

黑水虻对食料中pH值、辣度及盐度的耐受性*

姬越^{1,2} 任德珠³ 叶明强³ 徐齐云¹ 安新城^{1**}

¹广东省动物保护与资源利用重点实验室, 广东省野生动物保护与利用公共实验室, 广东省生物资源应用研究所 广州 510260

²贵州师范大学生命科学院 贵阳 550001

³广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所 广州 510640

摘要 黑水虻能够高效取食和消化富含营养物质的易腐有机废弃物, 将其转化为昆虫蛋白和油脂, 为评估黑水虻处置餐厨垃圾的效率和稳定性, 通过研究黑水虻在食料环境中对酸、碱、盐、辣椒素等胁迫因子的耐受性水平, 分析其在餐厨垃圾处置过程中的抗逆表现. 结果显示: (1) 强酸性 (pH = 3) 环境对黑水虻生长发育有显著负面影响, 整体表现为幼虫体重减轻、化蛹率降低且无法羽化, 不能完成完整的生活史; 而强碱性 (pH = 11) 环境没有表现出负面影响, 反而有利于幼虫的生长发育, 表现为体重增加、活力增强, 因此黑水虻对强酸和强碱的适应能力是不对称的; pH值在5-11之间的黑水虻化蛹率、羽化率、生物量积累和成活率的差异不显著; (2) 盐浓度增加会导致黑水虻幼虫发育期延长, 但在本研究中, 6%的质量浓度条件下仍没有出现体重、化蛹率、羽化率及存活率的显著差异, 显示出黑水虻对渗透压存在较好的适应机制; (3) 辣度对黑水虻生长发育无显著影响. 综上所述, 黑水虻幼虫对食料中的酸碱度、盐度及辣度整体上具有较好的耐受性, 可作为动物媒介规模化处置餐厨垃圾, 在具体工艺设计中应尽量调节餐厨垃圾至偏碱性、低盐度以提高效率、增加产量. (图3 表1 参19)

关键词 黑水虻; pH值; 辣度; 氯化钠

CLC X174 : X705

Tolerance of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) to pH value, pungency, and NaCl in foodstuffs*

Ji Yue^{1,2}, REN Dezhu³, YE Mingqiang³, XU Qiyun¹ & AN Xincheng^{1**}

¹ Guangdong Key Laboratory of Animal Conservation and Resource Utilization, Guangdong Public Laboratory of Wild Animal Conservation and Utilization, Guangdong Institute of Applied Biological Resources, Guangzhou 510260, China

² College of Life Sciences, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China

³ Sericulture and Agropduct Processing Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China

Abstract The black soldier fly (BSF), *Hermetia illucens*, has been considered impressive as a saprophagous insect, for its high ability to convert organic waste to insect protein and oil. Hence, it has been regarded by the municipal administration that BSF might be used as a medium to deal with food waste. However, food waste in China has been characterized as having a high salt content, oily, and very spicy, which usually renders them unsuitable for animal feeding. In order to assess the technological reliability for BSF conversion of food waste, the tolerance of BSF for pH values, pungency, and NaCl in food were investigated in this case. Results indicated that strong acidity (pH = 3) was not good for the development of BSF, demonstrating less body weight and eclosion failure. In contrast, strong basicity (pH = 11) seemed to be beneficial for larval development with high biomass, and there is no difference in pupation, eclosion, larval biomass, and livability for BSF for pH values between 5 and 11. With regards to salinity, linear correlations were observed; the salinity strength increased along with the extension of the larval phase, but body weight, pupation rate, emerging rate, and livability were still consistent under 6% density of salinity. Influence of pungency on BSF larvae has not yet been found. In conclusion, BSF showed a high tolerance to pH value, pungency, and salinity in foodstuffs. Hence, it is expected that food waste from common environments might have a lesser possibility to cause negative effects on BSF development, which could be good news for BSF conversion technology. As for the process design, the conclusion suggested that food waste optimum for BSF is expected to be alkaline and low-salt, which would be helpful to improve the efficiency and harvest.

