

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIM

N°:



DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUE

OPTION : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

**Mémoire présenté pour l'obtention**

**Du diplôme de Master Académique**

Par :BAABOUCHE Dounyazed

BAABOUCHE Chahrazed

DIF Abdellah

AZZOUG Saad

**Intitulé**

**Etude de la composition d'*Hermetia illucens*, son activité antimicrobienne et son application dans l'alimentation des poulets de chaire**

Soutenu devant le jury composé de :

Mr. Rahali Abdallah	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Président
Mme. Dehimi Khadidja	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Promoteur
Mme. Bouaziz Samia	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Co-promoteur
Mr. Harrar Abdenassar	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Examineur

Année universitaire : 2022 /2023

## *Remerciement*

Nous tenons tout d'abord à exprimer nos remerciements à notre promotrice mademoiselle Dehimi Khadidja, pour avoir dirigé se travail, pour sa disponibilité constante et ces encouragements.

Nos remerciements les plus cordiaux s'adressent à madame Bouaziz Samia qui a suivie de prés notre travail, pour sa collaboration, son orientation et ses conseils.

Nos vifs remerciements s'adressent également aux membres du jury d'avoir accepté de juger et d'examiner notre travail.

A tous ceux qui de près ou de loin ont apporté leur contribution à la réalisation de ce travail, on vous pris de trouver l'expression de notre profonde reconnaissance.

# Sommaire

Résumé .....	i
Liste des abréviations .....	ii
Liste des figures .....	iii
Liste des tableaux .....	iv
Introduction .....	1

## Chapitre I: Synthèse bibliographique

1. Morphologie d' <i>Hermetia illucens</i> (Mouche soldat noire).....	2
2. Classification .....	2
3. Distribution et habitat .....	3
4. Cycle de vie d' <i>Hermetia illucens</i> .....	4
5. Alimentation et relation avec les autres espèces .....	5
6. Impact de la mouche soldat noire sur l'environnement .....	6
6.1 Effet sur les matières organiques en décomposition .....	6
6.2 Réduction des émissions de gaz à effet de serre .....	6
6.3 Limitation des populations d'autres insectes nuisibles .....	6
7. Application des larves de la mouche soldat noire .....	6
7.1 Nourriture pour les animaux domestiques .....	6
7.2 Production du compost .....	7
7.3 Production de biocarburants .....	7
8. Biomolécules de la larve d' <i>Hermetia illucens</i> .....	7
8.1 Les protéines .....	8
8.2 Les lipides .....	9
8.3 La chitine et le chitosane .....	11
8.3.1 La chitine .....	11
8.3.2 Le chitosane .....	13
8.4 Les minéraux .....	13

9. Applications des biomolécules d' <i>Hermetia illucens</i> .....	14
9.1 Protéines et peptides .....	14
9.2 Lipides et acides gras .....	14
9.3 Chitine et chitosan .....	14

## Chapitre II: Matériel et méthodes

1. Matériel .....	15
1.1 Les œufs d' <i>Hermetia illucens</i> .....	15
1.2 Les poulets de chair .....	15
1.3 Les souche bactériennes .....	15
1.4 Les souches fongiques .....	15
1.5 Les produits chimiques .....	15
2. Méthodes .....	16
2.1 Détermination de la composition d' <i>Hermetia illucens</i> .....	16
2.1.1 Délipidation (Extraction des lipides et des protéines) .....	16
2.1.2 Dosage des protéines .....	16
2.1.3 Extraction de la chitine .....	16
2.1.4 Extraction de chitosane .....	17
2.1.5 Caractérisation de chitosane par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) .....	17
2.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne de chitosane .....	18
2.2.1 Préparation de l'inoculum .....	18
2.2.2 Etude de l'activité antibactérienne (Méthode des disques de diffusion ou chromatogramme) .....	18
2.2.3 Etude de l'activité antifongique (Méthode des disques de diffusion) .....	18
2.3 Utilisation d' <i>Hermetia illucens</i> dans l'alimentation des poulets de chair .....	19
2.3.1 Elevage d' <i>Hermetia illucens</i> .....	19
2.3.2 Substitution de soja par <i>Hermetia illucens</i> dans l'alimentation des poulets de chair .....	21

