezigheid insecten	20
3.2.3 Chemische risico's	21
3.3 Resultaten	21
3.3.1 Microbiologische analyses	21
3.3.2 Aanwezigheid insecten	23
3.3.3 Chemische risico's	25
3.4 Discussie en besluit	30
4 Deelvraag 4: Is de huidige voorgestelde verwerkingsmethode (1u op 70°C) van het restsubstraat voldoende om eventuele risico's te beperken?	31
4.1 Inleiding	31
4.2 Materiaal en methoden	31
4.3 Resultaten	31
4.4 Discussie en besluit	34
5 Deelvraag 5: Wat zijn de minimaal vereiste verwerkingsmethodes om de diverse risico's te vermijden?	35
5.1 Inleiding	35
5.2 Materiaal en methoden	35
5.3 Resultaten	36
5.4 Discussie en besluit	39
Algemeen besluit.....	40
Bijlagen	41

Bijlage 1: samenstelling frass	42
Bijlage 2: foto's van verschillende fracties van frass gescheiden obv grootte (OVAM bestek 8278)	45
Bijlage 3: hoeveelheid 'insecten' of 'delen van insecten' in elke afgezeefde fractie van het restsubstraat	56
Bijlage 4: voorstel protocol voor volume- en massabepaling van insecten in frass (OVAM bestek 8278)	60

INLEIDING

Dit document is het eindrapport van de opdracht voor het bestek nr 8278 van de OVAM. In dit bestek werd gevraagd om onderzoek te doen naar FRASS of insectenmest, het restsubstraat dat ontstaat na de kweek van insecten.

Het onderzoek werd opgesplitst in 5 deelvragen:

- 1 Wat is de exacte samenstelling van het restsubstraat?
- 2 Kan het restsubstraat gescheiden worden in de verschillende fracties (mest, resten van voeder en (resten van) insecten)?
- 3 Wat zijn de mogelijke risico's van de verschillende onderdelen van het restsubstraat (chemisch, biologisch, ecologisch, ...)?
- 4 Is de huidige voorgestelde verwerkingsmethode (1u op 70°C) van het restsubstraat voldoende om eventuele risico's te beperken?
- 5 Wat zijn de minimaal vereiste verwerkingsmethodes om de diverse risico's te vermijden?

Zoals in het bestek gevraagd werd er gewerkt met het restsubstraat van verschillende insectensoorten. Meer bepaald werd het restsubstraat van de 4 meest economisch interessante insectensoorten onderzocht: nl. de zwarte soldatenvlieg (*Hermetia illucens*), de meelworm (*Tenebrio molitor*), de huiskrekel (*Acheta domesticus*) en de treksprinkhaan (*Locusta migratoria*). Hierbij lag de focus vnl. op zwarte soldatenvlieg en meelworm. Stalen werden genomen bij 2 wetenschappelijke pilootinstallaties (Thomas More en Inagro) en 5 professionele kwekers. Voor de kwekers werd zo veel mogelijk gekozen voor Vlaamse kwekers, maar indien dit niet mogelijk was werd gekozen voor Nederlandse ondernemingen.

In totaal werden er 3 staalnamerondes uitgevoerd, waarbij volgende frass stalen gesampled werden:

Maand 1: Staalname ronde 1

- a 2x Zwarte Soldatenvlieg: pilot Thomas More, pilot Inagro
- b 2x Meelwormen: pilot Thomas More, pilot Inagro
- c 1x Locusta: pilot Thomas More
- d 1x Huiskrekel: pilot Inagro

Maand 3: Staalname ronde 2

- a 4x Zwarte Soldatenvlieg: pilot Thomas More, pilot Inagro, kweker 1, kweker 2
- b 4x Meelwormen: pilot Thomas More, pilot Inagro, kweker 3, kweker 4
- c 2x Locusta: pilot Thomas More, kweker 5
- d 2x Huiskrekel: pilot Inagro, kweker 4

Maand 5: Staalname ronde 3

- a 2x Zwarte Soldatenvlieg: pilot Thomas More, pilot Inagro
- b 2x Meelwormen: pilot Thomas More, pilot Inagro
- c 1x Locusta: pilot Thomas More
- d 1x Huiskrekel: pilot Inagro

1 DEELVRAAG 1: WAT IS DE EXACTE SAMENSTELLING VAN HET RESTSUBSTRAAT?

1.1 INLEIDING

De chemische samenstelling van frass heeft een belangrijke invloed op de mogelijke toepassingsgebieden van dit substraat. Daarom werd in het OVAM bestek (nummer 8278, deelvraag 1) de samenstelling onderzocht van 4 insectensoorten en dit zowel bij de 2 wetenschappelijke pilootinstallaties (Inagro en Thomas More) en enkele professionele kwekers.

1.2 MATERIAAL & METHODE

Er werden frass stalen, zoals ze het bedrijf zouden verlaten, genomen bij de kwekers of pilootinstallaties (staalname 2).

Voor de verschillende insectensoorten werden op volgende locaties stalen van frass genomen (staalname 2):

- Zwarte Soldatenvlieg: Thomas, Inagro (2 stalen op 2 voeders), kweek kweker 3 & 4
- Meelwormen: Thomas More, Inagro, kweker 1 & 2
- Locusta: Thomas More, kweek kweker 5
- Huiskrekel: Inagro, kweek kweker 2

De stalen werden ingevroren en bewaard bij -20 °C tot op het moment van analyse. De analyses werden uitgevoerd in laboratorium van Inagro die een uitgebreide ervaring heeft met mestanalyses. In totaal werden 12 parameters bepaald per staal (Tabel 1). Droge stof via drogen, organische stof via verassen in een moffeloven (NEN-7432), ICP-AES voor Ca, Mg, P, en K (BAM deel3/deel4), GC-TCD voor totale stikstofgehalte (BAM deel3/deel4).

Door het beperkt aantal analyses (en beperkt aantal kwekers) bij *Acheta domesticus* en *Locusta migratoria* is het niet mogelijk hierop een statistische analyse uit te voeren.

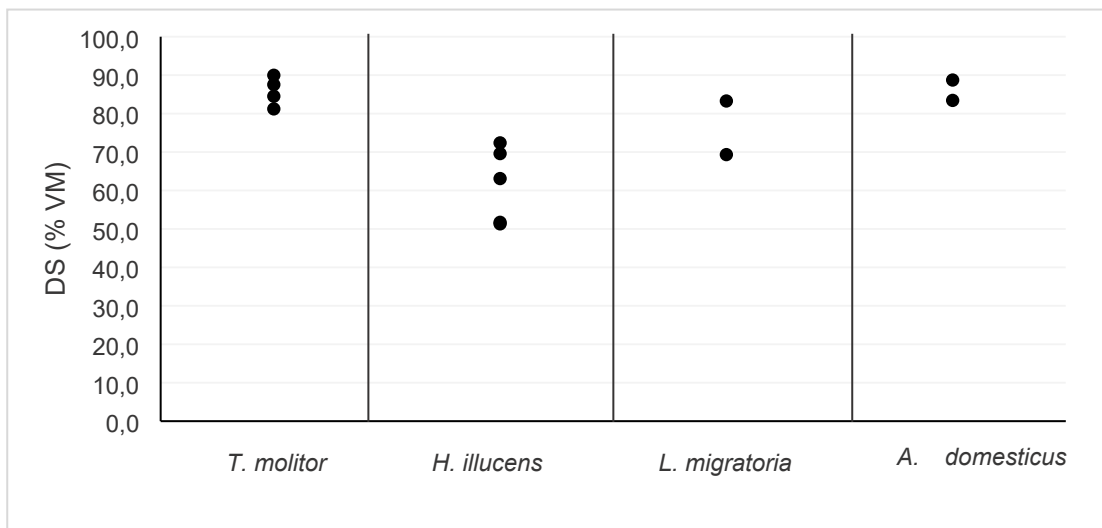
Om de vergelijking te kunnen maken met klassieke bronnen van mest en Champost werd gebruik gemaakt van enerzijds de mestwegwijzer van de Bodemkundige Dienst van België en eerdere mest analyses van landbouwers bij Inagro.

Tabel 1: De gemeten parameters

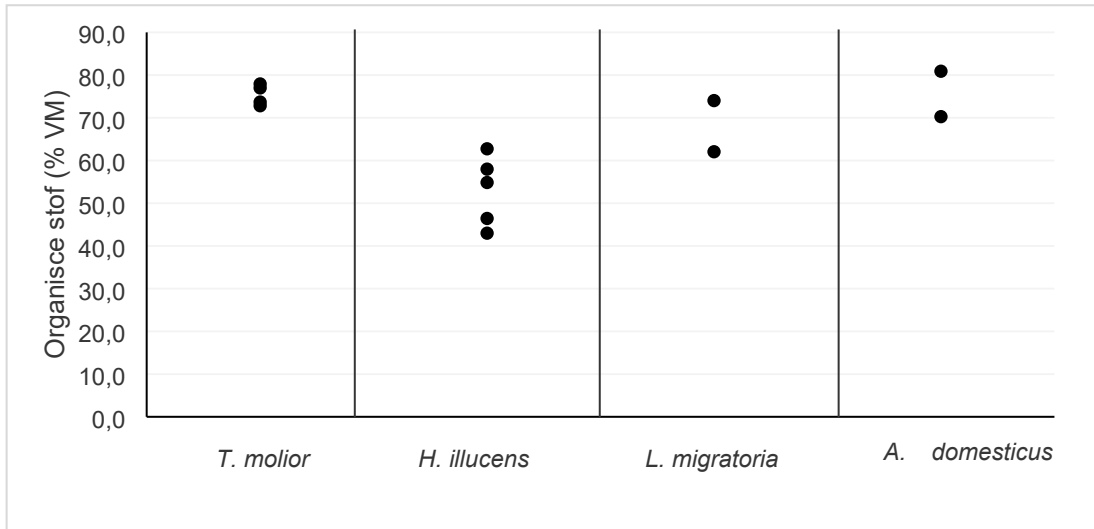
Droge stof	kg/1000 kg VM
Organische stof	kg/1000 kg VM
Organische koolstof	kg/1000 kg VM
Ammonium Stikstof	kg NH ₃ -N/1000 kg VM
Totale stikstof	kg/1000 kg VM
Calcium	kg/1000 kg CaO VM
Magnesium	kg/1000 kg MgO VM
Natrium	kg/1000 kg Na ₂ O VM
Kalium	kg/1000 kg K ₂ O VM
Fosfor	kg/1000 kg P ₂ O ₅ VM
Zwavel	g/1000 kg VM
pH	pH eenheid (1:5 V:V)

1.3 RESULTATEN

De gedetailleerde samenstelling van de frass voor de verschillende insecten en kwekers staan in Tabel 12 in de bijlagen (bijlage 1). Hieronder volgt een samenvatting van deze resultaten. Over het algemeen heeft frass een hogere droge stof gehalte dan de mest van andere dieren. In het bijzonder de meelworm (86 % SD 3.8 %) en de krekel (83 en 89 %) (Figuur 1). De zuivere mest van *L. migratoria* is waarschijnlijk ook droog, maar de inmenging van het voeder (hier gras) dat bij beide stalen zichtbaar aanwezig was in de frass zorgt hier waarschijnlijk voor enige variabiliteit. De laagste en meest variabele droge stof waarden vinden we bij *H. illucens* (62 % SD 9.8 %). Het is ook belangrijk op te merken dat de 2 laatste (51 en 52 %) afkomstig zijn van de professionele kwekers en de hogere waarden uit de pilootinstallaties. Dit wijst op een andere kweekmethode. De hoeveelheid organische stof vertoont een gelijkaardig patroon met zeer hoge waarden voor *T. molitor*, *L. migratoria* en *A. domesticus* en licht lagere waarden voor *H. illucens* (Figuur 2).

