



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI
DI MILANO

Insects reared on selected/enriched substrates for designing feed specialties

Matteo Ottoboni




Ministero degli Affari Esteri
e della Cooperazione Internazionale



Innovative protein source?

DRIED *HERMETIA ILLUCENS* LARVAE MEAL AS A SUPPLEMENT FOR SWINE

G. L. Newton, C. V. Booram, R. W. Barker and O. M. Hale¹

Coastal Plain Experiment Station, Tifton, GA 31794

SUMMARY

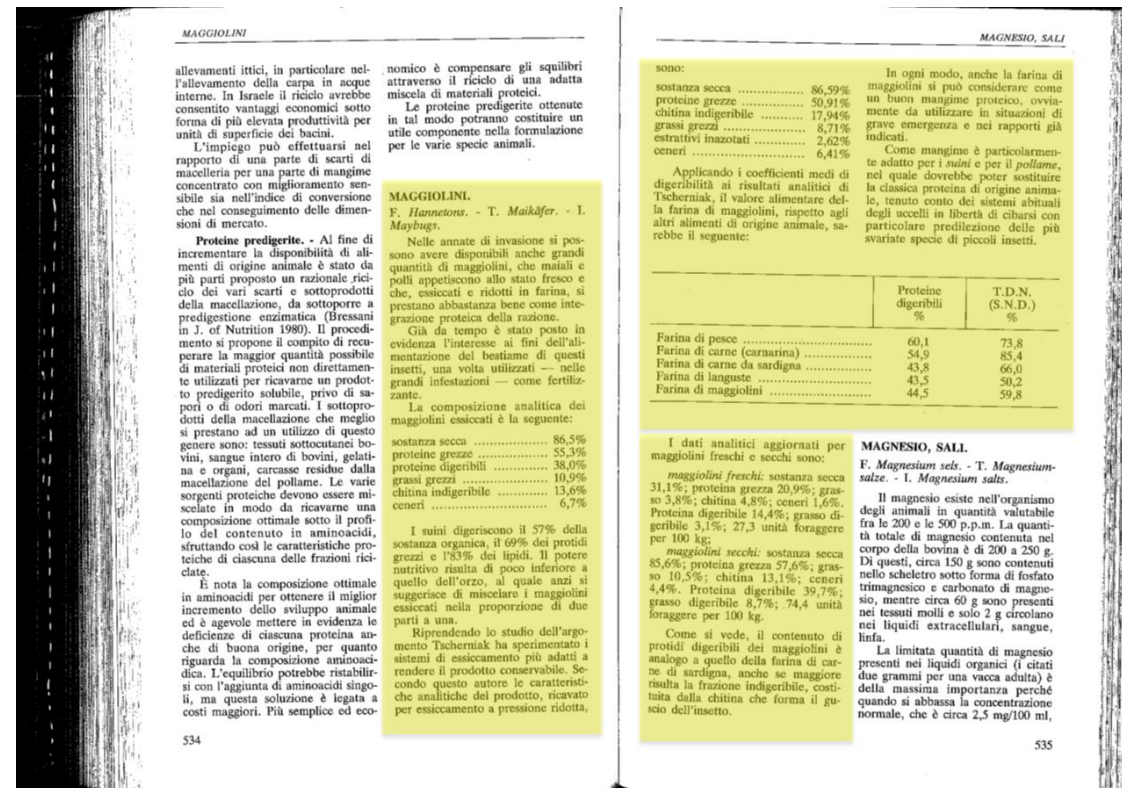
A digestion trial and a palatability trial were conducted to evaluate dried, ground soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae as a dietary supplement for swine. After processing, the larvae, which were collected from cattle feces and urine slurry, contained 42% crude protein, 35% ether extract and 5% calcium. Two diets were formulated to contain 20% crude protein and 13% ether extract using either the larvae meal or soybean meal plus stabilized brown grease. These diets were fed to six barrow pigs in a replicated 2 x 2 latin square design digestion

(1974) have reported on the nutritive content and feeding value of dried house fly pupae (*Musca domestica*). Hale (1973) reported on the inclusion of dried soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) in a diet for chicks. Both species contain high quality protein which will support normal growth in chicks. E. W. King (*personal communication*) has evaluated the nutritive value of face fly larvae (*Musca autumnalis*).

Although soldier fly larvae contain only about 70% as much protein as house fly pupae, they contain about 265% as much fat, and would appear to offer some promise for the

Newton et al., 1977

M. Piccioni - DIZIONARIO DEGLI ALIMENTI PER IL BESTIAME 5^a edizione. EDAGRICOLE, Marzo 1989



MAGGIOLINI

allevamenti ittici, in particolare nell'allevamento della carpa in acque interne. In Israele il riciclo avrebbe consentito vantaggi economici sotto forma di più elevata produttività per unità di superficie dei bacini.

L'impiego può effettuarsi nel rapporto di una parte di scarti di macelleria per una parte di mangime concentrato con miglioramento sensibile sia nell'indice di conversione che nel conseguimento delle dimensioni di mercato.

Proteine predigerite. - Al fine di incrementare la disponibilità di alimenti di origine animale è stato da più parti proposto un razionale riciclo dei vari scarti e sottoprodotti della macellazione, da sottoporre a predigestione enzimatica (Bressani in J. of Nutrition 1980). Il procedimento si propone il compito di recuperare la maggior quantità possibile di materiali proteici non direttamente utilizzabili per ricavarne un prodotto predigerito solubile, privo di sapori o di odori marcati. I sottoprodotti della macellazione che meglio si prestano ad un utilizzo di questo genere sono: tessuti sottocutanei bovini, sangue intero di bovini, gelatina e organi, carcasse residue dalla macellazione del pollame. Le varie sorgenti proteiche devono essere miscelate in modo da ricavarne una composizione ottimale sotto il profilo del contenuto in aminoacidi, sfruttando così le caratteristiche proteiche di ciascuna delle frazioni riciclate.

È nota la composizione ottimale in aminoacidi per ottenere il miglior incremento dello sviluppo animale ed è agevole mettere in evidenza le deficienze di ciascuna proteina anche di buona origine, per quanto riguarda la composizione aminoacidica. L'equilibrio potrebbe ristabilirsi con l'aggiunta di aminoacidi singoli, ma questa soluzione è legata a costi maggiori. Più semplice ed economico è compensare gli squilibri attraverso il riciclo di una adatta miscela di materiali proteici.

Le proteine predigerite ottenute in tal modo potranno costituire un utile componente nella formulazione per le varie specie animali.

nomico è compensare gli squilibri attraverso il riciclo di una adatta miscela di materiali proteici. Le proteine predigerite ottenute in tal modo potranno costituire un utile componente nella formulazione per le varie specie animali.

MAGGIOLINI.

F. Hannelons. - T. Maikäfer. - I. Mayburr.

Nelle annate di invasione si possono avere disponibili anche grandi quantità di maggiolini, che maiali e polli appetiscono allo stato fresco e che, essiccati e ridotti in farina, si prestano abbastanza bene come integrazione proteica della razione.

Già da tempo è stato posto in evidenza l'interesse ai fini dell'alimentazione del bestiame di questi insetti, una volta utilizzati — nelle grandi infestazioni — come fertilizzante.

La composizione analitica dei maggiolini essiccati è la seguente:

sostanza secca	86,59%
proteine grezze	50,91%
grassi grezzi	17,94%
chitina indigeribile	8,71%
cenere	2,62%
cenere	6,41%

I dati analitici aggiornati per maggiolini freschi e secchi sono:
maggiolini freschi: sostanza secca 31,1%; proteina grezza 20,9%; grasso 3,8%; chitina 4,8%; cenere 1,6%. Proteina digeribile 14,4%; grasso digeribile 3,1%; 27,3 unità foraggiere per 100 kg;
maggiolini secchi: sostanza secca 85,6%; proteina grezza 57,6%; grasso 10,5%; chitina 13,1%; cenere 4,4%. Proteina digeribile 39,7%; grasso digeribile 8,7%; 74,4 unità foraggiere per 100 kg.

I suini digeriscono il 57% della sostanza organica, il 69% dei protidi grezzi e l'83% dei lipidi. Il potere nutritivo risulta di poco inferiore a quello dell'orzo, al quale anzi si suggerisce di miscelare i maggiolini essiccati nella proporzione di due parti a una.

Riprendendo lo studio dell'argomento Tschermak ha sperimentato i sistemi di essiccamento più adatti a rendere il prodotto conservabile. Secondo questo autore le caratteristiche analitiche del prodotto, ricavato per essiccamento a pressione ridotta,

MAGNESIO, SALI

In ogni modo, anche la farina di maggiolini si può considerare come un buon mangime proteico, ovviamente da utilizzare in situazioni di grave emergenza e nei rapporti già indicati.