## Chapitre III: Résultats et discussion

1. Teneur en lipides et en protéines d' <i>Hermetia illucens</i> .....	23
2. Extraction de chitine et de chitosane .....	23
3. Caractérisation du chitosane par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) ..	24
4. Activité antimicrobienne de chitosane .....	25
4.1 Activité antibactérienne.....	25
4.2 Activité antifongique de chitosane .....	27
5. Utilisation d' <i>Hermetia illucens</i> dans l'alimentation des poulets de chair.....	29
5.1 Poids des poulets .....	29
5.2 Qualité de viande.....	31
5.3 Mortalité.....	31
Conclusion .....	32
Références bibliographiques .....	33
Annexe	

## Résumé

Au cours des dernières années, plusieurs espèces d'insectes ont fait l'objet d'une attention accrue en tant que matières premières pour l'alimentation humaine et animale et pour des applications industrielles. L'une de ces espèces est *Hermetia illucens*, dont les larves peuvent convertir des déchets organiques de faible valeur en biomasse précieuse riche en lipides, en protéines, en chitine et en chitosane. L'objectif de ce travail était tout d'abord l'extraction de la chitine, chitosane, protéines et lipides à partir des larves d'*Hermetia illucens*, et l'utilisation des larves dans l'élevage des poulets de chair. L'autre objectif est de mettre en évidence l'activité antibactérienne et antifongique du chitosane vis-à-vis des souches bactériennes à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*) et les champignons (*Aspergillus niger* et *Fusarium sp.*). L'extraction des lipides et des protéines a été effectuée à l'aide de l'éther de pétrole avec un rendement de 37.66% et 24.82%, respectivement. Pour la chitine et le chitosane, les exuvies de pupes d'*Hermetia illucens* ont été utilisées pour l'extraction ; La déminéralisation et la déprotéinisation ont été effectuées à l'aide de HCl et de NaOH, respectivement. Ensuite, la chitine extraite est convertie en chitosane par désacétylation à l'aide de NaOH. Leurs rendements étaient de 20.8% et 14.39%, respectivement. La caractérisation de chitosane a été réalisée par spectroscopie FTIR, et les propriétés antibactériennes de cette molécule ont été déterminées à l'aide de la méthode des disques de diffusion où la meilleure zone d'inhibition ( $38.5 \pm 2.12\text{mm}$ ) a été observée pour la souche *Pseudomonas aeruginosa*. Concernant le pouvoir antifongique, une inhibition faible des moisissures étudiées a été observée avec des pourcentages d'inhibition inférieurs à 20%. Les résultats de remplacement de la farine de soja par les larves de BSF dans l'alimentation des poulets de chair montrent un gain de poids important des poulets qui consomment le BSFL à 50% par rapport au groupe témoin.

**Mots clés :** *Hermetia illucens*, protéines, lipides, chitine, chitosane, activité antimicrobienne, poulets de chair.

## Liste des abréviations

ATCC : American type culture collection.

BSF: Black Soldier Fly.

BSFL: Black Soldier Fly Larvae.

GM : Gentamicine.

HCl : chlorure d'hydrogène.

I% : Pourcentage d'inhibition.

IRTF : Infra rouge à Transformée de Fourier.

MHA: Mueller-Hinton Agar.

NaOH : L'hydroxyde de sodium.

PDA : Potato Dextrose Agar.

pH : Potentiel d'hydrogène.