Keywords *Hermetia illucens*; pH value; pungency; NaCl

收稿日期 Received: 2017-07-24 接受日期 Accepted: 2017-08-24

*广东省科技计划项目 (2014B020216007, 2013A061402006)、广州市科技计划项目 (201508020108) 和广东省科学院科技发展专项 (2017GDASCX-0107) 资助 Supported by the Science and Technology Planning Project of Guangdong Province, China (2014B020216007, 2013A061402006), the Science and Technology Planning Project of Guangzhou City (201508020108) and the Special Project of Science and Technology Development of Guangdong Academy of Sciences (2017GDASCX-0107)

*通讯作者 Corresponding author (E-mail: anxc@giabr.gd.cn)

黑水虻 (*Hermetia illucens* L.), 中文学名为亮斑扁角水虻, 起源于南美洲的热带稀树草原, 幼虫营腐食性, 以动物尸体、粪便为食, 已经与人类共栖了近千年, 在全世界的大部分热带和温带地区都有分布^[1-2]。近年来, 黑水虻作为一种对环境有益的资源昆虫正日益在全球范围内受到关注, 它能够富有效率地将易腐有机垃圾转化为高附加值的昆虫蛋白和油脂, 向市场提供大量优质而廉价的动物蛋白来源, 从而在环保和农业领域同时具备巨大的应用前景^[3]。Nguyen等比较了厨余、猪肝、猪粪、烂果蔬和鱼杂饲喂黑水虻幼虫的效果后发现, 黑水虻幼虫取食厨余能够获得最快的生长速度和最大的生物量积累^[4]; Diener等在Costa Rica做了一个中等规模的实验, 全面评估了黑水虻消化处置餐厨垃圾的效率和收益, 显示垃圾的减量化明显 (65.5%-78.9%)、收益可观 (幼虫生物量日积累252 g/m²)^[5]; 更多的研究结果显示, 黑水虻幼虫不仅能够高效地取食餐厨垃圾, 还能同时减少环境中的有害病菌, 并对家蝇产生竞争抑制^[6-8]。

Finke对黑水虻的营养物质进行了较为全面的分析, 发现氨基酸、矿物质、脂肪酸、维生素的种类和含量方面都超过了鱼粉^[9], 特别适合于水产养殖, 目前国外用于替代鱼粉的实验结果较多^[10-12], 显示出广阔的潜在市场空间。

西餐与中餐在烹调加工和饮食习惯上存在明显差异, 而国内的餐厨垃圾在盐度、调味料及油脂含量方面也具有时空差异性, 例如成都地区由于普遍吃火锅, 餐厨垃圾平均的油脂含量可以达到8%, 远高于全国3%的平均水平^[13], 而比较上海、广州、成都的餐厨垃圾含盐量波动在1.5%-3.6%之间, 同样存在较大的差异^[13-15]; 另一方面, 餐厨垃圾在厌氧条件下极易酸败, 发生恶臭气味, 所有这些都要求消化处置餐厨垃圾的黑水虻具备良好的环境耐受性。本研究从中国餐厨垃圾的特性出发, 考察了食料中pH值、辣度及盐度对黑水虻幼虫生长发育的影响, 从而评估黑水虻在消化处置餐厨垃圾过程中的稳定性和可靠性, 以期为后续的产业化推广提供参考信息。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供试虫源来自于广州市花都区缠岗村的黑水虻繁育实验基地, 人工饲养超过20代的黑水虻实验种群。

花生粕由广东省农业科学院作物研究所综合实验厂提供, 是花生油的副产品。

分析纯试剂HCl、NaOH和NaCl由天津市福晨化学试剂厂生产; 水溶性辣椒碱 (纯度99%) (分子式C₁₈H₂₇NO₃) 由广东清远茗仁生物技术有限公司生产。

1.2 实验方法

1.2.1 饲料配制 将新鲜的花生粕加入1.5倍的水浸泡24 h, 混合均匀后置于4℃冰箱冷藏保存备用。

1.2.2 浓度梯度的制备 取5 000 g配制好的花生粕饲料置于中号塑料饭盒, 然后用滴管加入HCl和NaOH溶液调节饲料的pH值, 用玻璃电极的pH计测量达到3、5、7、9、11共计5个梯度, 置于4℃冰箱备用; 以电子天平称量, 分别制备5 000 g的NaCl (质量浓度2%、4%、6%) 和辣椒碱 (质量浓度0.2%、