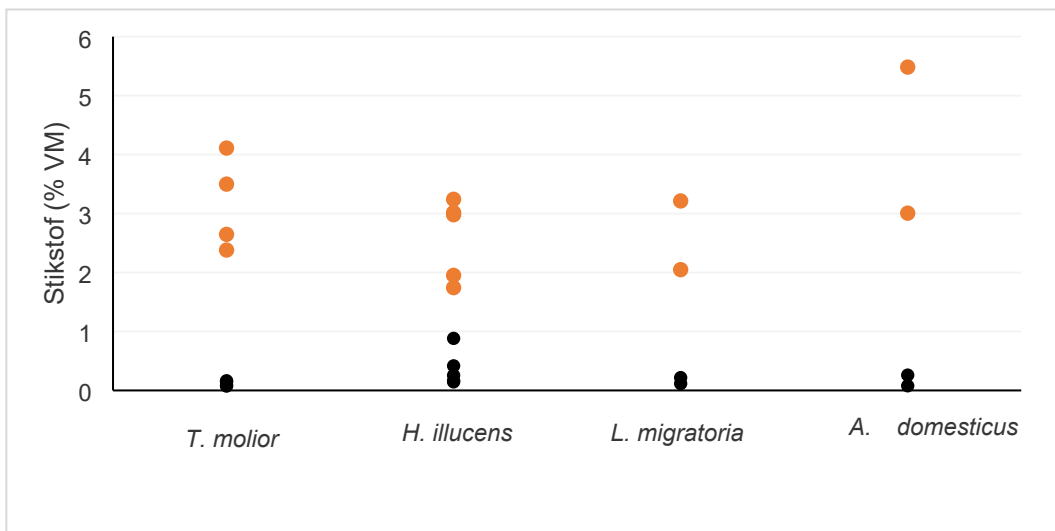


Figuur 1: Het droge stof gehalte van de frass van verschillende insectensoorten

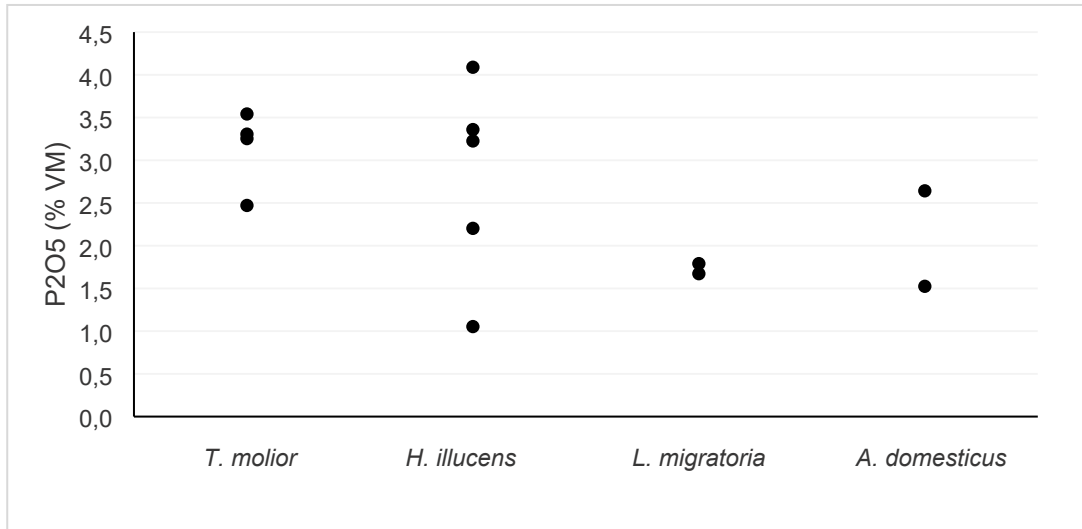


Figuur 2: Het organische stof gehalte van de frass van verschillende insectensoorten

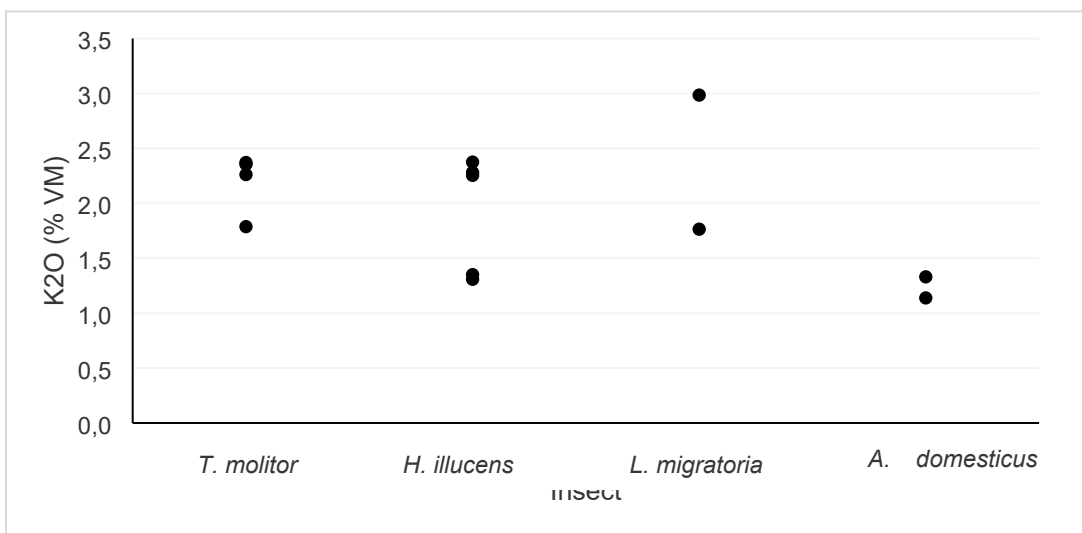
Het ammonium gehalte was gemiddeld 0.23 % (SD 0.22%, range 0.07 - 0.88 %) en het totaal stikstof gehalte 3.0 % (SD 1.0 %, range 1.1 – 4.1 %) (Figuur 3). Het percentage fosfor (als P₂O₅) was gemiddeld 2.6 % (SD 0.9 %, range 1.1 – 4.1 %) en kalium (als K₂O) was goed voor gemiddeld 2.0 % (SD 0.6 %) (zie Figuur 4 en Figuur 5). De variatie tussen bedrijven is hier groter dan de variatie tussen insectensoorten.



Figuur 3: Het ammonium (NH₃-N, zwart) en totaal (oranje) stikstof percentage in frass van verschillende insecten.



Figuur 4: Het fosfor (als P2O5) gehalte van de frass van verschillende insectensoorten



Figuur 5: Het kalium gehalte (als K2O) van de frass van verschillende insectensoorten

De gedetailleerde minerale samenstelling (Na, Mg, Ca en S) wordt weergegeven in Tabel 12: De gemeten samenstelling van frass voor de verschillende insecten van de verschillende locaties en een samenvatting in Tabel 1. Voor calcium, magnesium en zwavel zijn er geen substantiële verschillen tussen de insecten. Er is 1 staal met een zeer hoog Ca gehalte (*T. molitor*, Inagro, 4.7 %). Voor natrium (Na₂O) is er wel een verschil, de concentratie in *H. illucens* frass is consistent hoger dan bij de andere insecten.

Tabel 1: Gemiddelde minerale samenstelling van insecten frass

		GEMIDDELDE	SD
CALCIUM	kg/1000	11,7	14,1
	kg CaO		
	VM		
MAGNESIUM	kg/1000	7,8	2,7
	kg MgO		
	VM		
NATRIUM	kg/1000	3,3	2,7
	kg Na ₂ O		
	VM		
ZWAVEL	g/1000 kg	3426,7	1487,0
	VM		

1.4 DISCUSSIE EN BESLUIT

Uit de resultaten van deze studie blijkt dat er, voornamelijk, veel variatie in samenstelling is tussen de stalen binnen een insectensoort. Op enkele uitzonderingen na, lijkt op dit moment de kweekmethode en/of voeder een grotere invloed te hebben op de frass samenstelling dan de soort. Hierna wordt dan ook de 'gemiddelde' insecten frass besproken.

In vergelijking met voorgaande analyses bij Inagro op frass van de meelworm en zwarte soldatenvlieg (Tabel 13, bijlage 1) is de gemiddelde samenstelling gelijkaardig. Het is echter ook direct duidelijk dat ook hier de variatie binnen een insectensoort groot is voor bijna alle gemeten parameters. Dit blijkt ook uit de gemiddelde variantie coëfficiënt ($SD/gemiddelde \cdot 100$) voor N, P en K van 30 %.

In vergelijking met andere mest/compost soorten is frass droog en rijk aan organisch materiaal. Dit heeft twee voordelen voor de kweker en eindgebruiker. Ten eerste is een hoog droge stof gehalte voordelig gezien men dan geen water moet vervoeren en dus meer nutriënten vervoert per vrachtwagen dan een meer waterhoudende mest. Ten tweede zijn veel landbouwgronden in Vlaanderen arm aan organisch materiaal en het gebruik van deze meststof zou dit kunnen verhogen.

Met een gemiddelde N-P-K van 3-3-2 voor frass is dit redelijk in de buurt aan leghennen of moederdierenmest en kan dus waarschijnlijk in gelijkaardige sectoren worden ingezet (Tabel 14 en Tabel 15). Runderen, biggen en paarden daarentegen hebben, relatief, een lagere stikstof en fosfor concentratie. Het is wel belangrijk om hierbij op te merken dat ook bij de mest van 'klassieke' landbouwdieren variabel is (Tabel 15). De limiterende factor voor het gebruik van de frass is wel duidelijk fosfaat. Dit komt enerzijds omdat een N/P verhouding van 2 tot 2,5 beter is voor plantengroei en anderzijds mag men in Vlaanderen (afhankelijk van de teelt en locatie) maximaal tussen de 45 en 115 kg/ha/jaar fosfaat gebruiken. Met een gemiddelde van 26 kg/ton wil dit zeggen dat maar 2 tot 5 ton mag worden gebruikt op een veld. Het bodem verbeterend effect, door het hoog gehalte organische materiaal, zal dan ook beperkt zijn. Opnieuw, de gemeten gehalten waren sterk variabel (tussen 11 en 41 kg/ha). In Vlaanderen mag gemiddeld een halve ton stikstof uit vaste dierlijke mest worden gevoerd per hectare (range 230-1250 kg) en is dus op dit moment niet limiterend. Een verlaging van het fosfor gehalte in de frass zou dus wenselijk zijn om meer afzet te verkrijgen per hectare en misschien ook een betere groei voor de plant te verwezenlijken. Daarnaast is een belangrijk aandachtspunt ook het zoutgehalte (Na) in de frass van de zwarte soldatenvlieg. Deze is vrij hoog in vergelijking met andere insectensoorten en andere diersoorten (gemiddeld 1.5 kg/ton). Een te hoog gehalte kan bijdragen aan de verzilting van de bodem en is negatief voor plantengroei. Een reductie hiervan, door aanpassing van het voeder of kweekregime, zou dus aangewezen zijn. Opvallend is wel dat dergelijke zoutgehalten niet altijd aanwezig zijn en dus misschien vermeden kunnen worden door een aangepast, zoutarm, voeder.

Tot slot, het onderzoek naar de nutritionele behoeften van insecten is nog maar net begonnen (in vergelijking met andere sectoren). Een ander dieet zorgt voor een andere frass samenstelling, gecombineerd met doorgedreven onderzoek naar een efficiëntere opnamen van de nutriënten uit hun voeder kunnen we verwachten dat ook de frass samenstelling de komende jaren nog sterk zal wijzigen.

2 DEELVRAAG 2: KAN HET RESTSUBSTRAAT GESCHEIDEN WORDEN IN DE VERSCHILLENDE FRACTIES (MEST, RESTEN VAN VOEDER EN (RESTEN VAN) INSECTEN)?

2.1 INLEIDING

Naast uitwerpselen van insecten bevat het restsubstraat vaak ook resten van het voeder en de insecten zelf. Recent werd de dierlijke bijproducten wetgeving aangepast¹ (en werd een definitie voor frass (vertaalt als insectenmest) toegevoegd als volgt:

“insectenmest”: mengsel van uitwerpselen van gekweekte insecten, de voedingsbodem, delen van gekweekte insecten en dode eieren, met een maximumgehalte van 5 volumeprocent en 3 gewichtsprocent dode gekweekte insecten.”.

In tegenstelling tot de andere onderzoeksvragen waarvoor reeds ervaring is bij de gebruikte technieken en analyses, was er voor deze deelvraag nog onderzoek nodig naar de mogelijke technieken. Daarom werd deze deelvraag opgesplitst in (1) het scheiden van fracties en (2) het opstellen van een protocol voor de kwantificatie van insecten in de frass.