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Morphologie de la mouche soldat noire ( <i>Hermetia illucens</i> ). .....	2
<b>Figure 2.</b> Distribution d' <i>Hermetia illucens</i> dans le monde. ....	3
<b>Figure 3.</b> Cycle de vie de la mouche soldat noire. ....	4
<b>Figure 4.</b> Différent stades d'exuvies. A : 1ère exuvie, B : Stade précoce de la 2ème exuvie, .....	5
<b>Figure 5.</b> Les biomolécules des larves d' <i>Hermetia illucens</i> . ....	8
<b>Figure 6.</b> Structure chimique de la chitine. ....	11
<b>Figure 7.</b> Sources traditionnelles (b) et émergentes (c) de la chitine, et leur composition (a). ....	12
<b>Figure 8.</b> Structure chimiques du chitosane. ....	13
<b>Figure 9.</b> Elevage d' <i>Hermetia illucens</i> . A gauche : Alimentation des larves. A droite : Chambre d'élevage des mouches. ....	20
<b>Figure 10.</b> Apparence de la chitine (A) et le chitosane (B), extraits d' <i>Hermetia illucens</i> . ....	24
<b>Figure 11.</b> Spectre infrarouge du chitosane extrait à partir d' <i>Hermetia illucens</i> . ....	24
<b>Figure 12.</b> Activité antibactérienne de chitosane extrait à partir d' <i>Hermetia illucens</i> . ....	25
<b>Figure 13.</b> Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne par le chitosane d' <i>Hermetia illucens</i> (7ème jour d'incubation). ....	27
<b>Figure 14.</b> Activité antifongique du chitosane d' <i>Hermetia illucens</i> (à gauche), par rapport au contrôle négatif (à droite), contre <i>Fusarium</i> sp. (5ème jour d'incubation). ....	27
<b>Figure 15.</b> cinétique de la croissance fongique en présence de chitosane et d'acide acétique à 1% (contrôle négatif). ....	28
<b>Figure 16.</b> Changement de poids des poulets en fonction du temps. ....	30

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Posirtion systématique d' <i>Hermetia illucens</i> .....	3
<b>Tableau 2.</b> Composition en acides aminés des protéines des larves de la mouche soldat noire, la farine de poisson et le tourteau de soja (g/Kg de matière sèche). .....	9
<b>Tableau 3.</b> Composition en acides gras des larves de la mouche soldat noire (g/kg de matière sèche) .....	10
<b>Tableau 4.</b> Souches bactériennes utilisées dans l'étude de l'activité antibactérienne.....	15
<b>Tableau 5.</b> Composition de l'alimentation standard des poulets de chair.....	21
<b>Tableau 6.</b> Remplacement de soja par les larves de soldat noir dans les groupes des poulets dechaire.....	22
<b>Tableau 7.</b> Aspects de la chitine et de chitosane extraits d' <i>Hermetia illucens</i> .....	23
<b>Tableau 8.</b> Diamètres des zones d'inhibition (mm) résultant de l'effet antibactérien de chitosane d' <i>Hermetia illucens</i> (2 mg/ml, 30 µl/disque), et de la gentamycine (10 µg/disque).....	25

# **Introduction**

L'augmentation de la production de déchets due à la croissance démographique est l'une des principales préoccupations dans de nombreuses régions du monde. L'une des technologies les plus innovantes en matière de gestion des déchets est la bioconversion des déchets par les insectes (Čičková et al., 2015). De nombreux insectes se nourrissent naturellement de déchets organiques, convertissant les nutriments de la biomasse en leur propre biomasse et réduisant la quantité de déchets. *Hermetia illucens* mieux connue sous le nom de mouche soldat noire (Black soldierfly ou BSF), est l'une des espèces les plus importantes proposées comme convertisseur de déchets organiques (Diener et al., 2011). L'un des principaux avantages de l'utilisation du BSF comme bio-convertisseur de déchets est que les mouches adultes ne mangent pas, ce qui évite tout les risques de transmission de maladies (Sheppard et al., 2002). Le BSF est considéré comme une bonne source de nutriments tels que les protéines, les lipides et les minéraux ; grâce à sa teneur élevée en protéines, les larves/pré- pupes du BSF ont été proposées pour être utilisées comme aliments pour différentes espèces telles que les poissons, les poulets et les porcs (Cummins et al., 2017). En outre, en raison de la grande quantité de graisse dans les pré-pupes, une autre application exploitée pour la biomasse du BSF est la production de biodiesel (Li et al., 2015). Enfin, le BSF est également une source de chitine et de son dérivé, le chitosane ; Ces deux molécules, surtout le chitosane, ont une grande valeur économique en raison de leurs nombreuses applications : alimentation, cosmétiques, produits pharmaceutiques, industries textiles et leur activité antimicrobienne importante (Gortari et Hours, 2013). Dans ce cadre, le développement de protocoles de fractionnement des biomolécules du BSF revêt une importance croissante, afin d'obtenir des produits commercialisables à haute valeur ajoutée. Dans ce même contexte, notre travail vise à :

-L'extraction et la détermination des teneurs en protéines, lipides, chitine et chitosane des larves et des exuvies d'*Hermetia illucens*.