Come mangime è particolarmente adatto per i suini e per il pollame, nel quale dovrebbe poter sostituire la classica proteina di origine animale, tenuto conto dei sistemi abituali degli uccelli in libertà di cibarsi con particolare predilezione delle più svariate specie di piccoli insetti.

	Proteine digeribili %	T.D.N. (S.N.D.) %
Farina di pesce	60,1	73,8
Farina di carne (carriatina)	54,9	85,4
Farina di carne da sardigna	43,8	66,0
Farina di languste	43,5	50,2
Farina di maggiolini	44,5	59,8

Applicando i coefficienti medi di digeribilità ai risultati analitici di Tschermak, il valore alimentare della farina di maggiolini, rispetto agli altri alimenti di origine animale, sarebbe il seguente:

Il magnesio esiste nell'organismo degli animali in quantità valutabile fra le 200 e le 500 p.p.m. La quantità totale di magnesio contenuta nel corpo della bovina è di 200 a 250 g. Di questi, circa 150 g sono contenuti nello scheletro sotto forma di fosfato trimagnesico e carbonato di magnesio, mentre circa 60 g sono presenti nei tessuti molli e solo 2 g circolano nei liquidi extracellulari, sangue, linfa.

La limitata quantità di magnesio presenti nei liquidi organici (i citati due grammi per una vacca adulta) è della massima importanza perché quando si abbassa la concentrazione normale, che è circa 2,5 mg/100 ml,

MAGNESIO, SALI.
F. Magnesium sels. - T. Magnesiumsalze. - I. Magnesium salts.

Il magnesio esiste nell'organismo degli animali in quantità valutabile fra le 200 e le 500 p.p.m. La quantità totale di magnesio contenuta nel corpo della bovina è di 200 a 250 g. Di questi, circa 150 g sono contenuti nello scheletro sotto forma di fosfato trimagnesico e carbonato di magnesio, mentre circa 60 g sono presenti nei tessuti molli e solo 2 g circolano nei liquidi extracellulari, sangue, linfa.

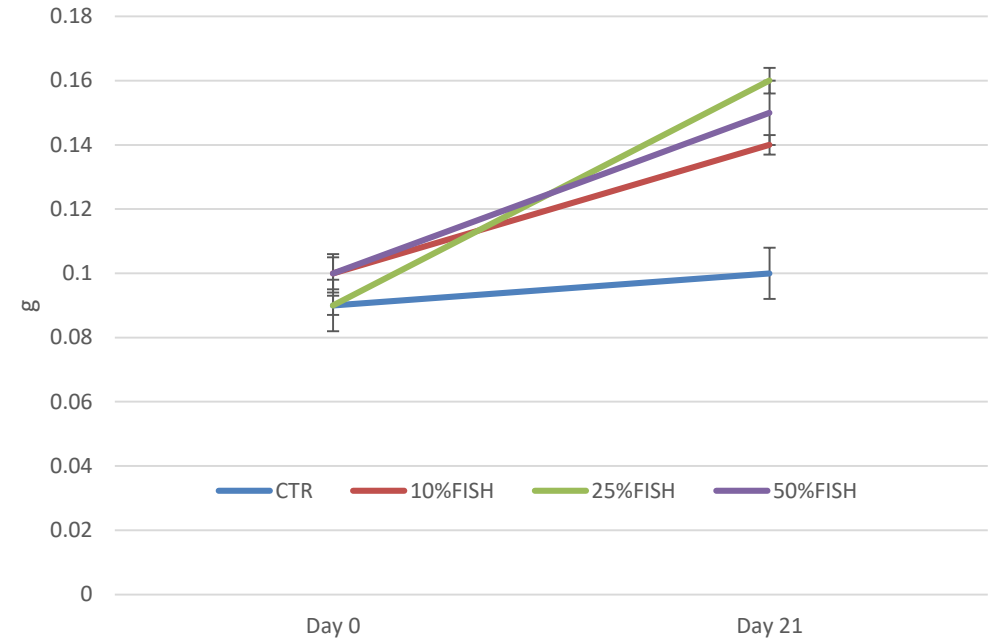
La limitata quantità di magnesio presenti nei liquidi organici (i citati due grammi per una vacca adulta) è della massima importanza perché quando si abbassa la concentrazione normale, che è circa 2,5 mg/100 ml,



BSF enriched in essential fatty acids (St-Hilaire et al., 2007)

BSF larvae fed

- CTR manure only
- 10% fish offal, 90% cow manure
- 25% fish offal, 75% cow manure,
- And 50% fish offal, 50% cow manure