2.2 MATERIAAL & METHODE

Frass:

Voor de verschillende insectensoorten werden op volgende locaties stalen van frass genomen (staalname 2):

- Zwarte Soldatenvlieg: pilot Thomas More, pilot Inagro, kweek kweker 1 & kweker 2
- Meelwormen: pilot Thomas More, pilot Inagro, kweek kweker 3 & kweker 4
- Locusta: pilot Thomas More, kweek kweker 5
- Huiskrekkel: pilot Inagro, kweek kweker 4

Scheiden van fracties:

Om de insecten, delen van insecten en de overige fracties van de mest te scheiden werden in eerste instantie de frass stalen (1 liter, afgemeten met een glazen maatcilinder van 1000 ml met een diameter van 60 mm en een hoogte van 440 mm) gescheiden op basis van grootte door deze te zeven over verschillende zeven met een diameter van 30 cm (Prosep, zaventem). De zeven werden gestapeld van grote naar klein maaswijdte nl. 3,5 mm > 3 mm > 2,5 mm > 2,36 mm > 2 > 1,7 mm > 1 mm > 500 µm. De zeven werden gemonteerd op een HAVER Sieve Shaker EML 315 digital plus T for dry sieving (Oelde, Germany). Na afzeven werden de verschillende fracties opgevangen in een plastic bak van L 40 cm x B 60 cm x H 12 cm (Engels Logistics NV, Beringen). Vervolgens werd

¹ VERORDENING (EU) 2021/1925 VAN DE COMMISSIE, beschikbaar via: [L_2021393NL.01000401.xml \(europa.eu\)](https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2021/1925/oj)

per fractie visueel geïnspecteerd of er insecten of delen van insecten aanwezig waren. Indien deze aanwezig waren werden deze manueel verzameld. Om een onderscheid te kunnen maken tussen insecten en delen van insecten werd er besloten **insecten te definiëren als 'thorax+kop'** en andere delen van insecten zoals ledematen, vleugels, vervellingen werden beschouwd als delen van insecten. Van elke fractie die afgezeefd werd, werden foto's genomen.

Kwantificeren van 'insecten' en 'delen van insecten' in frass:

Om de hoeveelheid insecten of delen van insecten te kunnen kwantificeren werden het volume van het frass staal bepaald (1 liter) en werd dit eveneens gewogen op een bovenweger (tot 0.01g nauwkeurig). Van de verschillende fracties die gescheiden werden werd eveneens het volume (ahv een maatcilinder) en het gewicht bepaald (analytische balans tot 0.0001g nauwkeurig).

2.3 RESULTATEN

Van al de fracties die gescheiden werden, werden foto's genomen (zie bijlage 2). Onderstaande foto's (Figuur 6) geven enkele voorbeelden weer van wat gedefinieerd werd als insecten (= thorax+kop) of 'delen van insecten':

Insecten:	Delen van insecten:
<i>A. domesticus</i>	
	
<i>H. illucens</i> :	



L. migratoria:





Figuur 6: onderscheid tussen 'insecten' en 'delen van insecten'

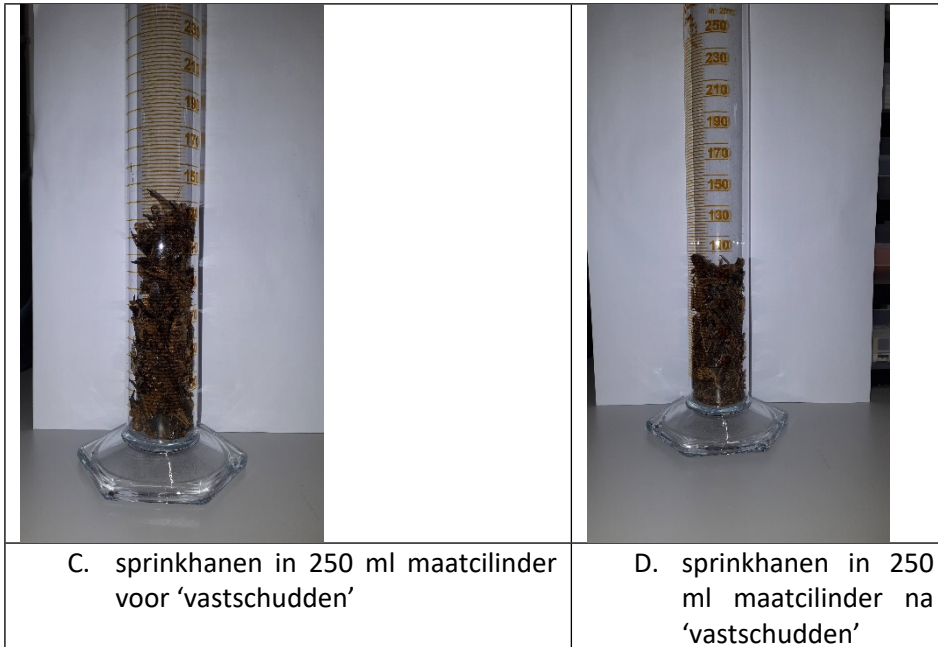
In bijlage 3 wordt een overzicht gegeven van de van de hoeveelheid 'insecten' of 'delen van insecten' dat teruggevonden werden in elke afgezeefde fractie van het restsubstraat. De hoeveelheid werd bepaald door deze te wegen en door het volume te bepalen. Het volume werd bepaald door de insecten over te brengen in een maatcilinder. Hiervoor werd telkens de grootst mogelijke maatcilinder genomen waarmee het volume nog meetbaar was.

Op basis van deze resultaten werd een protocol uitgewerkt voor de bepaling van de hoeveelheid insecten in het restsubstraat (bijlage 4).

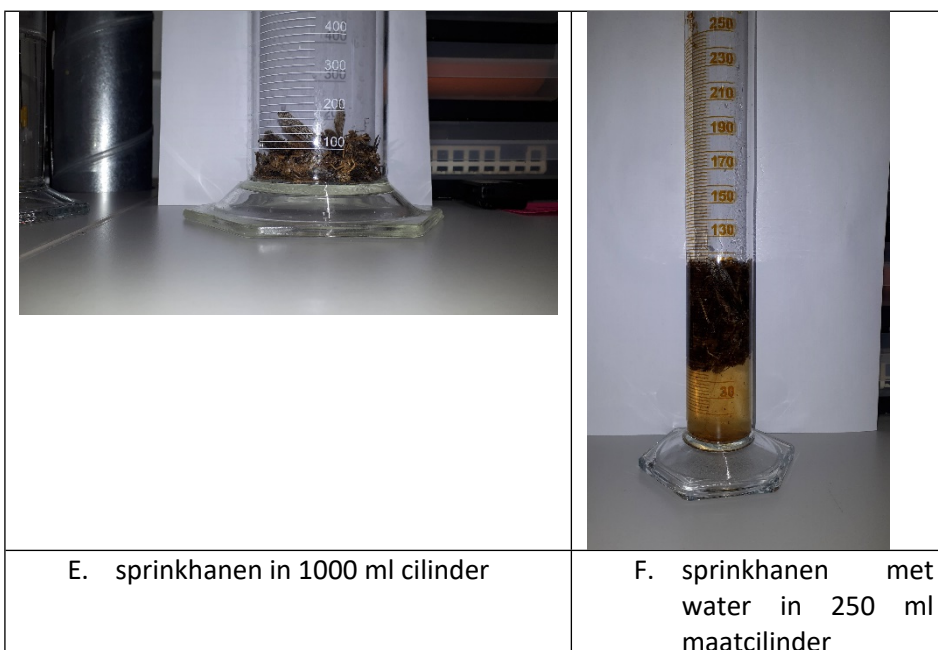
2.4 DISCUSSIE EN BESLUIT

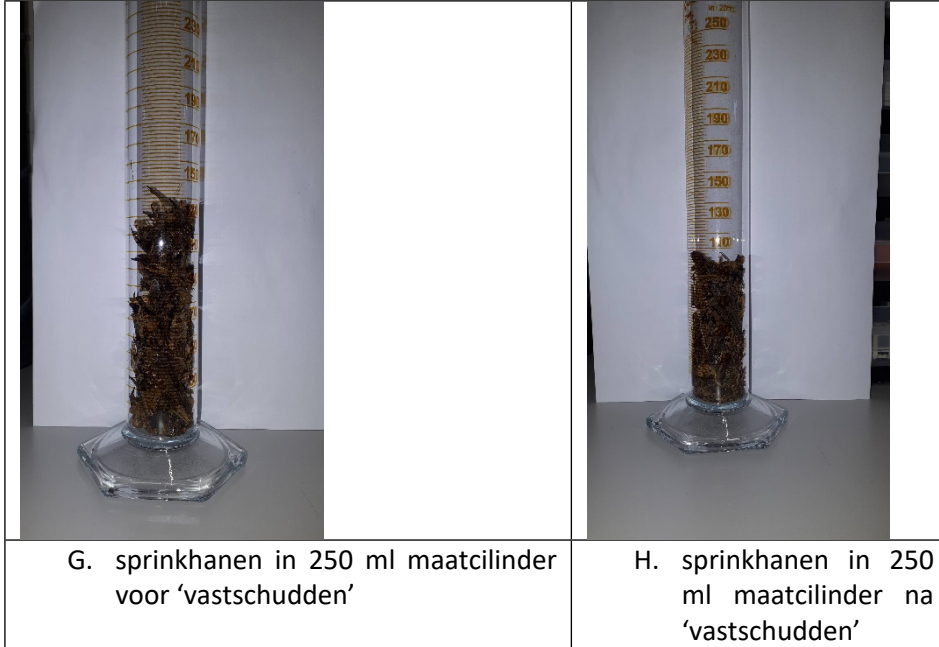
Deze deelvraag had tot doel om na te gaan of 'insecten' en 'delen van insecten' gescheiden konden worden van de rest van het frass alsook het opstellen van een protocol voor het bepalen van het volumepercent en gewichtspercent dode gekweekte insecten in frass. Insecten en delen van insecten konden vaak goed geïdentificeerd worden van de rest van het frass na deze te scheiden obv grootte mbv een draadzeef. Na scheiding obv grootte konden insecten en delen van insecten manueel gescheiden worden van de rest van het frass waarna deze gekwantificeerd konden worden. Bij de volumebepaling werd het meteen duidelijk dat het gemeten volume voor dit materiaal zou variëren afhankelijk van de techniek die gebruikt wordt voor het bepalen van het volume. Zo zijn sprinkhanen veel groter dan meelwormen of zwarte soldatenvlieg larven. Bovendien hebben ze ook een lage densiteit. Ze 'stapelen' daarom niet zo goed in de maatcilinder waardoor je hierin veel 'leeg' volume krijgt dat je meer 'meet' als volume van de insecten. Voor de frass zelf stelt dit probleem zicht niet, hier zijn de partikels steeds fijn genoeg. Tijdens de proeven werd geprobeerd om dit lege volume te vermijden door het materiaal steeds goed aan te schudden. Een mogelijkheid die eveneens bekeken werd is het gebruik van water om het lege volume op te vullen, maar hierbij werd meteen duidelijk dat de dode insecten het water absorbeerden, waardoor met deze techniek eveneens een vertekend beeld verkregen zou worden (zie

	
A. sprinkhanen in 1000 ml cilinder	B. sprinkhanen met water in 250 ml maatcilinder



Figuur 7). Het protocol dat nu uitgewerkt werd maakt gebruik van volumebepaling aan de hand van een maatcilinder zonder rekening te houden met het 'lege' volume. Hierdoor wordt mogelijks een overschatting gemaakt van het volume 'insecten' of 'delen van insecten'.





Figuur 7: verschil in gemeten volume afhankelijk van techniek

3 DEELVRAAG 3: WAT ZIJN DE MOGELIJKE RISICO'S (VAN DE VERSCHILLENDE ONDERDELEN) VAN HET RESTSUBSTRAAT?

3.1 INLEIDING

Het restsubstraat van insecten is een dierlijk bijproduct. Om gedefinieerd te mogen worden als frass mag dit product niet meer dan 5 volumepercent en 3 gewichtspercent dode gekweekte insecten bevatten. Om dit product bovendien als bodemverbeterend middel te mogen gebruiken moet het (1) een hygiënisiestap van 1u op 70°C ondergaan, (2) voldoen aan de microbiële criteria zoals beschreven in Verordening EU nr. 142/2011 en (3) voldoen aan de maximale hoeveelheden verontreinigende stoffen zoals beschreven in het VLAREMA.

Deze vraag werd daarom opgedeeld in 3 grote luiken: (1) microbiële risico's, (2) aanwezigheid van insecten en (3) chemische risico's.

3.2 MATERIAAL & METHODE

3.2.1 Microbiologische analyses

De aanwezigheid en/of hoeveelheid van *Clostridium perfringens*, *Salmonella* en *Enterobacteriaceae* werd geanalyseerd voor het onbehandelde restsubstraat door LOVAP. De analyses gebeurden volgens de procedures beschreven in het compendium voor de monsterneming en analyse, meer bepaald procedure CMA/4/A.