0.4%、0.6%、0.8%、1.0%) 浓度梯度的花生粕养虫饲料, 置于4℃冰箱冷藏备用。

1.2.3 发育测量 用常规方法收取黑水虻当日产的卵, 置于人工气候箱内孵化 ($T = 32^{\circ}\text{C}$ 、 $\text{RH} = 75\%$); 孵化后的幼虫放入人工气候箱 ($T = 28^{\circ}\text{C}$ 、 $\text{RH} = 75\%$), 用清水浸泡的花生粕饲料饲养5 d。然后挑取健康的5日龄幼虫500头, 放入干净的小号塑料饭盒内, 加入制备好的浓度梯度饲料约100 g, 置于人工气候箱内进行饲养 ($T = 28^{\circ}\text{C}$ 、 $\text{RH} = 75\%$), 每日随机挑取100头虫称重记录, 称重完毕后放回到饲养盒内; 每个饲养盒平均3 d添加一次饲料, 添加量视幼虫生长情况可适当增减, 但所有处理的每次添加量保持一致; 待发现有黑色预蛹出现时, 将预蛹移出, 置于干净的玻璃试管中单独培养, 并每日称重、观察、记录直至全部羽化或死亡。每个浓度水平3个重复, 共计1 500头虫。

幼虫期: 从实验开始至幼虫体重达到最大值为止的持续时间, 取平均值; 老熟幼虫体重: 幼虫达到的最大平均体重, 此时幼虫停止取食, 开始进入预蛹期; 化蛹率: 每个处理全部成功化蛹的数量与幼虫总数的比值; 羽化率: 每个处理全部成功羽化的数量与蛹总数的比值; 成活率: 每个处理成功羽化的数量与幼虫总数的比值。

1.3 数据处理

实验数据由SPSS 13.0软件进行统计, 由EXCEL 11.0软件制图。

2 结果与讨论

本研究考察了pH值、盐浓度及辣椒碱在不同梯度条件下对黑水虻幼虫、蛹及羽化率等生长发育的影响。结果 (表1) 显示, 强酸环境 ($\text{pH} = 3$) 导致黑水虻不能完成全部的生活史, 虽然能够达成幼虫的生物量积累, 但不能完成化蛹和羽化, 说明存在致命的发育阻碍; 其他处理的黑水虻都完成了全部的发育阶段, 平均成活率都达到了90%以上, 说明黑水虻对于取食环境的酸碱度、盐度和辣度整体上表现出良好的耐受性。

pH值在5-11之间的黑水虻化蛹率、羽化率、生物量积累和成活率的差异不显著, 显示其较好的耐受性; 在强酸性 ($\text{pH} = 3$) 环境下, 表现为幼虫的体重较轻 ($m = 12.00 \pm 0.59$ g)、化蛹率低且最终未见羽化; 强碱 ($\text{pH} = 11$) 性环境对黑水虻幼虫不仅没有造成明显的负面影响, 而且获得的生物量积累最大 ($m = 15.51 \pm 1.57$ g) 并完成最终羽化, 明显可见黑水虻对强酸、强碱的适应能力是不对称的; 这有可能是过度的酸性物质妨碍了黑水虻正常的激素调节功能, 特别是蜕皮激素, 使幼虫不能正常化蛹和羽化。根据Hyunbum等^[16]和郭凤达^[17]对黑水虻幼虫肠道的微生物研究, 居于优势的菌群为柠檬酸杆菌 (*Citrobacter*)、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 等产酸菌, 郭凤达获得的12个菌株在酸碱度为3-9的范围内都能存活, 认为黑水虻体内的产酸菌或许有助于其适应体外的碱性环境, 即使在强碱环境下仍然能够达到生长发育所需要的平衡状态。从幼虫体重的变化趋势上 (图1), 也可看出对照和强酸环境下的黑水虻发育表现为两个极端, 同时也说明试剂HCl和NaOH对幼虫亦有一定的负面影响。