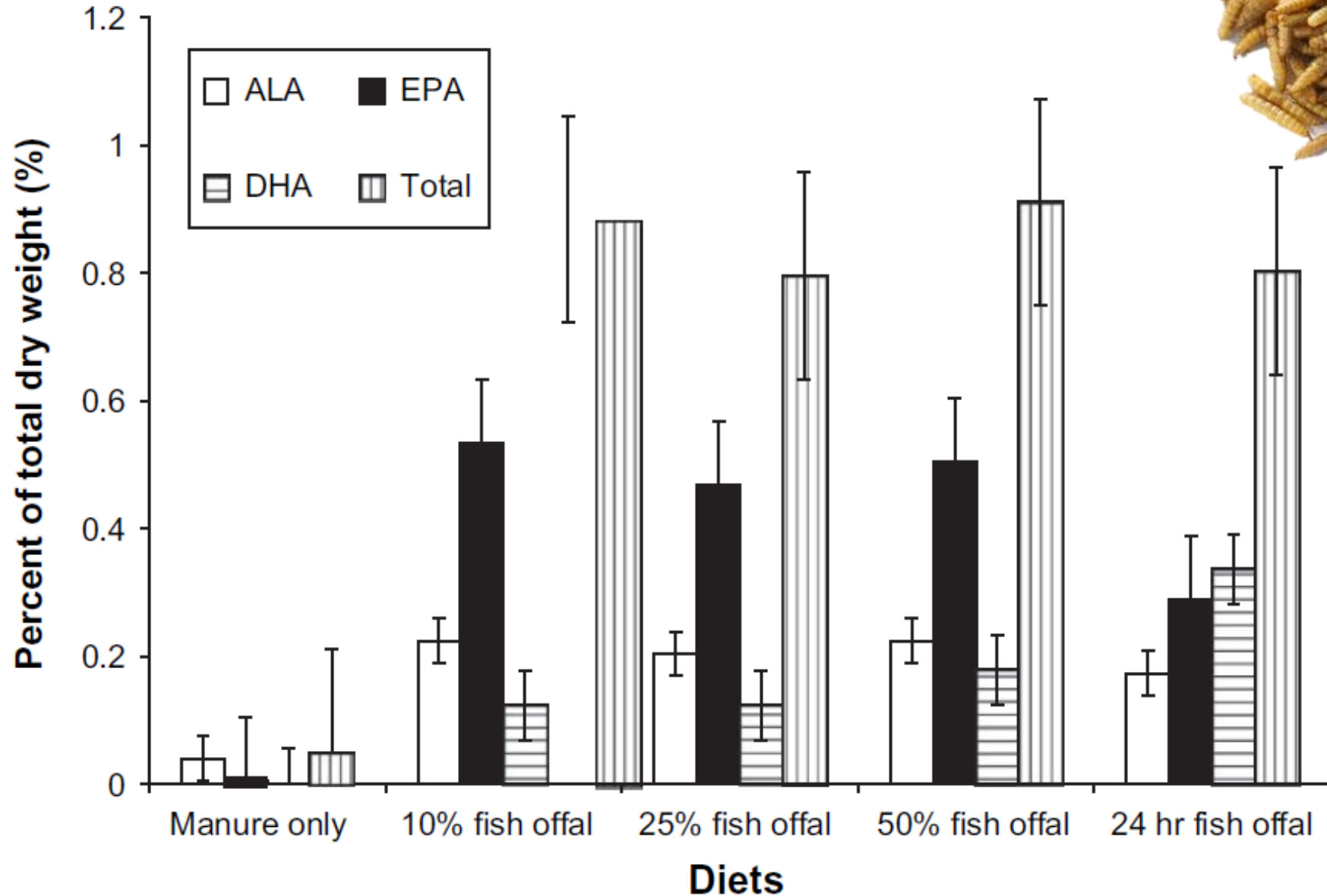
CTR



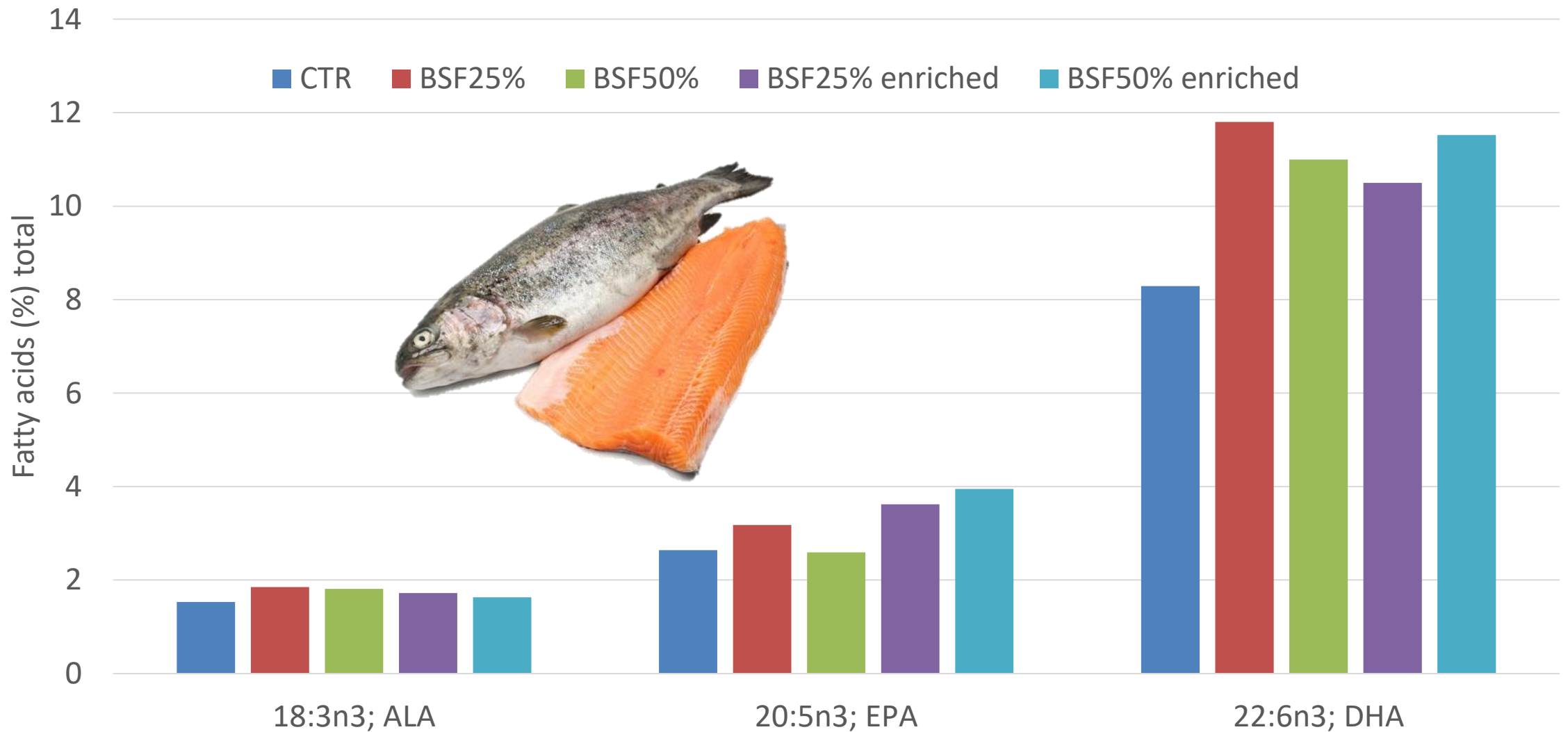
TRT



BSF enriched in essential fatty acids (St-Hilaire et al., 2007)



Rainbow trout fed enriched BSF (St-Hilaire et al., 2007)



Insects potential

Universit  degli Studi di Milano x CNN Bugs: The food that can feed, an x +

edition.cnn.com/2019/10/25/healthy/insects-feed-save-planet-wellness/index.html

CNN health Life, But Better Fitness Food Sleep Mindfulness Relationships

And many of those are packed with good-for-you vitamins, minerals, fat and protein. In fact, insects are often considered delicacies.

Queen termites, for example, are so nutritionally dense that they are fed to undernourished children in Uganda and Zambia.

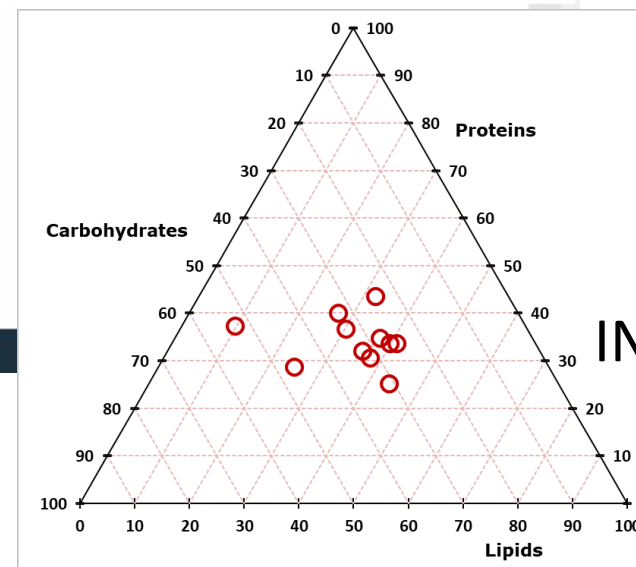
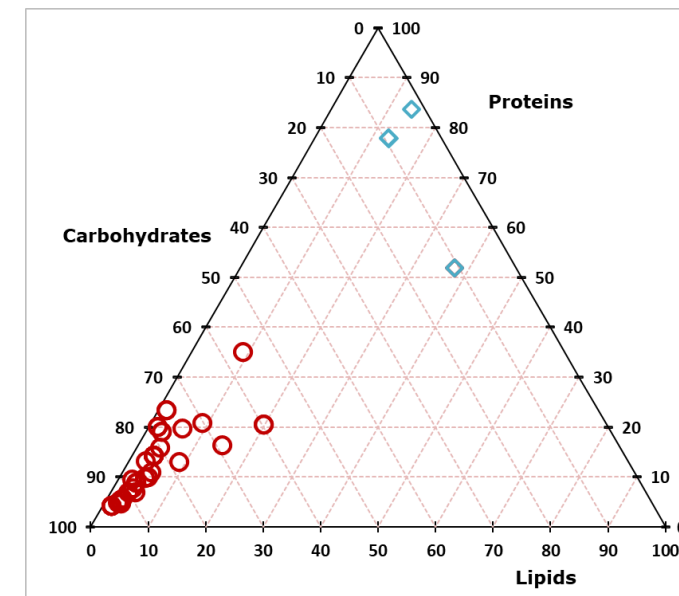
Consider those mealworms you had instead of bacon at our imaginary breakfast. They have higher unsaturated omega-3 levels than fish, as well as the same protein, vitamin and mineral content.

The cricket protein in the toast you hypothetically enjoyed is said to be a "complete protein" just like fish, meat, dairy and eggs. Complete proteins contain all nine essential amino acids needed to build and repair protein tissues in the body. We don't naturally make those essential amino acids, so we must get them through our diet.

In addition, each insect delivers an enormous punch of protein for its size.

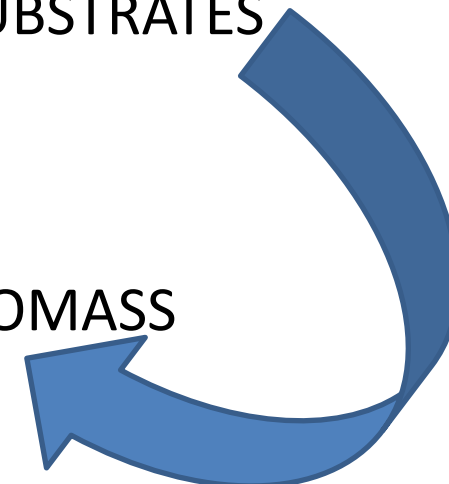
Take the mopane caterpillar, one of the most highly prized and devoured insects in the world. One mopane worm, as they are called, provides between 48% to 61% of protein, and is a source of calcium, zinc and iron.

Then there's the fat content: 16% to 20% of the mopane worm is fat, of which 40% is essential fatty acids. The fat can add a creaminess to recipes (remember your future breakfast eggs?).



SUBSTRATES

INSECT BIOMASS



Pinotti L, and Ottoboni M.

Journal of Insects as Food and Feed, 2021; 7(5): 585-596

Bio-accumulation potential: pros/cons

Significant bioaccumulation of Cd and Pb was observed in the larvae.