Deze stap werd uitgevoerd op het onbehandeld restsubstraat van elk van de 24 staalnames die uitgevoerd werden tijdens het bestek (staalname 1, 2 en 3):

- Zwarte Soldatenvlieg: pilot Thomas More(3x), pilot Inagro (3x), kweek kweker 1 & kweker 2
- Meelwormen: pilot Thomas More (3x), pilot Inagro (2x), kweek kweker 3 & kweker 4
- Locusta: pilot Thomas More (3x), kweek kweker 5
- Huiskrekel: pilot Inagro (3x), kweek kweker 4

3.2.2 Aanwezigheid insecten

Voor de bepaling van de insecten werd het protocol zoals uitgewerkt in bijlage 4 gebruikt.

Voor de verschillende insectensoorten werden op volgende locaties stalen van frass genomen (staalname 2):

- Zwarte Soldatenvlieg: pilot Thomas More, pilot Inagro, kweek kweker 1 & kweker 2
- Meelwormen: pilot Thomas More, pilot Inagro, kweek kweker 3 & kweker 4
- Locusta: pilot Thomas More, kweek kweker 5
- Huiskrekel: pilot Inagro, kweek kweker 4

3.2.3 Chemische risico's

Voor de analyses van de chemische risico's werden de stalen naar LOVAP gebracht. Hier werden de analyses uitgevoerd conform volgende methodes:

- PAK/PCB/CLB/MO/EOX CMA/3/W - CMA/3/X
- metalen CMA/2/IV/6 - CMA/2/I/B.1 &3 - CMA/2/IV/19

Voor de verschillende insectensoorten werden op volgende locaties stalen van frass genomen (staalname 2):

- Zwarte Soldatenvlieg: pilot Thomas More, pilot Inagro, kweek kweker 1 & kweker 2
- Meelwormen: pilot Thomas More, pilot Inagro, kweek kweker 3 & kweker 4
- Locusta: pilot Thomas More, kweek kweker 5
- Huiskrekkel: pilot Inagro, kweek kweker 4

3.3 RESULTATEN

3.3.1 Microbiologische analyses

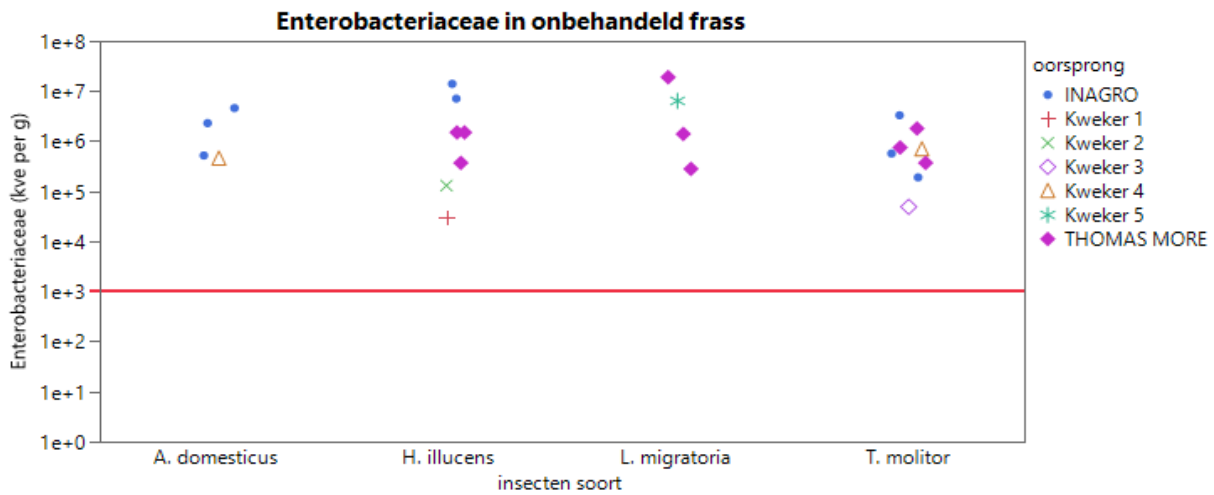
In totaal werden er 23 frass stalen geanalyseerd op aanwezigheid van *Salmonella*, *Enterobacteriaceae* en *Clostridium perfringens* (zie Tabel 2). In geen enkele van de stalen werd *Clostridium perfringens* gedetecteerd. *Salmonella* werd 1 maal teruggevonden tijdens de 2^{de} staalname bij frass van *H. illucens* afkomstig uit de pilootinstallatie van Thomas More. Bij een latere staalname werd deze niet meer gedetecteerd. Een mogelijke verklaring voor de aanwezigheid van *Salmonella* was het uitvoeren van een eerder experiment met kippenmest in dezelfde kweekruimte.

Tabel 2: microbiële analyses onbehandelde frass stalen. Kleurcode: conformiteit microbiële criteria cat 2 materiaal voor gebruik als organische meststof of bodemverbeteraar volgens Verordening (EU) nr. 142/2011: groen=conform, rood:=niet conform

oorsprong	insecten soort	staalname	<i>Salmonella</i> (in 25 g)	<i>Enterobacteriaceae</i> bij 37°C (per g)	<i>Clostridium perfringens</i> (per g)
INAGRO	<i>T. molitor</i>	1	niet aangetoond	1.9e5	<10
INAGRO	<i>H. illucens</i>	1	niet aangetoond	7.1e6	<10
INAGRO	<i>A. domesticus</i>	1	niet aangetoond	4.6e6	<10
THOMAS MORE	<i>T. molitor</i>	1	niet aangetoond	3.7e5	<1
THOMAS MORE	<i>H. illucens</i>	1	niet aangetoond	>1.5e6	<1
THOMAS MORE	<i>L. migratoria</i>	1	niet aangetoond	1.4e6	<1

oorsprong	insecten soort	staalname	Salmonella (in 25 g)	Enterobacteriaceae bij 37°C (per g)	Clostridium perfringens (per g)
THOMAS MORE	<i>H. illucens</i>	2	aangetoond	1.5e6	<10
Kweker 1	<i>H. illucens</i>	2	niet aangetoond	>3.0e4	<10
Kweker 2	<i>H. illucens</i>	2	niet aangetoond	1.3e5	<10
INAGRO	<i>T. molitor</i>	2	niet aangetoond	5.7e5	<10
Kweker 3	<i>T. molitor</i>	2	niet aangetoond	4.9e4	<10
Kweker 4	<i>T. molitor</i>	2	niet aangetoond	6.9e5	<10
THOMAS MORE	<i>T. molitor</i>	2	niet aangetoond	1.8e6	<10
Kweker 5	<i>L. migratoria</i>	2	niet aangetoond	6.4e6	<10
THOMAS MORE	<i>L. migratoria</i>	2	niet aangetoond	1.9e7	<10
INAGRO	<i>A. domesticus</i>	2	niet aangetoond	2.3e6	<10
Kweker 4	<i>A. domesticus</i>	2	niet aangetoond	4.5e5	<10
INAGRO	<i>T. molitor</i>	3	niet aangetoond	3.3e6	<1
INAGRO	<i>H. illucens</i>	3	niet aangetoond	1.4e7	<1
INAGRO	<i>A. domesticus</i>	3	niet aangetoond	5.2e6	<1
THOMAS MORE	<i>T. molitor</i>	3	niet aangetoond	7.5e5	<1
THOMAS MORE	<i>H. illucens</i>	3	niet aangetoond	3.7e5	<1
THOMAS MORE	<i>L. migratoria</i>	3	niet aangetoond	2.8e5	<1

Geen enkele van de onbehandelde stalen voldeed aan de toegestane maximum kolonie vormende eenheden voor *Enterobacteriaceae* (max 1000 kve/g) (zie Figuur 8).



Figuur 8: Enterobacteriaceae in onbehandeld frass (rode lijn stelt maximum toegelaten waarden voor)

3.3.2 Aanwezigheid insecten

De aanwezigheid van insecten werd bepaald in 11 stalen afkomstig van de pilots en professionele kwekers.

Tabel 3 en Tabel 4 geven het volume en gewichtspercentage 'insecten' en 'delen van insecten' weer voor het restsubstraat. Hierbij werd onderscheid gemaakt tussen stalen voor en na zeven door een 3.55 mm draadzeef.

Tabel 3: procentuele volume insecten (volume insecten/volume totaal) in 11 frass stalen. Kleurcode: conformiteit frass volgens de nieuwe definitie volgens Verordening (EU) nr. 142/2011: groen=conform, rood:=niet conform

oorsprong	insecten soort	maaswijdte zeef bij oogst (mm)	% insecten	% insecten + ververling & ledematen	% insecten < 3,55 mm	% insecten incl. vervelling & ledematen < 3,55 mm
Thomas More	<i>Hermetia illucens</i>	3,17	1%	1%	1%	1%
kweker 1	<i>Hermetia illucens</i>		0%	3%	0%	1%
kweker 2	<i>Hermetia illucens</i>		3%	4%	2%	3%
Thomas More	<i>Tenebrio molitor</i>	1,2	0%	0%	0%	0%
Inagro	<i>Tenebrio molitor</i>	2	3%	3%	3%	3%
kweker 3	<i>Tenebrio molitor</i>		1%	1%	1%	1%
kweker 4	<i>Tenebrio molitor</i>		0%	0%	0%	0%
Thomas More	<i>Locusta migratoria</i>		15%	17%	0%	0%
kweker 5	<i>Locusta migratoria</i>		5%	10%	0%	0%
Inagro	<i>Acheta domesticus</i>	2	0%	0%	0%	0%
kweker 4	<i>Acheta domesticus</i>		15%	36%	1%	13%

Tabel 4: procentuele massa insecten (massa insecten/massa totaal) in 11 frass stalen. Kleurcode: conformiteit frass volgens de nieuwe definitie volgens Verordening (EU) nr. 142/2011: groen=conform, rood:=niet conform

oorsprong	insecten soort	maaswijdte zeef bij oogst (mm)	% insecten	% insecten + ververling & ledematen	% insecten < 3,55 mm	% insecten incl. vervelling & ledematen <
Thomas More	<i>Hermetia illucens</i>	3,17	3%	3%	3%	3%
kweker 1	<i>Hermetia illucens</i>		0%	1%	0%	0%
kweker 2	<i>Hermetia illucens</i>		3%	3%	2%	3%
Thomas More	<i>Tenebrio molitor</i>	1,2	0%	0%	0%	0%
Inagro	<i>Tenebrio molitor</i>	2	2%	2%	2%	2%
kweker 3	<i>Tenebrio molitor</i>		1%	1%	1%	1%
kweker 4	<i>Tenebrio molitor</i>		1%	1%	1%	1%
Thomas More	<i>Locusta migratoria</i>		11%	21%	0%	1%
kweker 5	<i>Locusta migratoria</i>		2%	3%	0%	0%
Inagro	<i>Acheta domesticus</i>	2	0%	0%	0%	0%
kweker 4	<i>Acheta domesticus</i>		3%	3%	3%	3%

3.3.3 Chemische risico's

De aanwezigheid van verontreinigende stoffen werd geanalyseerd voor 11 frass stalen afkomstig van pilots en professionele kwekers (zie Tabel 5, Tabel 6 en Tabel 7). Al de stalen voldeden aan de voorwaarden zoals beschreven in VLAREMA-bijlage 2.3.1.A.