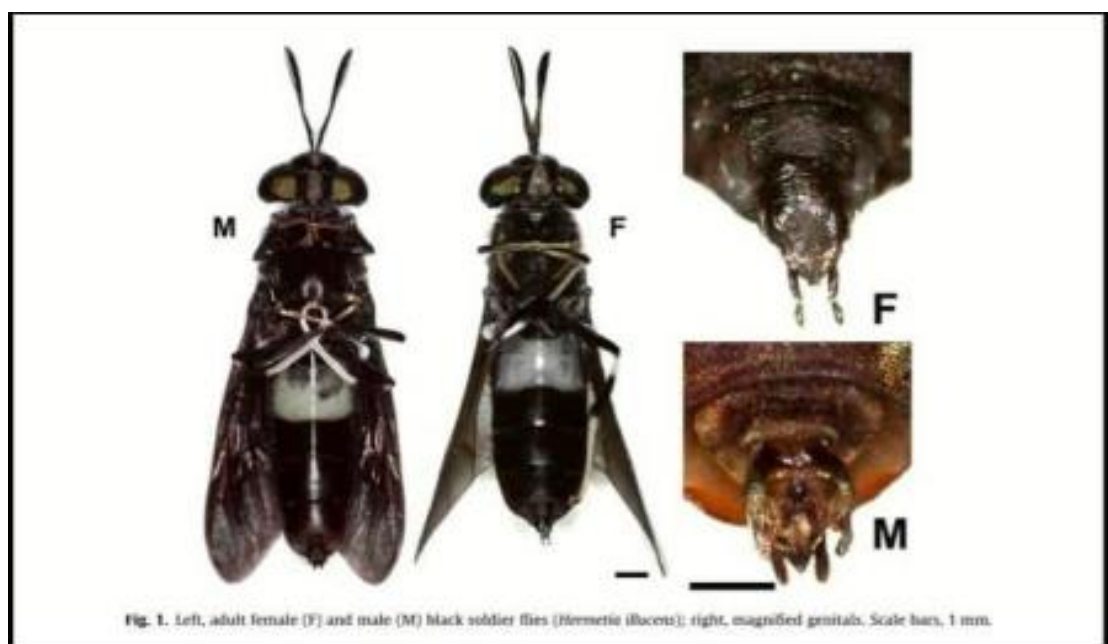
- L'étude de l'activité antibactérienne et antifongique de chitosane.

-La substitution partielle et totale de l'alimentation des poulets de chair par les larves d'*Hermetia illucens*.

**CHAPITRE I**  
**SYNTHESE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

## 1. Morphologie d'*Hermetia illucens* (Mouche soldat noire)

La mouche soldat noire, ou en Anglais « Black soldierfly » (BSF) (Figure1), est un insecte diptère qui subit durant sa vie une métamorphose radicale. Les fémurs et les tibias sont noirs, et les tarsi à l'extrémité des pattes sont jaune pâles. Les antennes longues, noires et droites dépassent de la tête. Les adultes mesurent environ 15-22 mm (Sheppard et *al.*, 2002). La femelle est généralement plus grande que le mâle, a un abdomen rougeâtre alors que le mâle a un abdomen bronze (Oliveira et *al.*, 2016). La tête est prognathe, de forme conique, avec la section transversale plus ou moins arrondie, plus aplatie sur sa face ventrale, de couleur brun rougeâtre foncé et les parties membraneuses jaunes. Les antennes sont biarticulées et très courtes chez les stades âgés, proportionnellement plus longues chez les mouches plus jeunes. Lorsque la tête fait saillie dans le substrat alimentaire, elles sont protégées contre les dommages par un coussinet antennaire large et robuste (Bonelliet *al.*, 2020).