Purschke et al., 2017; Pinotti & Ottoboni, 2021

	Control (mg kg ⁻¹)	HM (mg kg ⁻¹)
Chrome	0.064 ± 0.01	3.4 ± 0.5
Nickel	0.048 ± 0.007	4.2 ± 0.6
Arsenic	< LOQ of 0.024	2.8 ± 0.4
Cadmium	0.048 ± 0.007	13.7 ± 2.1
Mercury	< LOQ of 0.012	0.1 ± 0.03
Lead	0.032 ± 0.005	35.6 ± 5.3



Bio-accumulation Factors:

Cadmium: >9

Lead: > 2



Can we reverse this feature for fortifying insect biomass with important nutrients/trace-elements

Methods of improving Se intake

- ❑ Selenium enriched fertilizers
 - ❑ Dietary supplements
 - ❑ Enrichment of animals diets
-
- Selenium supplements primarily in two forms
 - Inorganic forms (Sodium Selenite [Na_2SeO_3] or selenate [Na_2SeO_4]) (SS)
 - Organic forms (selenoyeasts [SY] – SeMet)

Se supplementation in animal nutrition

SCIENTIFIC OPINION



ADOPTED: 8 March 2016

PUBLISHED: 30 March 2016

doi:10.2903/j.efsa.2016.4442

Safety and efficacy of selenium compounds (E8) as feed additives for all animal species: sodium selenite, based on a dossier submitted by Todini and Co SpA

EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP)



European Food Safety Authority

EFSA Journal 2012;10(7):2778

SCIENTIFIC OPINION

Scientific Opinion on safety and efficacy of selenium in the form of organic compounds produced by the selenium-enriched yeast *Saccharomyces cerevisiae* NCYC R646 (Selemax 1000/2000) as feed additive for all species^{1,2}

EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP)^{3,4}

European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy



European Food Safety Authority

EFSA Journal 2013;11(5):3219

SCIENTIFIC OPINION

Scientific Opinion on the safety and efficacy of L-selenomethionine as feed additive for all animal species¹

EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP)^{2,3}

European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy



European Food Safety Authority

EFSA Journal 2011;9(4):2110

SCIENTIFIC OPINION


Scientific Opinion on Safety and efficacy of Sel-Plex[®] (organic form of selenium produced by *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3060) for all species¹

EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP)^{2,3}

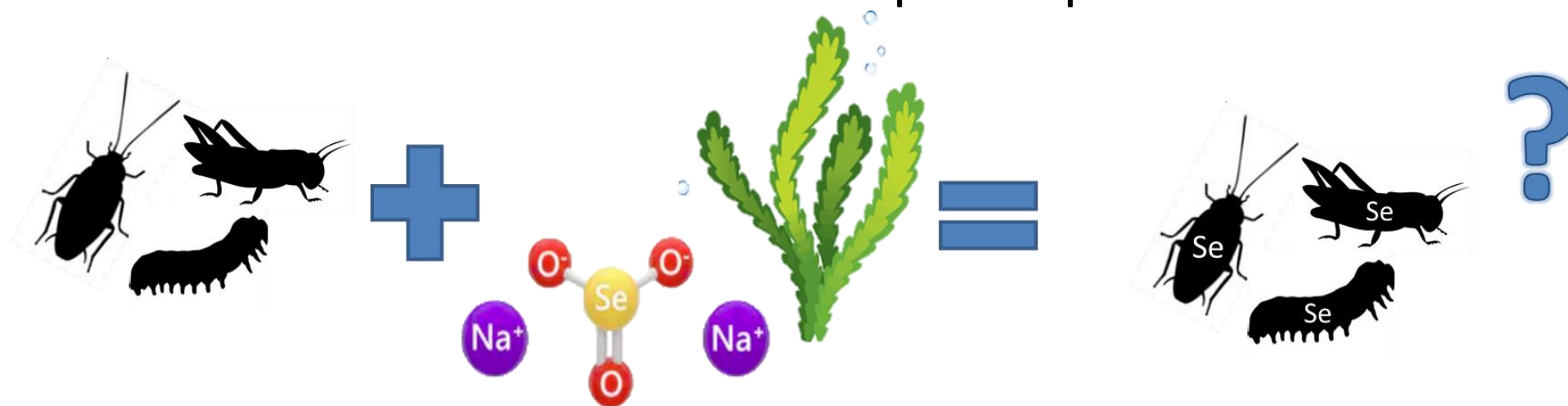
European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy

This scientific output, published on 26 May 2014, replaces the earlier version published on 5 April 2011.⁴


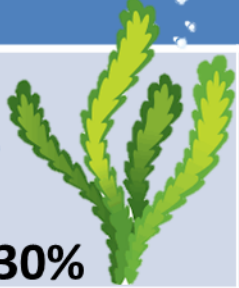
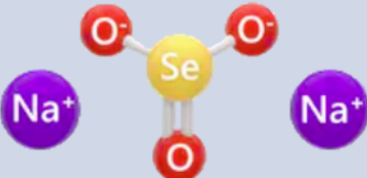
Biofortification of selenium in black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on seaweed or selenium enriched substrates

L. Ferrari¹, V. Sele², M. Silva², P. Bonilauri³, F. De Filippo³, F. Selmin⁴, R. Ørnsrud², L. Pinotti¹  and M. Ottoboni¹

- i) the nutritional composition of the deriving prepupae
- ii) the evaluation of **selenium bioaccumulation** capacity of *Hermetia illucens* in order to create **fortified insect flours** for specific feed purposes and
- iii) ii) the investigation of **selenium speciation** applying an ICP-MS/HPLC-ICMS method to evaluate selenium species present in insect meals.

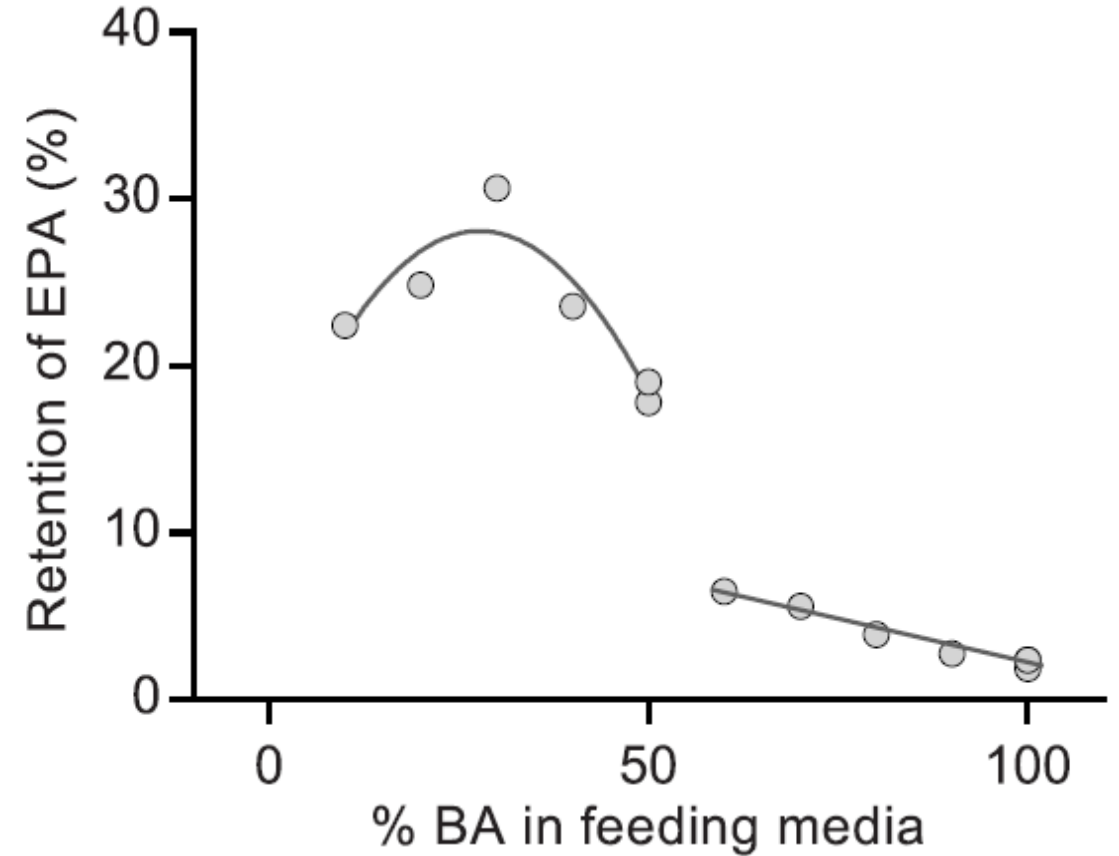
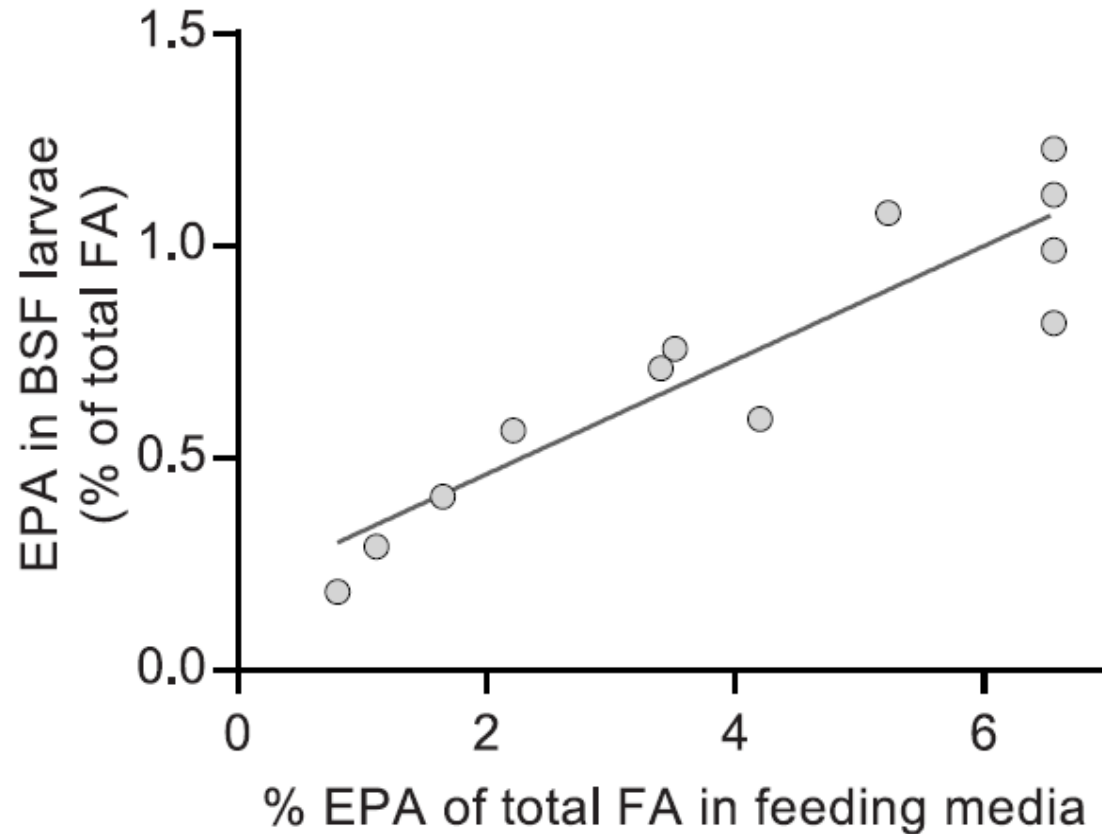