Tabel 5: Analyse polycyclische aromatische koolwaterstoffen in frass van verschillende insectensoorten. Kleurcode: conformiteit VLAREMA, groen=conform, rood:=niet conform

oorsprong	Thom as More	Inagr o	kwek er 1	kwek er 2	Thom as More	Inagr o	kwek er 3	kwek er 4	Thom as More	kweke r 5	Inagro	kweker 4
insecten soort	<i>Herm etia illucen s</i>	<i>Herm etia illucen s</i>	<i>Herm etia illucen s</i>	<i>Herm etia illucen s</i>	<i>Tene brio molito r</i>	<i>Tene brio molito r</i>	<i>Tene brio molito r</i>	<i>Tene brio molito r</i>	<i>Locust a migrat oria</i>	<i>Locust a migrat oria</i>	<i>Acheta domesti cus</i>	<i>Acheta domesti cus</i>
Benzo(a)anthra ceen (mg/kg DS)	<0.30		<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30
Acenaftyleen (mg/kg DS)	<1.0		<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1. 0	<1. 0
Acenafteen (mg/kg DS)	<1.0		<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1. 0	<1. 0
Fluoreen (mg/kg DS)	<1.0		<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1. 0	<1. 0
Benzo(a)pyreen (mg/kg DS)	<0.30		<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30
Anthraceen (mg/kg DS)	<0.50		<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50
Benzo(ghi)per yleen (mg/kg DS)	<0.50		<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50
Pyreen (mg/kg DS)	<0.30		<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30
Benzo(b)fluora ntheen (mg/kg DS)	<1.0		<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
Benzo(k)fluora ntheen (mg/kg DS)	<0.50		<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50
Chryseen (mg/kg DS)	<0.30		<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30
Fenanthreen (mg/kg DS)	<1.0		<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
Fluoranthreen (mg/kg DS)	<1.0		<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0

Indeno(1,2,3-cd)pyreen (mg/kg DS)	<0.50		<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50
Dibenz(a,h)anthraceen (mg/kg DS)	<0.50		<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50
Naftaleen (mg/kg DS)	<0.30		<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30	<0.30

METALEN

Tabel 6: Analyse metalen in frass van verschillende insectensoorten. Kleurcode: conformiteit VLAREMA, groen=conform, rood:=niet conform

oorsprong	Thomas More	Inagro	kweker 1	kweker 2	Thomas More	Inagro	kweker 3	kweker 4	Thomas More	kweker 5	Inagro	kweker 4
insectensoort	<i>Hermetia illucens</i>	<i>Hermetia illucens</i>	<i>Hermetia illucens</i>	<i>Hermetia illucens</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Locusta migratoria</i>	<i>Locusta migratoria</i>	<i>Acheta domestica</i>	<i>Acheta domestica</i>
Arseen (As) (mg/kg DS)	<2.0		<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	2.5
Cadmium (Cd) (mg/kg DS)	<0.50		<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50	<0.50
Chroom (Cr) (mg/kg DS)	<15.0		<15.0	<15.0	<15.0	<15.0	<15.0	<15.0	<15.0	<15.0	<15.0	<15.0
Koper (Cu) (mg/kg DS)	74.8		16.1	15.0	15.9	19.6	13.4	17.7	12.1	18.4	35.9	14.6
Lood (Pb) (mg/kg DS)	<10.0		<10.0	<10.0	<10.0	<10.0	<10.0	<10.0	<10.0	<10.0	<10.0	<10.0
Nikkel (Ni) (mg/kg DS)	5.52		4.92	<4.00	<4.00	<4.00	<4.00	<4.00	<4.00	<4.00	4.01	<4.00
Zink (Zn) (mg/kg DS)	357		75.9	60.7	120	174	99.4	140	107	113	170	174
Kwik (Hg) (mg/kg DS)	<0.025		<0.025	<0.025	<0.025	<0.025	<0.025	<0.025	<0.025	<0.025	<0.025	<0.025

Tabel 7: Analyse overige organische stoffen in frass van verschillende insectensoorten. Kleurcode: conformiteit VLAREMA, groen=conform, rood:=niet conform

oorsprong	Thom as More	Inagr o	kwek er 1	kwek er 2	Thom as More	Inagr o	kwek er 3	kwek er 4	Thom as More	kweke r 5	Inagro	kweker 4
insecten soort	<i>Herm etia illuce ns</i>	<i>Herm etia illuce ns</i>	<i>Herm etia illuce ns</i>	<i>Herm etia illuce ns</i>	<i>Tene brio molito r</i>	<i>Tene brio molito r</i>	<i>Tene brio molito r</i>	<i>Tene brio molito r</i>	<i>Locust a migrat oria</i>	<i>Locust a migrat oria</i>	<i>Acheta domesti cus</i>	<i>Acheta domesti cus</i>
1,2,3,5+1,2,4,5- Tetrachlorobenz een (mg/kg DS)	<0.40		<0.40	<0.40	<0.40	<0.40	<0.40	<0.40	<0.40	<0.40	<0.40	<0.40
1,2,3,4- Tetrachloorbenz een (mg/kg DS)	<0.20		<0.20	<0.20	<0.20	<0.20	<0.20	<0.20	<0.20	<0.20	<0.20	<0.20
Pentachloorben zeen (mg/kg DS)	<0.15		<0.15	<0.15	<0.15	<0.15	<0.15	<0.15	<0.15	<0.15	<0.15	<0.15
Hexachloorbenz een (mg/kg DS)	<0.050		<0.050	<0.050	<0.05 0	<0.05 0	<0.05 0	<0.05 0	<0.050	<0.050	<0.050	<0.050
minerale olie fractie C10-C20 (mg/kg DS)	<100		<100	<100	1 00	135	<100	<100	175	<100	<100	<100
minerale olie fractie C20-C40 (mg/kg DS)	<1000		<1000	<1000	<1000	2570	<1000	<1000	4190	<1000	1390	3460
Som PCB's (mg/kg DS))	<0.010 0		<0.010 0	<0.010 0	<0.01 00	<0.01 00	<0.01 00	<0.01 00	<0.010 0	<0.010 0	<0.0100	<0.0100

3.4 DISCUSSIE EN BESLUIT

De aanwezigheid van *Salmonella*, *Enterobacteriaceae* en *Clostridium perfringens* werd bepaald in 23 verse frass stalen. *Clostridium* werd niet teruggevonden in de geteste stalen hiermee voldeden de stalen aan de criteria voor *Clostridium* zoals voorgeschreven in Verordening (EU) nr. 142/2011. *Salmonella* werd in slechts 1 staal teruggevonden in een pilot kweek, een verklaring voor de aanwezigheid van *Salmonella* is mogelijks het uitvoeren van proeven met kippenmest die in dezelfde kweekcel uitgevoerd werden. De andere stalen voldeden aan de criteria voor *Salmonella* zoals voorgeschreven in Verordening (EU) nr. 142/2011. Voor *Enterobacteriaceae* voldeed geen enkel staal aan de criteria. Er moet hierbij wel opgemerkt worden dat het over onbehandelde frass stalen gaat.

De aanwezigheid van insecten ligt voor de meesten stalen onder de maximum waarden. Enkel voor *Locusta migratoria* en *Acheta domesticus* worden grotere percentages aangetroffen, vnl. bij het volumepercentage. Wanneer er gekeken wordt naar de stalen die gezeefd worden door een 3.55 mm draadzeef, zijn alle stalen conform wat betreft massa en volumepercentage insecten. Voor 'delen van insecten' is er dan slechts 1 staal van *Acheta domesticus* dat niet voldoet, dit was te wijten aan de grote hoeveelheid vervellingen die nog in deze stalen aanwezig waren zoals te zien in de foto's in bijlage.

Wat betreft de maximum gehalten aan verontreinigende stoffen voldeden al de stalen aan de maxima volgens VLAREMA-bijlage 2.3.1.A. Dit was in principe te verwachten daar de voeders die gebruikt worden bij de kweek eveneens aan deze normen zouden moeten voldoen en er niet verwacht wordt dat bv. kweekbakken met deze stoffen gecontamineerd zouden zijn indien de correcte hygiënemaatregelen getroffen worden.

4 DEELVRAAG 4: IS DE HUIDIGE VOORGESTELDE VERWERKINGSMETHODE (1U OP 70°C) VAN HET RESTSUBSTRAAT VOLDOENDE OM EVENTUELE RISICO'S TE BEPERKEN?

4.1 INLEIDING

Deze deelvraag werd beperkt tot de microbiële criteria zoals beschreven in de dierlijke bijproductenwetgeving. Momenteel wordt als verwerkingsmethode 70°C gedurende 60 minuten als voorwaarden opgelegd. Door zowel voor als na deze hittebehandeling de aanwezigheid en/of hoeveelheid van *Clostridium perfringens*, *Salmonella* en *Enterobacteriaceae* na te analyseren, kan nagegaan worden wat het effect is van deze verwerkingmethode op bovenstaande micro-organismen.

4.2 MATERIAAL EN METHODEN

De aanwezigheid en/of hoeveelheid van *Salmonella* en *Enterobacteriaceae* werd geanalyseerd voor het onbehandelde en behandelde restsubstraat door LOVAP.

Voor de verschillende insectensoorten werden de stalen van staalname 2 gebruikt waarvoor reeds een microbiële analyse werd uitgevoerd op het onbehandelde restsubstraat. Alvorens de stalen te analyseren werd een deelstaal van 10 of 25 g in een stomacherzak ondergedompeld in een waterbad van 70°C. Gelijktijdig werd een temperatuursonde in een extra stomacherzak ondergedompeld waardoor gemeten kon worden wanneer de stalen gedurende 1u een temperatuur van 70°C behaald hadden. Hierna werden de analyses verder uitgevoerd volgens de procedures beschreven in het compendium voor de monsterneming en analyse, meer bepaald procedure CMA/4/A.

Voor zwarte soldatenvliegen en meelwormen werden telkens 2 extra stalen genomen van de pilot van Thomas More die vervolgens geïnoculeerd werden met *Salmonella typhimurium* (5.2×10^5 cfu/ml) en *E. coli* (Enterobacteriaceae, 4.1×10^4 cfu/ml). Zo werd een *worst case* scenario voorzien.

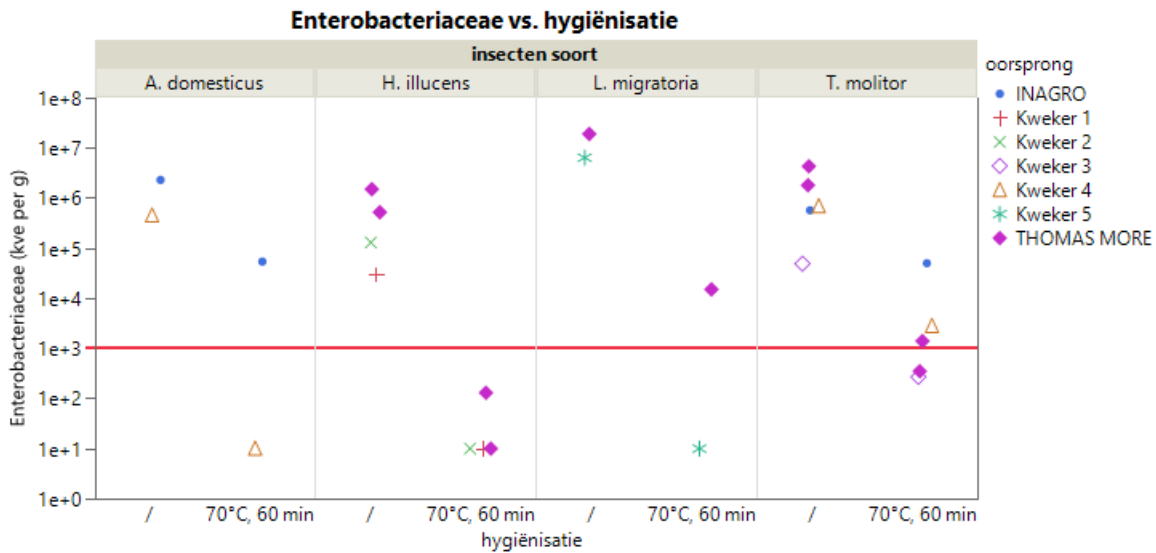
4.3 RESULTATEN

Tabel 8 toont de microbiële analyses van de frass stalen na hittebehandeling van 70°C gedurende 60 minuten. *Salmonella* werd hierbij niet meer teruggevonden in het *H. illucens* staal van de pilotkweek, wat erop wijst dat de hittebehandeling voor dit staal voldoende was om deze pathogeen af te doden.

Tabel 8: microbiële analyses behandelde frass stalen (70°C, 60 min). Kleurcode: conformiteit microbiële criteria cat 2 materiaal voor gebruik als organische meststof of bodemverbeteraar volgens Verordening (EU) nr. 142/2011: groen=conform, rood:=niet conform

oorsprong	insecten soort	<i>Salmonella</i> (in 25 g)	<i>Enterobacteriaceae</i> bij 37°C (per g)	<i>Clostridium perfringens</i> (per g)
THOMAS MORE	<i>H. illucens</i>	niet aangetoond	1.3e2	<10
Kweker 1	<i>H. illucens</i>	niet aangetoond	<10	<10
Kweker 2	<i>H. illucens</i>	niet aangetoond	<10	<10
INAGRO	<i>T. molitor</i>	niet aangetoond	5.0e4	<10
Kweker 3	<i>T. molitor</i>	niet aangetoond	2.7e2	<10
Kweker 4	<i>T. molitor</i>	niet aangetoond	2.8e3	<10
THOMAS MORE	<i>T. molitor</i>	niet aangetoond	3.5e2	<10
Kweker 5	<i>L. migratoria</i>	niet aangetoond	<10	<10
THOMAS MORE	<i>L. migratoria</i>	niet aangetoond	1.5e4	<10
INAGRO	<i>A. domesticus</i>	niet aangetoond	5.4e4	<10
Kweker 4	<i>A. domesticus</i>	niet aangetoond	<10	<10

Na de hittebehandeling van 70°C gedurende 60 min is er een duidelijk afname van de *Enterobacteriaceae* ten opzichte van de onbehandelde stalen. Dit is ook duidelijk te zien in Figuur 9. Hierdoor voldoet de meerderheid van de stalen aan de criteria van max 1000 kve voor *Enterobacteriaceae* volgens Verordening (EU) nr. 142/2011.