表1 食料中的胁迫因子对黑水虻生长发育的影响

Table 1 Effect of stress factors in food on development of black soldier fly, *Hermetia illucens*

处理 Treatment	水平 Level	幼虫期 Larval time (M±SD) (t/d)	化蛹率 Pupation (r/%)	羽化率 Ecdysis (r/%)	老熟幼虫体重 Body weight (M±SD) (m/g)	平均成活率 Average livability (r/%)
pH	3	24 ± 3.14a*	57.6	0**	12.00 ± 0.59 a	0
	5	20 ± 2.22b	96.4	98.2	14.23 ± 1.56 b	94.6
	7	19 ± 2.56c	98.2	99.0	13.07 ± 1.35 b	97.2
	9	19 ± 1.98c	94.6	97.7	12.75 ± 1.27 b	92.4
	11	19 ± 2.15c	97.0	98.9	15.51 ± 1.57 c	96.0
辣椒碱 Capsaicin	2	14 ± 1.58a	99.6	99.0	15.12 ± 1.86 a	98.6
	4	14 ± 2.34a	98.6	99.6	14.93 ± 1.90 a	98.2
	6	15 ± 2.28a	100	99.0	14.89 ± 1.95 a	99.0
	8	14 ± 3.12a	99.0	97.8	14.83 ± 2.01 a	96.8
	10	15 ± 2.13a	98.4	98.6	14.81 ± 1.97 a	97.0
NaCl	2%	13 ± 1.89a	99.0	100	14.77 ± 1.51 a	99.0
	4%	17 ± 2.66b	97.8	97.5	14.57 ± 1.60 a	95.4
	6%	25 ± 3.78c	97.4	98.0	14.77 ± 1.54 a	95.4
CK		13 ± 1.67	98.6	98.2	15.08 ± 1.87	96.8

*每个处理当中相同字母代表均值检验无显著差异 (Duncan, $\alpha = 0.05$);

**至实验全部结束时, 仍未见羽化的蛹, 视为羽化失败。

* Same letter means no significant difference between groups (Duncan, $\alpha = 0.05$); **Emergency failure is regarded for the pupa not emerge until all experiment finished.

表1和图2都清晰地反映了辣度对黑水虻的生长发育几乎没有影响, 通常情况下辣椒素 (Capsaicine) 会对动物的味觉神经形成刺激, 目前还不清楚黑水虻幼虫的味觉机制, 所以也不能确定黑水虻幼虫是否对其他刺激类的物质亦不敏感。

高盐度意味着强渗透压, 黑水虻幼虫在逐渐增加的盐浓度环境中发育周期显著延长 (表1、图3), 意味着高盐的确存在负面影响, 但是在6%的质量浓度中仍然没有表现出体重、化蛹率、羽化率及存活率上的显著差异, 这一现象暗示黑水虻可能在生理层面具有较强的trade-off能力, 仅以延缓发育历期作为代价而获得食物资源盐度的耐受性显然在进化上是有好处的, 相似的情况在夏蕾等的研究中也报道^[18], 低浓度的 Zn^{2+} 离子仅对黑水虻幼虫的发育历期产生一定的影响。

本研究中的试虫统一使用孵化后5 d的小幼虫, 主要原因是初孵幼虫对于食物环境的耐受性较低, 是死亡率发生的主要时期 (未发表数据), 而老熟幼虫和预蛹的抗逆性则较强^[19], 因此在规模化养殖时, 应在工艺上要求以5日龄小幼虫作为餐厨垃圾等有机废弃物生物处置的起始工作虫态, 避免过早投入而导致大量死亡的现象发生。