Material and methods

Constituent	Amount (% on as is basis)		
	Gainesville diet (Högsette, 1992)  CTR	 Algae30%	 Selenium
Alfalfa meal	30	-	30
<i>Ascophyllum nodosum</i> meal	-	30	-
Wheat bran	50	50	50
Corn meal	20	20	20
Selenium (mg·kg ⁻¹)*	-	-	0.3

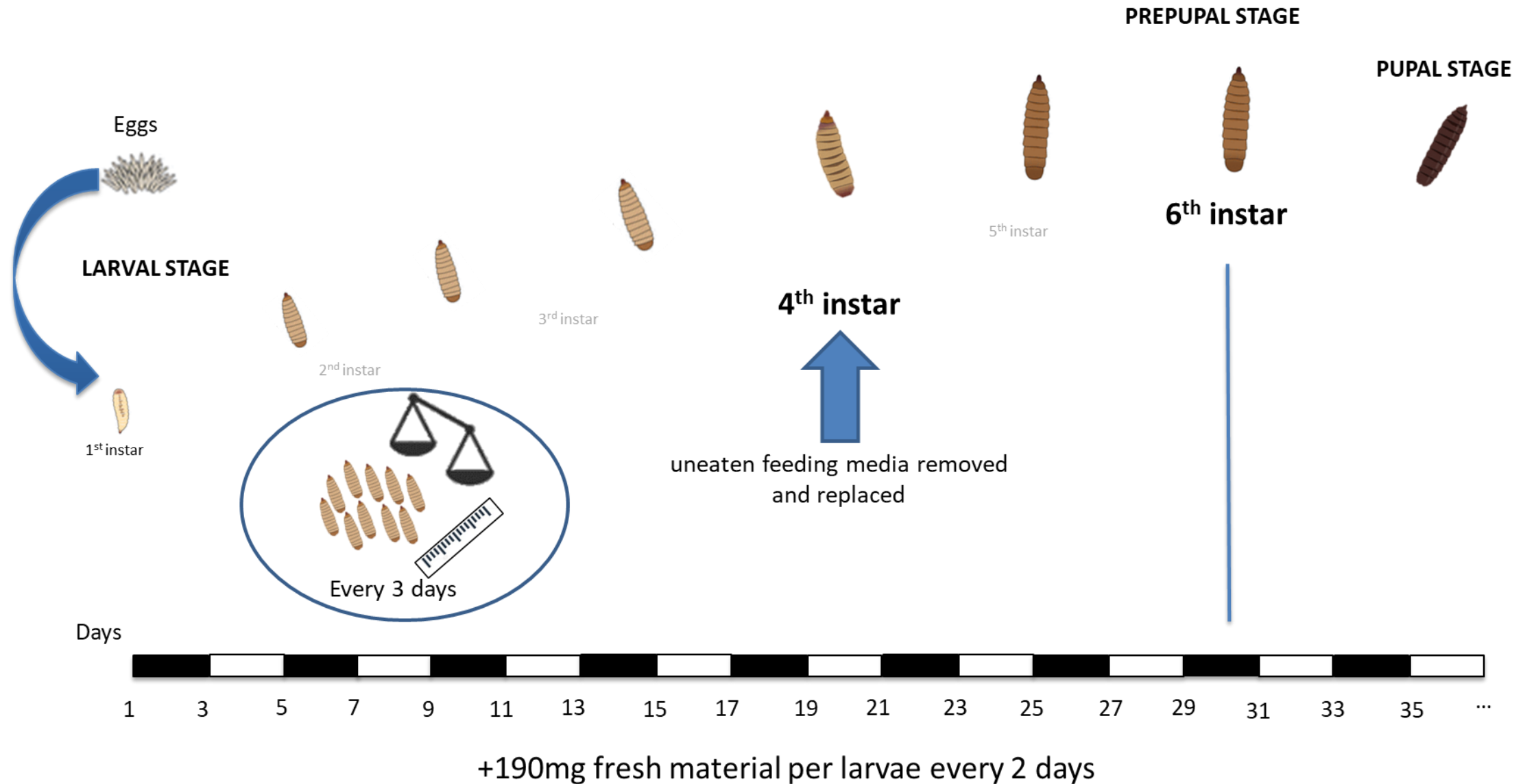
*Provided by 13.4mg·kg⁻¹ of powdered selenium feed grade 2.25%, GAMMA CHIMICA S.p.A., Italy

EPA concentration and retention in BSF



The concentration of eicosapentaenoic acid EPA in the black soldier fly larvae increased with increased concentrations of EPA in the feeding media, but the retention of EPA decreased dramatically with inclusion of more than 50% brown algae (BA) in the feeding media (Liland et al., 2017)

Material and methods



Material and methods

REARING CONDITION DETAILS



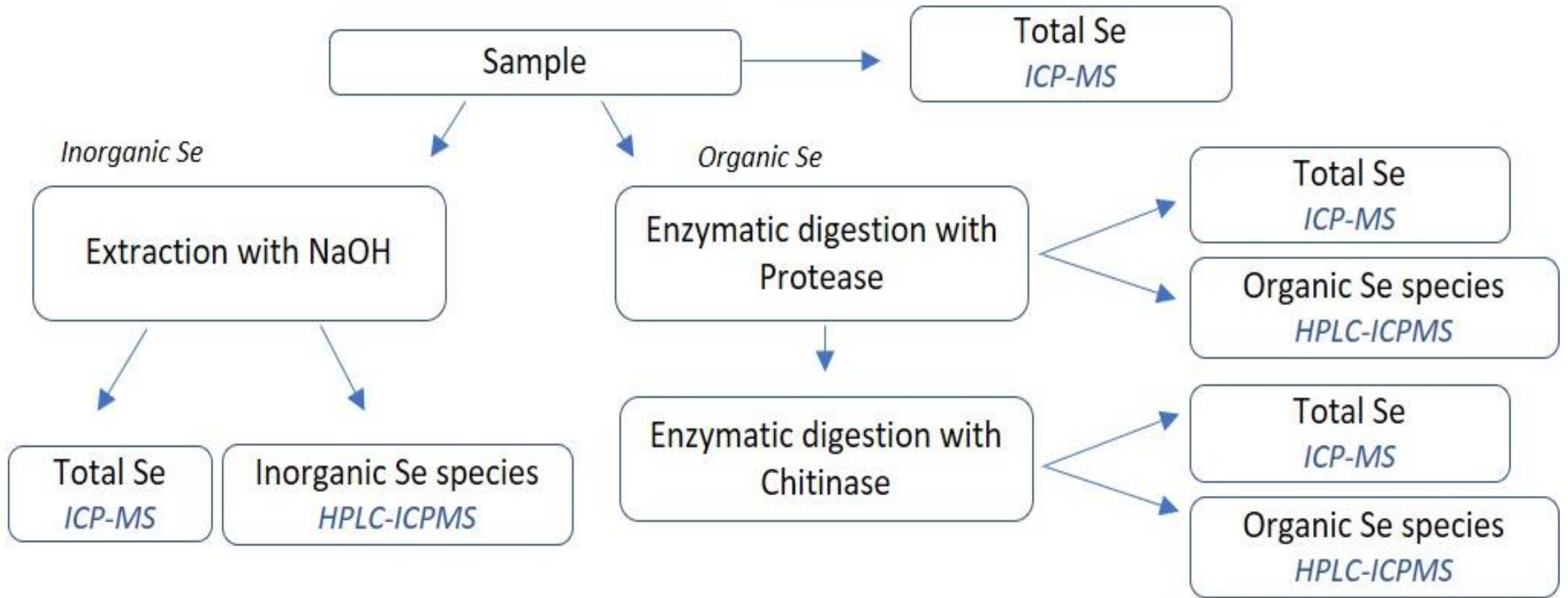
- 300 BSF larvae per experimental unit
- Feeding regime: 190mg fresh material per larvae every 2 days, until they reached the 4th instar.
- At 4th instar, uneaten feeding media was removed and replaced as described above until larvae reached the 6th instar
- Each treatment was tested in three experimental units