Figuur 9: Enterobacteriaceae in onbehandeld en behandeld (70°C, 60 min) frass (rode lijn stelt maximum toegelaten waarden voor).

Tabel 9 toont de microbiële analyses van de geïnoculeerde frass stalen voor en na hittebehandeling van 70°C gedurende 60 minuten. Na inoculatie (voor de hittebehandeling) is *Salmonella* aanwezig in de stalen en is er ook een toename van *Enterobacteriaceae*. Echter *Clostridium* kon niet gedetecteerd worden na inoculatie. Opvallend na de hittebehandeling is er wel een afname van *Enterobacteriaceae*, maar werd *Salmonella* nog steeds gedetecteerd.

Tabel 9: microbiële analyses behandelde en geïnoculeerde frass stalen (70°C, 60 min). Kleurcode: conformiteit microbiële criteria cat 2 materiaal voor gebruik als organische meststof of bodemverbeteraar volgens Verordening (EU) nr. 142/2011: groen=conform, rood:=niet conform

oorsprong	THOMAS MORE	THOMAS MORE	THOMAS MORE	THOMAS MORE
insecten soort	<i>T. molitor</i>	<i>T. molitor</i>	<i>H. illucens</i>	<i>H. illucens</i>
hygiënisatie duur (min)	/	60	/	60
hygiënisatie temperatuur (°C)	/	70	/	70
inoculatie	<i>Salmonella & E.coli</i>	<i>Salmonella & E.coli</i>	<i>Salmonella & E.coli</i>	<i>Salmonella & E.coli</i>
<i>Salmonella</i> (in 25 g)	aangetoond	aangetoond	aangetoond	aangetoond
<i>Enterobacteriaceae</i> bij 37°C (per g)	4.3e6	1.4e3	5.2e5	<10
<i>Clostridium perfringens</i> (per g)	<10	<10	<10	<10

4.4 DISCUSSIE EN BESLUIT

Hittebehandeling van 70°C gedurende 60 min heeft een duidelijk effect op de microbiële counts in frass. In al de stalen was er steeds een duidelijke daling van *Enterobacteriaceae*. Ook bij het *H. illucens* staal gecontamineerd met *Salmonella* werd dit niet meer gedetecteerd na de hittebehandeling. Opmerkelijk, wanneer frass stalen van *T. molitor* en *H. illucens* geïnoculeerd werden met *Salmonella* werd dit na de hittebehandeling wel nog gedetecteerd.

Afdoding van *Salmonella* (en andere micro-organismen) is afhankelijk van verschillende parameters zoals vochtigheid, wateractiviteit, de stam. Zo werd ook in andere studies aangetoond dat *Salmonella* niet altijd volledig afgedood wordt na een hittebehandeling van 1u bij 70°C². Het betreft in deze studie slechts 1 meting waarbij enkel aan- of afwezigheid van *Salmonella* bepaald werd. Daarom zou het aangewezen zijn dit in de toekomst verder te onderzoeken.

² Kim, J.; Diao, J.; Shepherd, M.W.; Singh, R.; Heringa, S.D.; Gong, C.; Jiang, X. Validating thermal inactivation of *Salmonella* spp. in fresh and aged chicken litter. Appl. Environ. Microbiol. 2012, 78, 1302–1307.

5 DEELVRAAG 5: WAT ZIJN DE MINIMAAL VEREISTE VERWERKINGSMETHODES OM DE DIVERSE RISICO'S TE VERMIJDEN?

5.1 INLEIDING

Deze deelvraag werd net zoals deelvraag 4 beperkt tot de microbiële criteria zoals beschreven in de dierlijke bijproductenwetgeving. Momenteel wordt als verwerkingsmethode 70°C gedurende 60 minuten als voorwaarden opgelegd. In deze deelvraag wordt bekeken wat het effect is van onderstaande tijd-temperatuur variaties:

- 30 min 70°C
- 30 min 55°C
- 60 min 70°C
- 60 min 55°C
- 45 min 62,5°C

5.2 MATERIAAL EN METHODEN

De aanwezigheid en/of hoeveelheid van *Salmonella* en *Enterobacteriaceae* werd geanalyseerd voor het onbehandelde en behandelde restsubstraat door LOVAP.

Er werd gewerkt met de stalen van zwarte soldatenvlieg en meelwormen uit staalname 2. Naast de gewone stalen werden telkens 2 extra stalen genomen van de pilot van Thomas More die vervolgens geïnoculeerd werden met *Salmonella* (*S. typhimurium*) (5.2×10^5 cfu/ml), *C. perfringens* en *E. coli* (Enterobacteriaceae, 4.1×10^4 cfu/ml). Zo werd een *worst case* scenario voorzien.

Alvorens de stalen te analyseren werd een deelstaal van 10 of 25 g in een stomacherzak ondergedompeld in een waterbad van de gewenste temperatuur. Gelijktijdig werd een temperatuursonde in een extra stomacherzak ondergedompeld waardoor gemeten kon worden wanneer de stalen gedurende de gewenste tijd de juiste temperatuur behaald hadden. Hierna werden de analyses verder uitgevoerd volgens de procedures beschreven in het compendium voor de monsterneming en analyse, meer bepaald procedure CMA/4/A.

5.3 RESULTATEN

Tabel 10 geeft de resultaten weer van de microbiële analyses voor *T. molitor* frass voor en na hittebehandeling met verschillende temperatuur-tijdvariaties en met of zonder inoculatie van *Salmonella* (*S. typhimurium*) en *E. coli* (Enterobacteriaceae). Voor de Enterobacteriaceae is er steeds een duidelijk daling na de hittebehandeling. Hittebehandeling van 70°C gedurende 30 min is daarbij het efficiëntste. Na inoculatie met *Salmonella* is deze niet meer aanwezig na de hittebehandeling van 30 min & 70° en 30 of 60 min bij 55°C.

Tabel 11 geeft de resultaten weer van de microbiële analyses voor *H. illucens* frass voor en na hittebehandeling met verschillende temperatuur-tijdvariaties en met of zonder inoculatie van *Salmonella* en *E. coli* (Enterobacteriaceae). Voor de Enterobacteriaceae is er steeds een duidelijk daling na de hittebehandeling. Hittebehandeling van 70°C gedurende 30 min is daarbij het efficiëntste net zoals bij frass van *T. molitor*. Na inoculatie met *Salmonella* is deze niet meer aanwezig na de hittebehandeling van 30 min & 70° en 30 of 60 min bij 55°C.

Tabel 10: microbiële analyses geïnoculeerde frass stalen van *T. molitor* na hittebehandeling met verschillende temperatuur en tijd. Kleurcode: conformiteit microbiële criteria cat 2 materiaal voor gebruik als organische meststof of bodemverbeteraar volgens Verordening (EU) nr. 142/2011: groen=conform, rood:=niet

oorsprong	THOMA S MORE	THOMA S MORE	THOMA S MORE	THOMA S MORE	THOMA S MORE	THOMA S MORE	THOMA S MORE	THOMA S MORE	THOMA S MORE	THOMA S MORE
insecten soort	<i>T. molitor</i>	<i>T. molitor</i>	<i>T. molitor</i>	<i>T. molitor</i>	<i>T. molitor</i>	<i>T. molitor</i>	<i>T. molitor</i>	<i>T. molitor</i>	<i>T. molitor</i>	<i>T. molitor</i>
hygiëniseringsduur (min)	/	30	30	60	45	/	30	30	60	45
hygiëniserings temperatuur (°C)	/	70	55	55	62,5	/	70	55	55	62,5
inoculatie	/	/	/	/	/	<i>Salmonella & E. coli</i>	<i>Salmonella & E. coli</i>	<i>Salmonella & E. coli</i>	<i>Salmonella & E. coli</i>	<i>Salmonella & E. coli</i>
Salmonella (in 25 g)	niet aangetoond	niet aangetoond	niet aangetoond	niet aangetoond	niet aangetoond	aangetoond	niet aangetoond	niet aangetoond	niet aangetoond	aangetoond
Enterobacteriaceae bij 37°C (per g)	5.0e6	6.2e4	7.6e5	4.4e5	3.3e6	6.5e6	1.1e3	2.0e6	5.1e5	1.3e6

Tabel 11: microbiële analyses geïnoculeerde frass stalen van *H. illucens* na hittebehandeling met verschillende temperatuur en tijd. Kleurcode: conformiteit microbiële criteria cat 2 materiaal voor gebruik als organische meststof of bodemverbeteraar volgens

oorsprong	THOMA S MORE	THOMA S MORE	THOMA S MORE	THOMA S MORE	THOMA S MORE	THOMA S MORE	THOMA S MORE	THOMA S MORE	THOMA S MORE	THOMA S MORE
insecten soort	<i>H. illucens</i>	<i>H. illucens</i>	<i>H. illucens</i>	<i>H. illucens</i>	<i>H. illucens</i>	<i>H. illucens</i>	<i>H. illucens</i>	<i>H. illucens</i>	<i>H. illucens</i>	<i>H. illucens</i>
hygiënisatie duur (min)	/	30	30	60	45	/	30	30	60	45
hygenisatie temperatuur (°C)	/	70	55	55	62,5	/	70	55	55	62,5
inoculatie	/	/	/	/	/	<i>Salmonella</i> & <i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> & <i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> & <i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> & <i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> & <i>E. coli</i>
<i>Salmonella</i> (in 25 g)	aangetoond	niet aangetoond	niet aangetoond	aangetoond	aangetoond	aangetoond	niet aangetoond	niet aangetoond	aangetoond	niet aangetoond
<i>Enterobacteriaceae</i> bij 37°C (per g)	2.9e6	<10	1.1e5	2.6e3	8.6e5	1.4e6	20	4.3e4	2.0e3	7.3e5

5.4 DISCUSSIE EN BESLUIT

In deze deelvraag werd nagegaan wat het effect zou zijn van kortere tijd-temperatuur variaties dan 60 minuten bij 70°C op de aanwezigheid van *Salmonella* of hoeveelheid *Enterobacteriaceae*. Voor het staal van *H. illucens* bleek hierbij een behandeling van 30 min bij 70°C voldoende om te voldoen aan de voorwaarden van Verordening (EU) nr. 142/2011. Ook voor het staal van *T. molitor* was na een behandeling van 30 min bij 70°C *Salmonella* niet meer aanwezig. De hoeveelheid *Enterobacteriaceae* was hier niet hoger dan toegestaan. De afdoding van de geïnoculeerde *Salmonella* bij een hittebehandeling op 70°C van slechts 30 minuten is tegenstrijdig met de resultaten behaald in deelvraag 4 waar na 60 minuten *Salmonella* wel nog gedetecteerd werd. Wat hiervoor de verklaring zou kunnen zijn werd niet verder onderzocht in deze studie.

ALGEMEEN BESLUIT

In deze studie werd onderzoek gedaan naar frass ook genaamd insectenmest of het restsubstraat van insecten. Er werd onderzoek gedaan naar de samenstelling en de mogelijke risico's van frass van de zwarte soldatenvlieg (*Hermetia illucens*), de meelworm (*Tenebrio molitor*), de huiskrekel (*Acheta domesticus*) en de treksprinkhaan (*Locusta migratoria*). Hierbij lag de focus vnl. op zwarte soldatenvlieg en meelworm. Stalen waren afkomstig van wetenschappelijke pilootinstallaties en professionele kwekers.

Uit de analyses van de samenstelling van frass blijkt dat er heel wat verschillen zijn tussen verschillende insectensoorten en tussen stalen afkomstig van eenzelfde insectensoort maar een andere kweker. Met een gemiddelde N-P-K van 3-3-2 voor frass is dit redelijk in de buurt aan leghennen of moederdierenmest.

Uit de microbiële analyses die uitgevoerd werden in deze studie blijkt dat de voorgestelde hittebehandeling van minimaal 70°C gedurende minimaal 60 minuten voor de meeste frass stalen voldoende was om te voldoen aan de microbiële criteria.