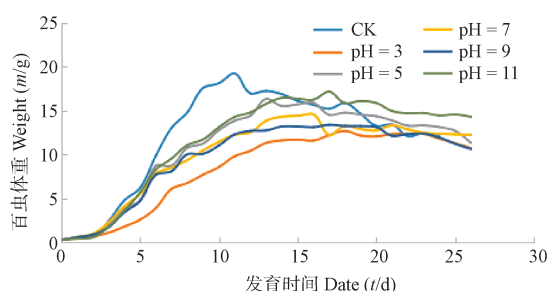


图1 pH值对黑水虻发育的影响。

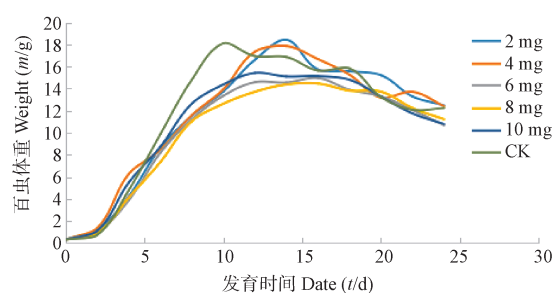
Fig. 1 Relationship between pH value and development of black soldier fly, *Hermetia illucens*.

图2 辣度对黑水虻发育的影响。

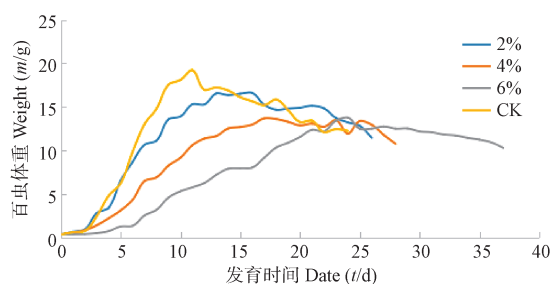
Fig. 2 Relationship between pungency degree and development of black soldier fly, *Hermetia illucens*.

图3 盐浓度对黑水虻的发育影响。

Fig. 3 Relationship between salinity and development of black soldier fly, *Hermetia illucens*.

3 结论

本研究结果显示黑水虻整体上具备较好的环境耐受性, 餐厨垃圾的酸碱度、辣度和盐度对于黑水虻幼虫的生长发育影响有限, 但是黑水虻针对不同环境因子的适应表现又存在一定的特异性。

(1) 强酸性 (pH = 3) 环境对黑水虻生长发育有显著负面影响, 表现为幼虫体重减轻、化蛹率降低且无法羽化, 不能完成生活史; 强碱性 (pH = 11) 环境没有表现出负面影响, 反而有利于幼虫的生长发育, 表现为体重增加、活力增强, 因此黑水虻对于强酸和强碱的适应能力是不对称的; pH值在5-11之间的黑水虻化蛹率、羽化率、生物量积累和成活率的差异不显著。

(2) 盐浓度的增加会导致黑水虻幼虫发育期延长, 说明渗透压过高会产生负面影响, 但在本研究中, 6%的质量浓度条件下仍没有出现体重、化蛹率、羽化率及存活率的显著下降, 说明黑水虻在渗透压适应方面存在着较好的耐受机制。

(3) 辣度对黑水虻生长发育无显著影响, 目前机制尚不清楚。

本文结果暗示黑水虻在自然条件下可能偏爱碱性和低盐的环境, 因此在具体的工艺设计中, 尽量使黑水虻幼虫能够在优化的环境中实施餐厨垃圾的消化处置, 以达到提高效率、增加产量的目的。

参考文献 [References]

- 1 Brammer C, Von Dohlen CD. Evolutionary history of Stratiomyidae (Insecta: Diptera): the molecular phylogeny of a diverse family of flies [J]. *Molec Phylogen Evol*, 2007, 43: 660-673