**Figure 1.** Morphologie de la mouche soldat noire (*Hermetia illucens*) (Ooninx et *al.*, 2016).

## 2. Classification

La mouche soldat noire est un diptère qui appartient à la famille des *Stratiomyidae*. Sa classification est comme suit (Linnaeus, 1758) :

**Tableau 1.** Posirtion systématique d'*Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758).

Règne	Animal
Embranchement	<i>Arthropoda</i>
Classe	<i>Insecta</i>
Sous classe	<i>Pterygota</i>
Ordre	<i>Diptera</i>
Famille	<i>Stratiomyidae</i>
Genre	<i>Hermetia</i>
Espèce	<i>Hermetia illucens</i>

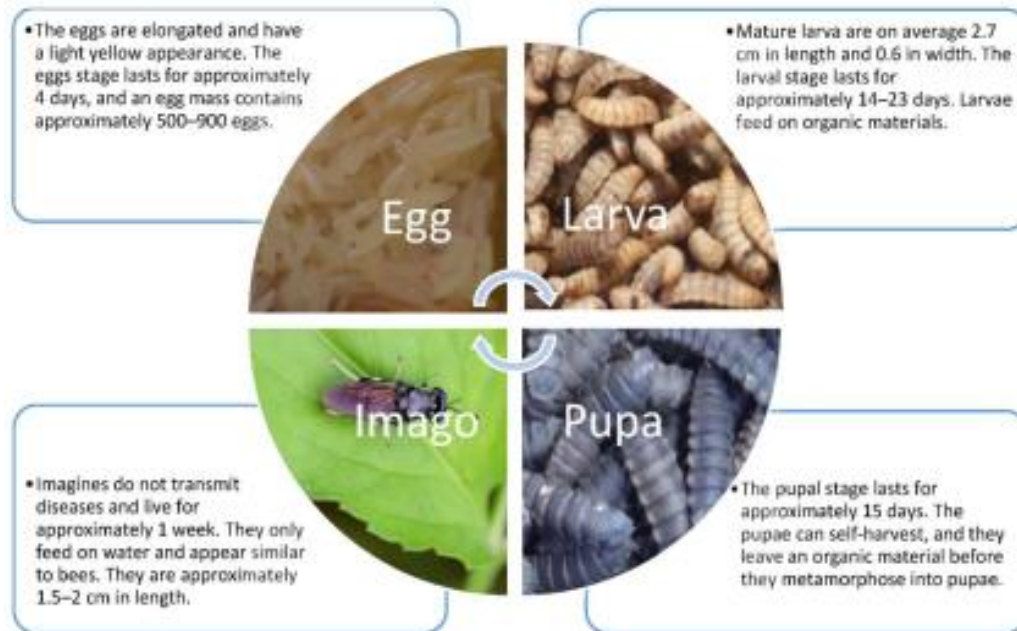
### 3. Distribution et habitat

La mouche soldat noire est une espèce originaire d'Amérique du Sud qui a été introduite dans de nombreuses régions du monde pour sa capacité à gérer les déchets organiques, à produire des insectes comestibles et à lutter contre les nuisibles (Tomberlin et *al.* 2009). Actuellement, on peut la rencontrer dans la nature partout dans le monde, dans les zones tropicales et subtropicales entre les latitudes 40°S et 45°N (Figure 2) (Dortmans et *al.*, 2017). Elle a donc une large répartition géographique et elle peut vivre dans divers habitats. Elle préfère les climats tempérés et chauds, avec une température optimale de 25-30°C pour la croissance de ses larves (Tomberlin et *al.*, 2002). La mouche soldat noire se trouve généralement dans les zones humides et les sols riches en matières organiques, elle se reproduit et pond ses œufs dans des environnements tels que les tas de compost, les tas de fumier et les décharges (Fatchurochim et *al.*, 2020).

**Figure 2 :** Distribution d'*Hermetia illucens* dans le monde (Dortmans et *al.*, 2017).

#### 4. Cycle de vie d'*Hermetia illucens*

Le cycle de vie de la mouche soldat noire est court, il dure environ 30 jours. Il comprend quatre stades distincts : l'œuf, la larve, la nymphe (ou pupe) et la mouche adulte (Figure 3).