In deze studie werd eveneens een eerste aanzet gegeven voor het opstellen van een procedure om (delen van) insecten te kwantificeren in frass. Frass of insectenmest wordt in de dierlijke bijproducten wetgeving immers gedefinieerd als een mengsel van uitwerpselen van gekweekte insecten, de voedingsbodem, delen van gekweekte insecten en dode eieren, met een maximumgehalte van 5 volumeprocent en 3 gewichtsprocent dode gekweekte insecten". Volgens de analyses die in deze studie werden uitgevoerd voldoen de meeste frass stalen aan deze maximumgehalten.

Deze studie toont aan dat er nog heel wat vragen en onduidelijkheden zijn omtrent het restsubstraat van insecten. Zo moet er meer onderzoek gebeuren naar de microbiële risico's die kunnen voorkomen in frass en het effect van verschillende verwerkingsmethoden (hygiënisatie) hierop. Ook moet er meer duidelijkheid komen over de procedures die gebruikt kunnen worden om het volumeprocent insecten te bepalen in frass.

BIJLAGEN

Bijlage 1: samenstelling frass

Bijlage 2: foto's van verschillende fracties van frass gescheiden obv grootte (OVAM bestek 8278)

Bijlage 3: hoeveelheid 'insecten' of 'delen van insecten' in elke afgezeefde fractie van het restsubstraat

Bijlage 4: voorstel protocol voor volume- en massabepaling van insecten in frass (OVAM bestek 8278)

BIJLAGE 1: SAMENSTELLING FRASS

Tabel 12: De gemeten samenstelling van frass voor de verschillende insecten van de verschillende locaties, Hermetia staal Inagro (1 & 2) op frass van larven gegroeid op 2 verschillende voeders.

insecten soort	oorsprong	pH	Org. C	Ammonium N	Totale N	Ca	Mg	Na	K	P	Droge stof	Org. stof	S
		<i>pH eenheid (1:5 V:V)</i>	<i>kg/1000 kg VM</i>	<i>kg NH3-N/1000 kg VM</i>	<i>kg/1000 kg VM</i>	<i>kg/1000 kg CaO VM</i>	<i>kg/1000 kg MgO VM</i>	<i>kg/1000 kg Na2O VM</i>	<i>kg/1000 kg K2O VM</i>	<i>kg/1000 kg P2O5 VM</i>	<i>kg/1000 kg VM</i>	<i>kg/1000 kg VM</i>	<i>g/1000 kg VM</i>
Tenebrio	Thomas More	7	409	1,6	26	1,8	9,9	0,4	24	33	812	737	2084
Tenebrio	Inagro	6	405	0,7	41	46,6	11,1	2,7	18	25	900	728	4748
Tenebrio	Kweker 1	6	428	0,9	24	1,9	9,8	0,3	24	33	845	770	1891
Tenebrio	Kweker 2	6	433	1,5	35	11,4	11,3	0,9	23	35	875	779	3107
Hermetia	Inagro (1)	8	305	4,2	30	9,6	6,8	6,7	14	34	631	549	4751
Hermetia	Kweker 3	8	239	1,5	20	0,3	8,6	6,7	24	22	517	430	3287
Hermetia	Inagro (2)	7	322	8,8	30	9,7	8,1	6,8	23	41	696	580	5763
Hermetia	Thomas More	7	349	2,6	32	7,8	9,0	4,9	23	32	724	627	4876
Hermetia	Kweker 4	5	258	1,6	17	0,5	2,9	3,2	13	11	513	464	1859
Locusta	Kweker 5	8	345	1,2	20	7,3	5,0	1,1	18	17	693	621	1706
Locusta	Thomas More	7	411	2,2	32	4,3	5,5	0,5	30	18	833	740	2591
Acheta dom.	Inagro	6	449	0,8	30	15,2	4,5	2,5	11	15	887	809	2434
Acheta dom.	Kweker 2	7	390	2,6	55	36,1	9,3	6,4	13	26	834	703	5449

Tabel 13: Historisch gemeten frass samenstelling bij Tenebrio en Hermetia

		AANTAL STALEN	ORG. C <i>kg/1000 kg VM</i>	AMMONIUM N <i>kg NH3-N/1000 kg VM</i>	TOTALE N <i>kg/1000 kg VM</i>	CA <i>kg/1000 kg CaO VM</i>	MG <i>kg/1000 kg MgO VM</i>	NA <i>kg/1000 kg Na2O VM</i>	K <i>kg/1000 kg K2O VM</i>	P <i>kg/1000 kg P2O5 VM</i>	DROGE STOF <i>kg/1000 kg VM</i>	ORG. STOF <i>kg/1000 kg VM</i>	S <i>g/1000 kg VM</i>
TENEBRIO	Gemiddelde	45	420	1,1	31,1	9,2	10,8	1,3	25,2	31,2	874,2	756,4	NA
TENEBRIO	SD	45	17	0,4	9,8	15,2	1,0	1,4	4,4	6,0	24,8	31,1	NA
HERMETIA	Gemiddelde	21	327	1,5	17,2	4,1	5,8	1,9	18,6	20,3	474,1	388,0	NA
HERMETIA	SD	21	109	0,4	6,8	1,8	1,7	1,8	7,7	6,2	74,7	84,2	NA

Tabel 14: De gemiddelde samenstelling van enkele mestsoorten volgens de mestwegwijzer (BDB)










Mestsoort	Droge stof	Org. stof	N	P	K	Mg	Na	Ca
	kg/1000 kg VM	kg/1000 kg VM	kg/1000 kg VM	kg/1000 kg P ₂ O ₅ VM	kg/1000 kg K ₂ O VM	kg/1000 kg mgO VM	kg/1000 kg Na ₂ O VM	kg/1000 kg CaO VM
runderstalmest	242	184	8,5	4	4,8	1,8	1	5
Biggendrijfmest*	63,3	42,7	6,1	3,3	4	1,4	1	2,9
Varkensstalmest	299	230	10,7	9,2	9	3,6	1,6	9,4
Braadkoppenmest	612	5,7	29,5	17,2	22	7,4	3,5	17,6
Leghennenmest	604	434	26,2	21,7	18,5	7,9	2,8	52,2
Moederdierenmest	631	417	23,2	29,5	23,1	9,2	4,7	68,6
Paardenmest	405	339	6,4	2,2	6,3	1,4	0,8	5,4
Champost	358	205	9,1	4,9	8,9	2,6	0,9	30,1
Konijnenmest	365	299	12,5	10,3	9,3	4,3	1,6	10,9

Tabel 15: De gemiddelde samenstelling van enkele dierlijke mestsoorten en compost volgens de resultaten van Inagro












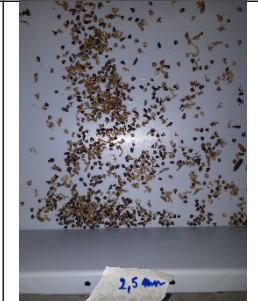
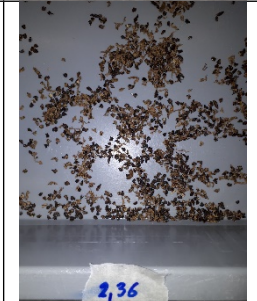





MESTSOORT	DROGE STOF		ORG. STOF		N		P		K	
	kg/1000 kg VM	SD	kg/1000 kg VM	SD	kg/1000 kg VM	SD	kg/1000 kg P ₂ O ₅ VM	SD	kg/1000 kg K ₂ O VM	SD
MESTVARKENSVASTEMEST	295,5	77,7	240,3	55,6	9,0	4,16	9,21	6,80	7,80	0,29
RUNDERENVASTEMEST	259,7	77,4	192,6	71,1	8,0	2,68	3,76	1,77	10,20	3,03
LEGHENMEST	646,2	161,4	462,6	120,7	28,9	6,92	21,19	6,91	9,60	0,42
SLACHTKUIKENMEST	681,4	96,3	589,9	89,3	35,7	5,36	13,53	3,76	23,48	2,64
CHAMPOST	381,6	56,4	227,6	31,1	8,5	1,76	5,05	2,38	8,65	3,43

BIJLAGE 2: FOTO'S VAN VERSCHILLENDE FRACTIES VAN FRASS GESCEIDEN OBV GROOTTE (OVAM BESTEK 8278)

















1. Frass Tenebrio Molitor Thomas More

>3,5 mm	> 3 mm	> 2,5 mm	> 2,36 mm	> 2 mm	> 1,7 mm	> 1 mm	> 500 µm	< 500 µm
								
								



















2. Frass *Hermetia illucens* Thomas More

>3,5 mm	> 3 mm	> 2,5 mm	> 2,36 mm	> 2 mm	> 1,7 mm	> 1 mm	> 500 µm	< 500 µm
								
								








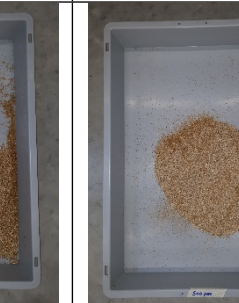
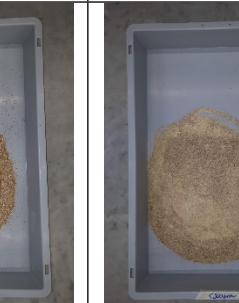



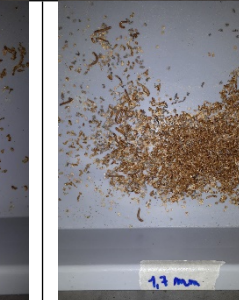



3. Frass *Hermetia illucens* kweker 1

>3,5 mm	> 3 m m	> 2,5 mm	> 2,36 mm	> 2 mm	> 1,7 mm	> 1 mm	> 500 μ m	< 500 μ m
								
								
		2,5 mm	2,36	2 mm	1,7 mm	1 mm	500 μ m	<500 μ m







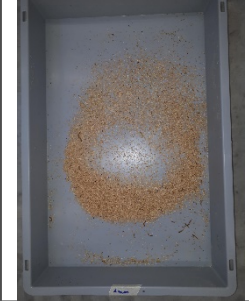




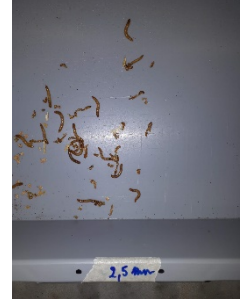






4. Frass *Hermetia illucens* kweker 2

>3,5 mm	> 3 m m	> 2,5 mm	> 2,36 mm	> 2 mm	> 1,7 mm	> 1 mm	> 500 µm	< 500 µm
								
								















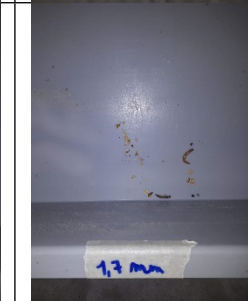
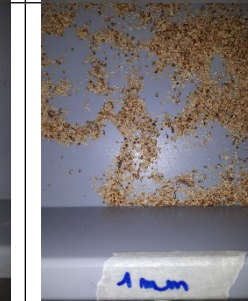


5. Frass Tenebrio Molitor Inagro

>3,5 mm	> 3 mm	> 2,5 mm	> 2,36 mm	> 2 mm	> 1,7 mm	> 1 mm	> 500 µm	< 500 µm
								
								
		2,5 mm	2,36	2 mm	1,7 mm	1 mm	500 µm	<500µm









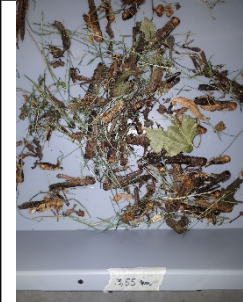



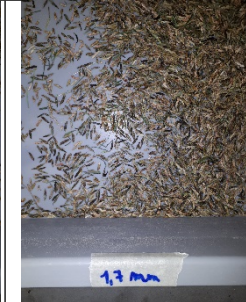



6. Frass Tenebrio Molitor kweker 3

>3,5 mm	> 3 mm	> 2,5 mm	> 2,36 mm	> 2 mm	> 1,7 mm	> 1 mm	> 500 µm	< 500 µm
								
								
