Materials and methods

ANALYSIS AND DATA RECORDED

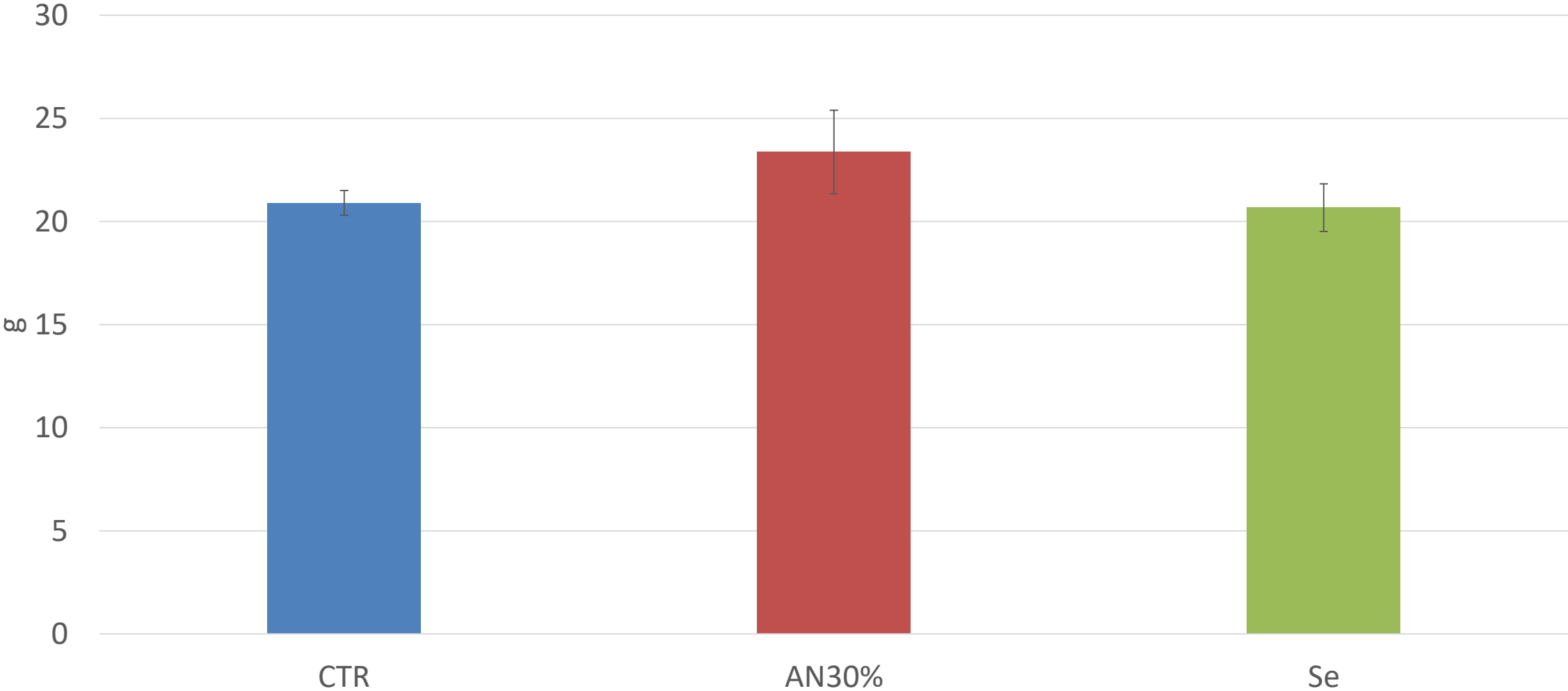
- Deriving prepupae were analyzed for
 - Proximate analysis of rearing substrate and deriving prepupae
 - Total insect biomass produced
 - Fatty acid composition
 - Selenium concentrations and selenium species.
 - Total Se in the soluble alkaline extract for **inorganic selenium** and **soluble protease** and **soluble chitinase** extracts for organic selenium