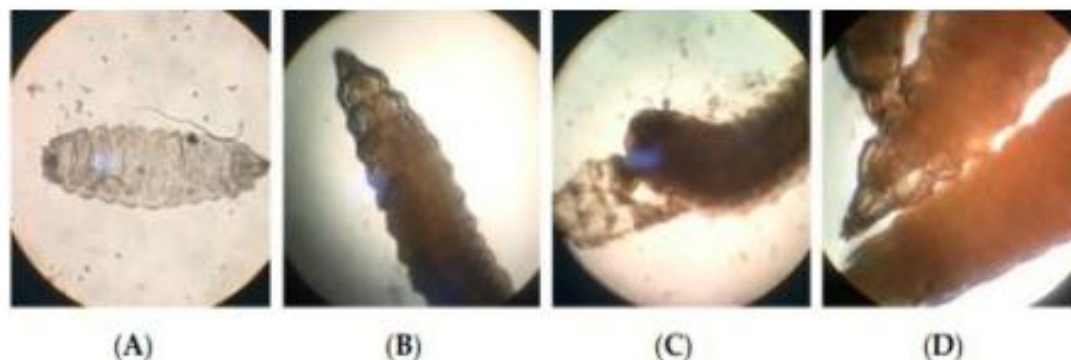
**Figure 3.** Cycle de vie de la mouche soldat noire (Yang, 2022).

Les mouches femelles pondent leurs œufs dans des matières organiques en décomposition telles que les déchets alimentaires, les déchets de jardin, les fientes d'animaux et les restes de cultures. Les œufs sont de couleur crème et mesurent environ 1mm, ils sont pondus par amas de plusieurs centaines d'œufs. Après environ 2 jours, les œufs s'éclosent et les larves commencent immédiatement à se nourrir de la matière organique environnante (Tomberlin et al. 2009).

Les larves passent par trois stades de développement en mangeant de plus en plus au fur et à mesure de leur croissance. La première larve dure de 6 à 10 jours, la deuxième larve dure de 4 à 6 jours, et la troisième larve dure de 5 à 6 jours. La larve a une forme cylindrique et allongée, elle est segmentée, avec une tête distincte et un corps divisé en segments. La taille et la couleur des larves varient en fonction de leur stade de développement. Les larves atteignent une longueur de 2,5 à 3 cm à la fin du stade de la troisième larve. Une fois leur développement terminé, les larves cessent de se nourrir, s'enterrent dans le substrat et commencent leur métamorphose en nymphes (Newton et al., 2015).

Durant tout le stade larvaire et jusqu'à métamorphose en nymphe ou pupe, les larves changent leur enveloppe externe (exuvie) plusieurs fois (Figure 4). La première exuvie se

produit 1 à 2 jours après l'éclosion, où la longueur du corps de la larve n'est que de 1,5 à 2,0 mm ; la peau qui se détache est semi-perméable. La larve âgée de 4 à 5 jours entre dans la deuxième mue et son corps est deux fois plus long que celui du premier stade larvaire. Dans le dernier stade larvaire de la BSF, la larve est dite pré-pupe ou pré-nymphe, elle prend une couleur gris foncé, c'est le stade qui précède la pupa ou la nymphe (Cai et *al.*, 2022).



**Figure 4.** Différent stades d'exuvies. A : 1ère exuvie, B : Stade précoce de la 2ème exuvie, C : Stade tardif de la 2ème exuvie, D : 3ème exuvie (Cai et *al.*, 2022).

Après environ 7 à 14 jours, les nymphes se transforment en mouches adultes. Les adultes ont une durée de vie relativement courte, ne durant que de 7 à 14 jours, pendant lesquels ils se reproduisent et pondent des œufs pour la prochaine génération (Newton et *al.* 2015).

## 5. Alimentation et relation avec les autres espèces

Les larves de la mouche soldat noire se nourrissent principalement de matières organiques en décomposition telles que les déchets alimentaires et les excréments d'animaux. Elles ont également été observées en train de se nourrir de cadavres d'insectes et d'autres matières organiques. La mouche soldat noire a des interactions écologiques avec d'autres espèces telles que les bactéries, les champignons et les autres insectes nécrophages. (Lalander et *al.*, 2013). Le comportement social de la mouche soldat noire est complexe et intéressant. Selon une étude menée par Li et *al.*, (2019), les mouches soldats noires peuvent communiquer par des signaux chimiques, sonores et visuels. Les auteurs ont également noté que les mouches soldats noires ont une préférence pour les habitats avec des congénères et qu'elles peuvent être influencées par les comportements des autres mouches. Ces observations ont des implications importantes pour la gestion des populations de mouches soldats noires dans les usines de compostage.