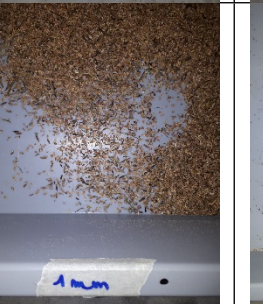


7. Frass Tenebrio Molitor kweker 4

>3,5 mm	> 3 mm	> 2,5 mm	> 2,36 mm	> 2 mm	> 1,7 mm	> 1 mm	> 500 µm	< 500 µm
								
				 <i>2 mm</i>	 <i>1,7 mm</i>	 <i>1 mm</i>	 <i>500 µm</i>	 <i>< 500 µm</i>












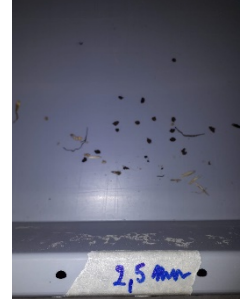






8. Frass Locusta Migratoria Thomas More

>3,5 mm	> 3 m m	> 2,5 mm	> 2,36 mm	> 2 mm	> 1,7 mm	> 1 mm	> 500 µm	< 500 µm
								
								

















9. Frass Locusta Migratoria kweker 5

>3,5 mm	> 3 mm	> 2,5 mm	> 2,36 mm	> 2 mm	> 1,7 mm	> 1 mm	> 500 µm	< 500 µm
								
								

10. Frass Acheta domesticus Inagro

>3,5 mm	> 3 mm	> 2,5 mm	> 2,36 mm	> 2 mm	> 1,7 mm	> 1 mm	> 500 µm	< 500 µm
								
								

11. Frass Acheta domesticus kweker 4

>3,5 mm	> 3 m m	> 2,5 mm	> 2,36 mm	> 2 mm	> 1,7 mm	> 1 mm	> 500 µm	< 500 µm
								
 • 3,55 mm		 • 2,5 mm	 • 2,36	 • 2 mm	 • 1,7 mm	 • 1 mm	 • 500 µm	 • <500 µm

BIJLAGE 3: HOEVEELHEID 'INSECTEN' OF 'DELEN VAN INSECTEN' IN ELKE AFGEZEEFDE FRACTIE VAN HET RESTSUBSTRAAT

Tabel 16: Overzicht van de hoeveelheid 'insecten' of 'delen van insecten' dat teruggevonden werden in elke afgezeefde fractie van het restsubstraat

oorsprong	Thomas More	Kweker 1	Kweker 2	Thomas More	Inagro	Kweker 3	Kweker 4	Thomas More	Kweker 5	Inagro	Kweker 4
insecten soort	<i>Hermetia illucens</i>	<i>Hermetia illucens</i>	<i>Hermetia illucens</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Locusta migratoria</i>	<i>Locusta migratoria</i>	<i>Acheta domesticus</i>	<i>Acheta domesticus</i>
volume staal (ml)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
massa staal (g)	381,6	398,1	421,34	351,85	495,1	367,54	353,51	173,91	171,36	577,8	356,62
volume insecten (ml) > 3,55 mm	0	0	5	0	0	0	0	150	50	0	140
massa insecten (g) > 3,55 mm	0	0,111	1,3665	0	0	0	0	19,4835	2,7186	0	22,2915
volume insecten incl. vervelling & ledematen (ml) > 3,55 mm	0	12	8	0	0	0	0	165	100	0	230
massa insecten incl. vervelling & ledematen (g) > 3,55 mm	0	0,578	2,1965	0	0	0	0	35,4879	4,2093	0	25,4417
volume insecten (ml) 3,55-2,5 mm	1,6	2	20	0	5	4	0	0	0	0	8
massa insecten (g) 3,55-2,5 mm	4,51	0,6841	9,0164	0	1,4291	1,5595	0	0	0	0	1,2886
volume insecten incl. vervelling & ledematen (ml) 3,55-2,5 mm	1,6	14	32	0	5	4	0	2	0	0	70

oorsprong	Thomas More	kweker 1	kweker 2	Thomas More	Inagro	kweker 3	kweker 4	Thomas More	kweker 5	Inagro	kweker 4
insecten soort	<i>Hermetia illucens</i>	<i>Hermetia illucens</i>	<i>Hermetia illucens</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Locusta migratoria</i>	<i>Locusta migratoria</i>	<i>Acheta domesticus</i>	<i>Acheta domesticus</i>
massa insecten incl. vervelling & ledematen (g) 3,55-2,5 mm	4,51	1,8082	12,117	0	1,4291	1,5595	0	1	0,185	0	9,4232
volume insecten (ml) 2,5-2,36 mm	1	0	0	0	6	2	0	0	0	0	0
massa insecten (g) 2,5-2,36 mm	2,366	0	0,233	0	2,1163	0,8974	0	0	0	0	0
volume insecten incl. vervelling & ledematen (ml) 2,5,2,36 mm	1	0	0	0	6	2	0	0	0	0	26
massa insecten incl. vervelling & ledematen (g) 2,5-2,36 mm	2,366	0	0,233	0	2,1163	0,8974	0	0	0	0	3,0211
volume insecten (ml) 2,36-2 mm	3,6	0	0	0	13	3	0	0	0	0	0
massa insecten (g) 2,36-2 mm	1,1827	0	0	0	5,3307	1,1734	0,1258	0	0	0	0
volume insecten incl. vervelling & ledematen (ml) 2,36-2 mm	3,6	0	0	0	13	3	0	0	0	0	32
massa insecten incl. vervelling & ledematen (g) 2,36-2 mm	1,1827	0	0	0	5,3307	1,1734	0,1258	0	0	0,0138	4,518

oorsprong	Thomas More	kweker 1	kweker 2	Thomas More	Inagro	kweker 3	kweker 4	Thomas More	kweker 5	Inagro	kweker 4
insecten soort	<i>Hermetia illucens</i>	<i>Hermetia illucens</i>	<i>Hermetia illucens</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Locusta migratoria</i>	<i>Locusta migratoria</i>	<i>Acheta domesticus</i>	<i>Acheta domesticus</i>
volume insecten (ml) 2-1,7 mm	2,2	0	0	0	7	1	0	0	0	0	0
massa insecten (g) 2-1,7 mm	7,772	0	0,103	0	24.527	0,6406	0,741	0	0	0	0
volume insecten incl. vervelling & ledematen (ml) 2-1,7 mm	2,2	0	0	0	7	1	0	0	0	0	38
massa insecten incl. vervelling & ledematen (g) 2-1,7 mm	7,772	0	0,103	0	25	0,6406	0,741	0	0	0,0153	6,2921
volume insecten (ml) 1,7-1 mm	1	0	0	0	2	1	3	0	0	0	0
massa insecten (g) 1,7-1 mm	3	0	0	0,366	0,4979	0,4092	2	0	0	0	0
volume insecten incl. vervelling & ledematen (ml) 1,7-1 mm	1	0	0	0	2	1	3	0	0	0	0
massa insecten incl. vervelling & ledematen (g) 1,7-1 mm	3	0	0	0,366	0,4979	0,4092	2	0	0	0	0
volume insecten (ml) 1-0,5 mm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
massa insecten (g) 1-0,5 mm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

oorsprong	Thomas More	kweker 1	kweker 2	Thomas More	Inagro	kweker 3	kweker 4	Thomas More	kweker 5	Inagro	kweker 4
insecten soort	<i>Hermetia illucens</i>	<i>Hermetia illucens</i>	<i>Hermetia illucens</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Tenebrio molitor</i>	<i>Locusta migratoria</i>	<i>Locusta migratoria</i>	<i>Acheta domesticus</i>	<i>Acheta domesticus</i>
volume insecten incl. vervelling & ledematen (ml) 1-0,5 mm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
massa insecten incl. vervelling & ledematen (g) 1-0,5 mm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
volume insecten (ml) <0,5 mm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
massa insecten (g) <0,5 mm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
volume insecten incl. vervelling & ledematen (ml) <0,5 mm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
massa insecten incl. vervelling & ledematen (g) <0,5 mm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

BIJLAGE 4: VOORSTEL PROTOCOL VOOR VOLUME- EN MASSABEPALING VAN INSECTEN IN FRASS (OVAM BESTEK 8278)

Voorstel protocol voor volume- en massabepaling van insecten in frass

Benodigheden:

- Minimaal 2 liter materiaal
- Trechter met diameter van 50 mm
- Maatcilinder van 1000 ml met een diameter van 60 mm en een hoogte van 440 mm
- Maatcilinders van 50 ml, 20 ml en 10 ml
- Analytische balans met een nauwkeurigheid van 0.01 g
- Zeven met een diameter van minstens 300 mm en maaswijdte van 3,5 mm > 3 mm > 2,5 mm > 2,36 mm > 2 > 1,7 mm > 1 mm > 500 µm
- Indien beschikbaar: zeefmachine met zeefpan waarop de zeven bevestigd kunnen worden
- 7 opvangbakken waarin het materiaal dat op de zeven blijft liggen kan opgevangen worden (bijvoorbeeld plastic bak van 40*60*7.5 cm)

Procedure:

- Weeg de maatcilinder tot op 0.01 g nauwkeuring
- Vul te maatcilinder met het frass tot 1000 ml, klop geregeld op de zijkant van de maatcilinder tot het volume niet meer veranderd
- Weeg de maatcilinder gevuld met frass tot op 0.01g nauwkeurig
- Breng het staal geleidelijk over op de zeven van grootte naar kleine maaswijdte
- Breng het materiaal dat overblijft op de zeef over in een opvangbak (gelabeld met de maaswijdte)
- Bekijk in elke opvangbak of je insecten ziet (insect = minstens thorax), verzamel deze in een opvangbakje gelabeld 'insecten'
- Bekijk in elke opvangbak of je delen van insecten ziet (vervellingen of ledematen), verzamel deze in een opvangbakje gelabeld 'delen van insecten'
- Weeg de maatcilinders van 50 ml, 20 ml en 10 ml tot op 0.01 g nauwkeuring
- Breng de insecten over in een gepaste maatcilinder van 50 ml, 20 ml of 10 ml. Neem telkens de grootste maatcilinder waarin je het volume nog kan aflezen, indien de insecten onder de onderste maatstreep zitten, neem dan een kleinere maatcilinder. Klop geregeld op de zijkant van de maatcilinder tot het volume niet meer veranderd. Bepaal het volume tot op de nauwkeurigheid van de maatcilinder

- Weeg de maatcilinder gevuld met insecten tot op 0.01g nauwkeurig
- Breng nu de 'delen van insecten' over in een gepaste maatcilinder van 50 ml, 20 ml of 10 ml. Neem telkens de grootste maatcilinder waarin je het volume nog kan aflezen, indien de 'delen van insecten' onder de onderste maatstreep zitten, neem dan een kleinere maatcilinder. Klop geregeld op de zijkant van de maatcilinder tot het volume niet meer veranderd. Bepaal het volume tot op de nauwkeurigheid van de maatcilinder
- Weeg de maatcilinder gevuld met 'delen van insecten' tot op 0.01g nauwkeurig

Berekeningen:

Totaalgewicht 'frass' wordt berekende door het gewicht van de maatcilinder af te trekken van het gewicht van de maatcilinder gevuld met frass:

$$M_{frass} = M_{totaal} - M_{maatcilinder}$$

Met M_{frass} = gewicht frass

M_{totaal} = gewicht maatcilinder gevuld met frass

$M_{maatcilinder}$ = gewicht maatcilinder

Totaalgewicht 'insecten' wordt berekende door het gewicht van de maatcilinder af te trekken van het gewicht van de maatcilinder gevuld met 'insecten':

$$M'_{insecten} = M_{totaal} - M_{maatcilinder}$$

Met $M'_{insecten}$ = gewicht 'insecten'

M_{totaal} = gewicht maatcilinder gevuld met 'insecten'

$M_{maatcilinder}$ = gewicht maatcilinder

Totaalgewicht 'delen van insecten' wordt berekende door het gewicht van de maatcilinder af te trekken van het gewicht van de maatcilinder gevuld met 'delen van insecten':

$$M'_{delen\ van\ insecten} = M_{totaal} - M_{maatcilinder}$$

Met $M'_{delen\ van\ insecten}$ = gewicht 'delen van insecten' in g

M_{totaal} = gewicht maatcilinder gevuld met 'delen van insecten' in g

$M_{maatcilinder}$ = gewicht maatcilinder in g

Het **massapercentage insecten** wordt berekend met volgende formule:

$$Massapercentage\ insecten\ (\%) = \frac{M'_{insecten}}{M_{frass}} * 100\%$$

Met M_{frass} = totaalgewicht frass in g

M'insecten' = totaalgewicht 'insecten' in g

Het **volumepercentage insecten** wordt berekend met volgende formule:

$$\text{Volumepercentage insecten (\%)} = \frac{V'insecten'}{Vfrass} * 100\%$$

Met Vfrass = totaalvolume frass in ml

V'insecten' = totaalvolume 'insecten' in ml