- 2 杨定, 张婷婷, 李竹. 中国水虻总科志[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2014 [Yang D, Zhang TT, Li Z. Stratiomyoidea of China [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2014]
- 3 Tomberlin JK, Van Huis A, Benbow ME, Jordan H, Astuti DA. Protecting the environment through insect farming as a means to produce protein for use as livestock, poultry and aquaculture feed [J]. *J Insects Food Feed*, 2015, **1**: 307-309
- 4 Nguyen TTX, Tomberlin JK and VanLaerhoven S. Ability of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae to recycle food waste [J]. *Environ Entomol*, 2015, **44**: 406-410
- 5 Diener S, Solano NMS, Gutierrez FR, Zurbrugg C, Tockner K. Biological treatment of municipal organic waste using black soldier fly larvae [J]. *Waste Biomass Valorization*, 2011, **2** (4): 357-363
- 6 Erickson MC, Islam M, Sheppard C, Liao J, Doyle MP. Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis in chicken manure by larvae of the black soldier fly [J]. *J Food Prot*, 2004, **67**: 685-690
- 7 Li Q, Zheng L, Qiu N, Cai H, Tomberlin JK, Yu Z. Bioconversion of dairy manure by black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) for biodiesel and sugar production [J]. *Waste Manage*, 2011, **31**: 1316-1320
- 8 Lalander CH, Fidjeland J, Diener S. High waste-to-biomass conversion and efficient *Salmonella* spp. reduction using black soldier fly for waste recycling [J]. *Agron Sustainable Dev*, 2015, **35**: 261-271
- 9 Finke MD. Complete nutrient content of four species of feeder insects [J]. *Zoo Biol*, 2013, **32**: 27-36
- 10 Van Huis A, Van Itterbeeck J, Klunder H, Halloran A. Edible insects: future prospects for food and feed security [R]. Rome: Food and Agriculture Organization, 2013
- 11 Henry M, Gasco L, Piccolo G, Fountoulaki E. Review on the use of insects in the diet of farmed fish: past and future [J]. *Anim Feed Sci Technol*, 2015, **203**: 1-22
- 12 Park K, Choi Y, Nam S, No S. Nutritional value of black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) as a feed supplement for fish [J]. *J Sericult Entomol Sci*, 2013, **51** (2): 95-98
- 13 孟勤宪. 成都市餐厨垃圾处置方式优化选择研究[D]. 成都: 西南交通大学, 2010 [Meng Q. Optimization study of food waste disposal in Chengdu [D]. Chengdou: Southwest Jiaotong University, 2010]
- 14 毕珠洁, 邵俊, 陈奕, 万云峰, 陶倩倩. 上海市有机垃圾原料特性研究[J]. 环境卫生工程, 2016, **24** (4): 5-7 [Bi Z, Tai J, Chen Y, Wan Y, Tao Q. Raw material characteristics of organic waste in Shanghai [J]. *Environ Sanitation Eng*, 2016, **24** (4): 5-7]
- 15 沈超青. 广州市餐厨垃圾的资源化利用研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2013 [Sheng C. Resource utilization of the kitchen waste in Guangzhou [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2013]
- 16 Jeon H, Park S, Choi J, Jeong G, Lee SB. The intestinal bacterial community in the food waste-reducing larvae of *Hermetia illucens* [J]. *Curr Microbiol*, 2011, **62**: 1390-1399
- 17 郭凤达. 亮斑扁角水虻生物学及其幼虫肠道细菌的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012 [Guo F. Studies on the biology of *Hermetia illucens* and the intestinal bacteria of *Hermetia illucens* larvae [D]. Taian: Shandong Agricultural Univeristy, 2012]
- 18 夏婧, 但家立, 朱伟, 廖业, 喻国辉, 陈远风. Zn²⁺胁迫对黑水虻生长发育的影响[J]. 环境昆虫学报, 2013, **35** (3): 294-299 [Xia Q, Dan J, Zhu W, Liao Y, Yu G, Cheng Y. Effects of Zinc on the growth and development of black soldier fly *Hermetia illucens* L. (Diptera:Stratiomyidae) [J]. *J Environ Entomol*, 2013, **35** (3): 294-299]
- 19 沈媛, 徐齐云, 安新城. 黑水虻幼虫及预蛹抗逆性的初步研究[J]. 环境昆虫学报, 2012, **34** (2): 240-242 [Sheng Y, Xu Q, An X. The study of stress resistance for larva and pre-pupa stage of black soldier fly, *Hermetia illucens* [J]. *J Environ Entomol*, 2012, **34** (2): 240-242]