Selenium determinations

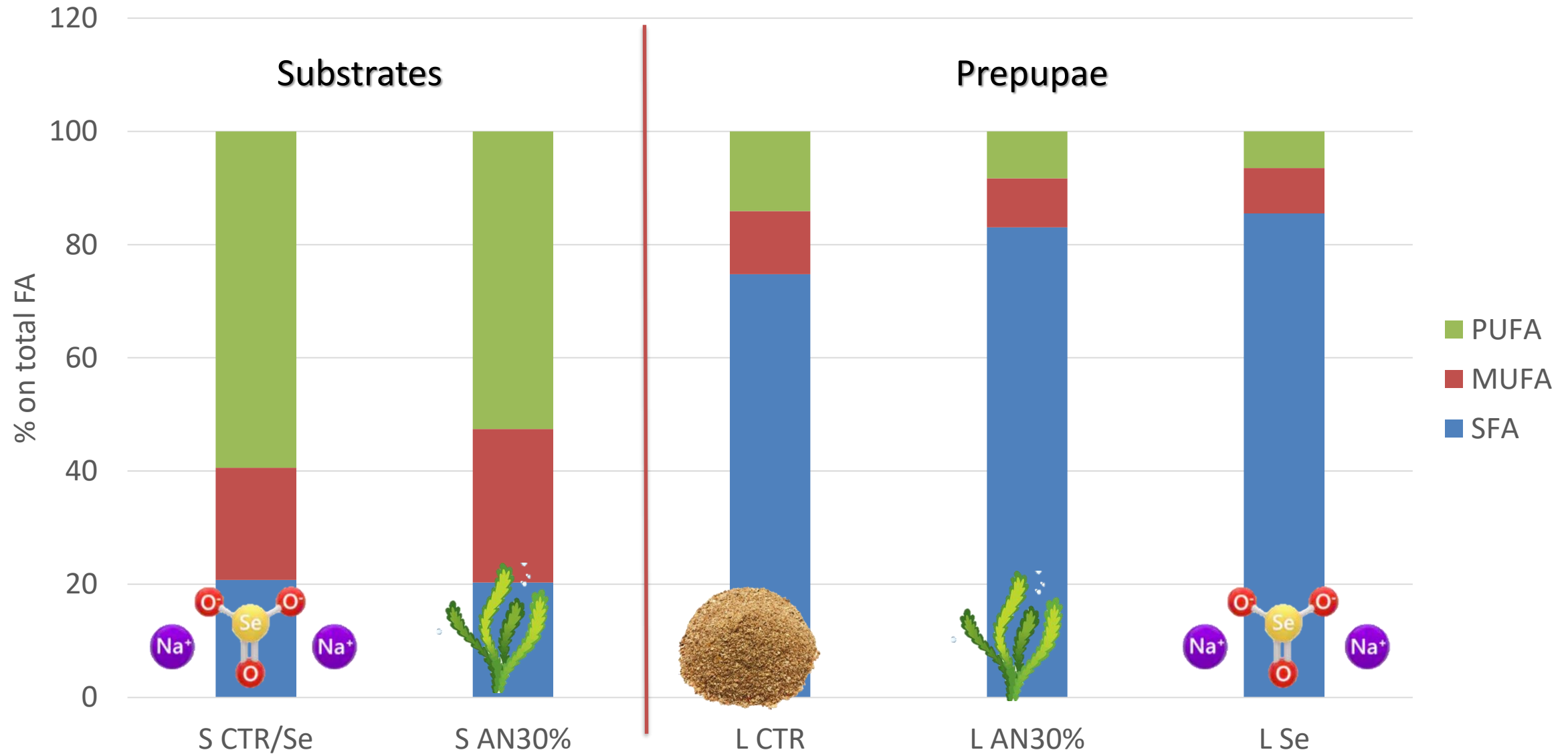


Results and discussion

Biomass yield from 300 larvae



Results and discussion



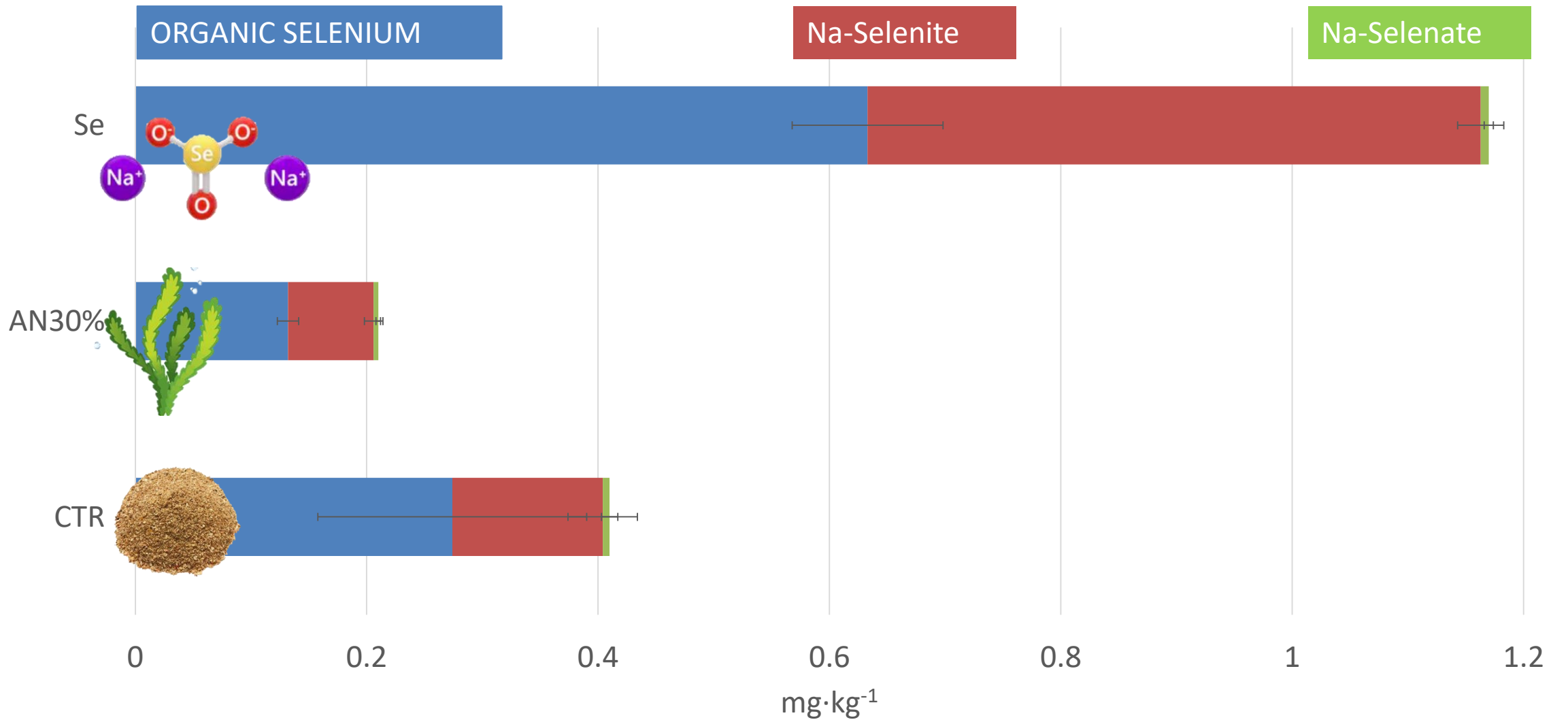
Take home message

- Seaweeds and selenium are able to affect BSF larvae composition in term of **fatty acid profile**.
- All, seaweed and selenium prepupae contained a high level of saturated fatty acids.
- However, further investigation are required for optimizing BSF meal production for specific feed or food purposes

Total Selenium in BSF

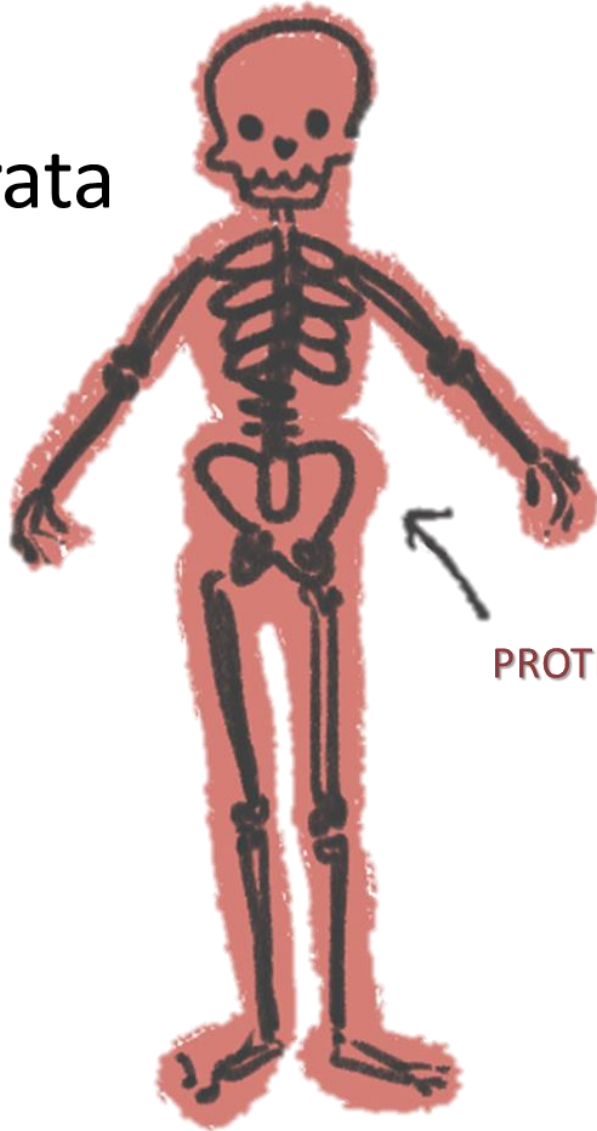


Selenium speciation

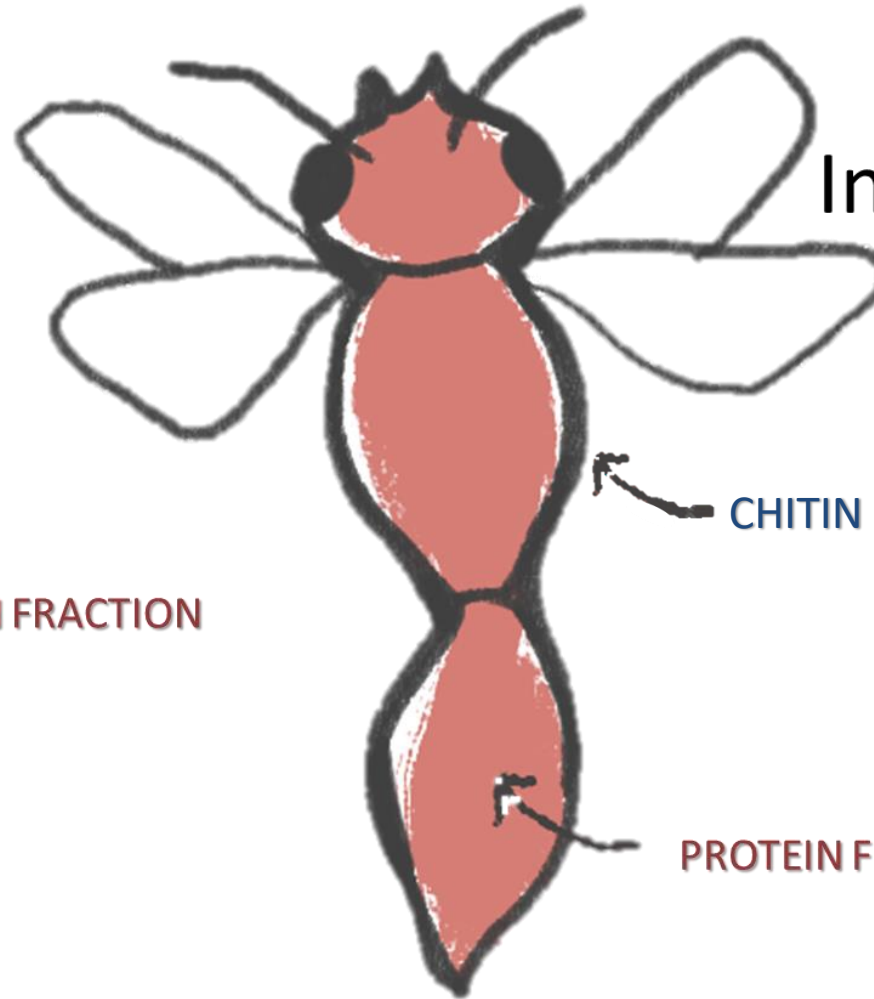


How are tissues organized in insects?

Vertebrata



PROTEIN FRACTION

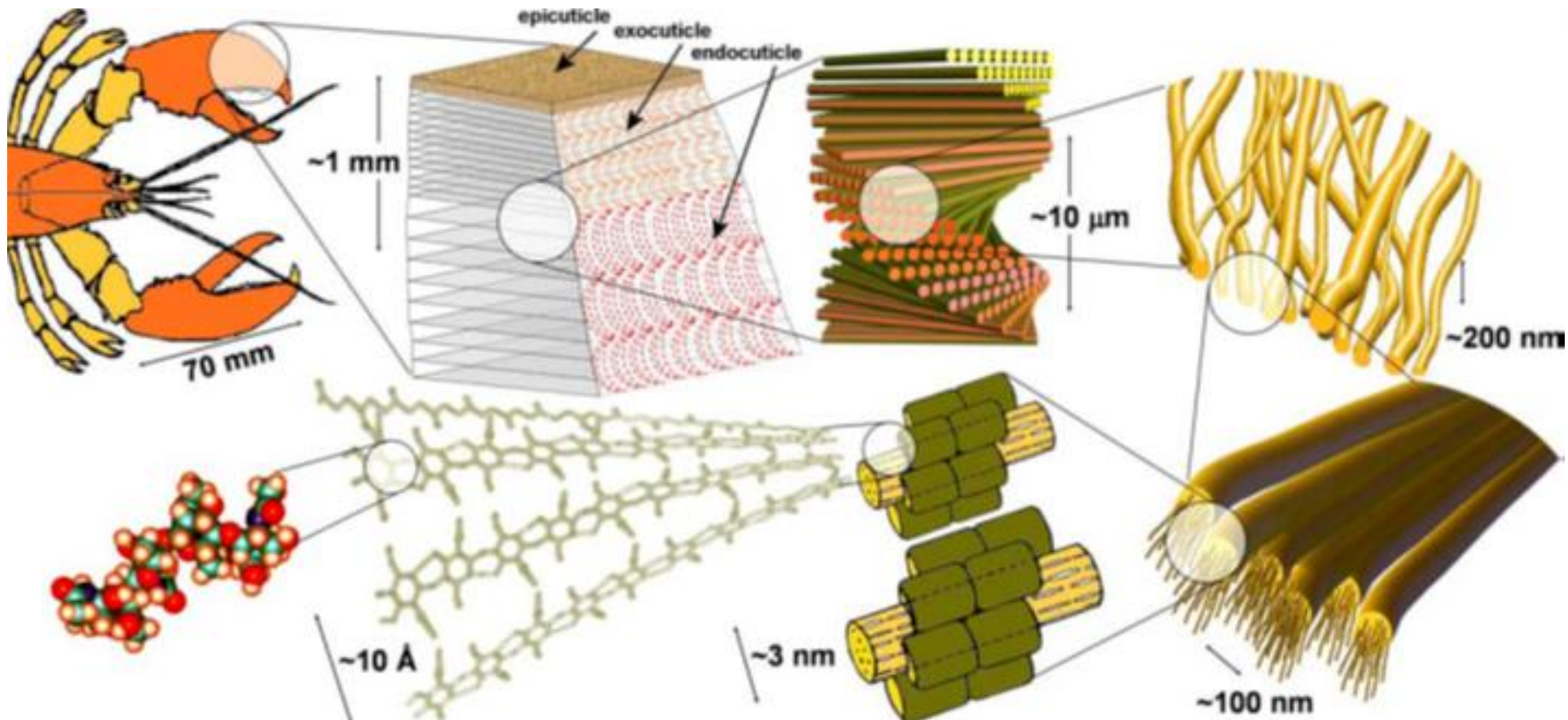


Invertebrata

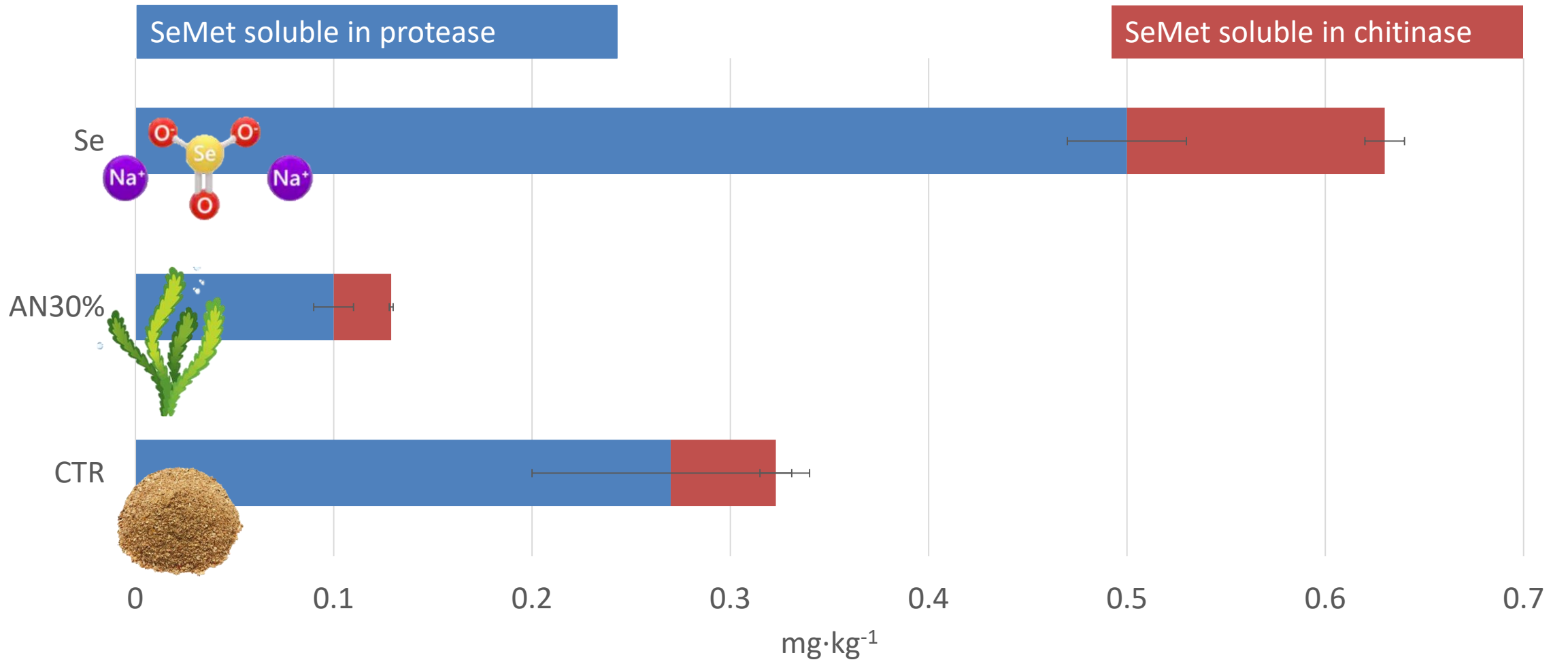
CHITIN FRACTION

PROTEIN FRACTION

Before going further a brief focus on **cuticle**



Distribution of selenium in BSF tissues



Conclusions

- BSF larvae reared on specific/selected rearing substrates are able to **convert inorganic Se to organic Se**
- Seaweed and sodium selenite inclusion affect the BSF prepupae total Se and selenium species.
- Up to **60% of selenium** can be accumulate in **organic form** in BSF tissue
- However, further investigation are required for optimizing BSF meal production for specific feed or food purposes

Se yeast or L Se-met Vs Se enriched BSF

- 300-400 mg **Selemax** 1000, or 150-200 mg Selemax 2000 apporting 0.1 and 0.2 mg Se/kg.
- **L-selenomethionine**; 0.5 mg Se/kg via a formulated additive (1300 mg Se/kg).
- **Sel-Plex**[®] apporting 2000-2400 mg Se/kg (97-99 % of organic selenium).
Max 0.2mg selenium
- **Selenium BSF** 1.2 mg kg/kg Se (>60% oganic Se)
 - Replacing 25-50 % of fish meal in fish diet → 0.2-0.4 mg/kg Se in feed



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI
DI MILANO

Thanks for your attention

matteo.ottoboni@unimi.it