## **6. Impact de la mouche soldat noire sur l'environnement**

### **6.1 Effet sur les matières organiques en décomposition**

La mouche soldat noire est largement utilisée pour la bioconversion des déchets organiques en compost. Selon une étude menée par Lalander et *al.*, (2015), les larves de mouche soldat noire sont capables de réduire la masse de matières organiques en décomposition jusqu'à 80 % en seulement quelques semaines. De plus, la teneur en nutriments du compost produit est élevée, ce qui en fait un amendement de sol de qualité.

### **6.2 Réduction des émissions de gaz à effet de serre**

En utilisant la mouche soldat noire pour la gestion des déchets organiques, il est possible de réduire les émissions de gaz à effet de serre, en particulier le méthane et le dioxyde de carbone, qui sont produits lors de la décomposition des déchets organiques dans les décharges (Lalander et *al.*, 2013).

### **6.3 Limitation des populations d'autres insectes nuisibles**

Des études ont montré que les larves de la mouche soldat noire sont capables de réduire les populations d'espèces nuisibles telles que les asticots qui se nourrissent des cultures agricoles, les mouches domestiques, les moustiques et les tiques (Tomberlin et *al.*, 2009). En outre, la mouche soldat noire est également considérée comme une alternative aux insecticides conventionnels pour la lutte contre les ravageurs agricoles et les parasites des cultures (Diener et *al.*, 2011). Les larves de la mouche soldat noire ont une forte capacité à décomposer les matières organiques en décomposition, ce qui réduit la disponibilité des nutriments nécessaires à la survie des larves nuisibles. De plus, les larves de la mouche soldat noire sécrètent des enzymes qui peuvent inhiber la croissance et le développement des parasites, contribuant ainsi à réduire leur population (Yu et *al.*, 2011).

## **7. Application des larves de la mouche soldat noire**

### **7.1 Nourriture pour les animaux domestiques**

Les larves de la mouche soldat noire ont plusieurs caractéristiques qui en font un candidat attractif pour une utilisation dans les aliments pour animaux. Elles ont une teneur élevée en protéines (42-63 %), contiennent des niveaux significatifs de lipides (17-34 %) et un profil d'acides aminés favorable, et peuvent être produites en grande quantité à faible coût, elles peuvent donc réduire les besoins en soja et en farine de poisson dans l'alimentation animale (Newton et *al.*, 2005).

Une étude menée par Newton et Sheppard (1999) a montré que les larves de la mouche soldat noire peuvent remplacer jusqu'à 25% du régime alimentaire des poulets de chair sans affecter leur croissance ou leur performance de ponte. De même, une étude menée par Shelomi (2015) a montré que les larves de la mouche soldat noire peuvent remplacer jusqu'à 50% du régime alimentaire des poissons sans affecter leur croissance ou leur qualité de la viande. Une étude sur des carpes Jian (*Cyprinus carpio* var. Jian) juvéniles n'a révélé aucune différence entre l'huile des larves d'*Hermetia illucens* et l'huile de soja sur les performances de croissance, mais une diminution du dépôt lipidique des carpes à mesure que la proportion d'huile des larves dans l'alimentation augmentait. Dans le cas du turbot (*Psetta maxima*), bien que les farines des larves aient une appétence et une valeur nutritive relativement faibles, leur utilisation a tout de même été recommandée comme un remplacement partiel et faisable de la farine de poisson. En effet, la capacité des larves de la mouche soldat noire à produire efficacement une biomasse comestible riche en protéines à partir de déchets organiques potentiellement pauvres en protéines a conduit de nombreux auteurs à conclure que le BSFL peut contribuer de manière significative à l'aquaculture durable en tant que substitut partiel ou total de repas, y compris pour les invertébrés aquatiques tels que les crevettes (Mohan et al., 2022).

## 7.2 Production du compost

Il existe plusieurs méthodes de compostage avec la mouche soldat noire, y compris le compostage en tas, le compostage en boîtes, le compostage en plateau, le compostage en barils et le compostage en fût rotatif. Chacune de ces méthodes a ses propres avantages et inconvénients, mais toutes ont été utilisées avec succès pour produire du compost de qualité supérieure (Tomberlin et al., 2009).

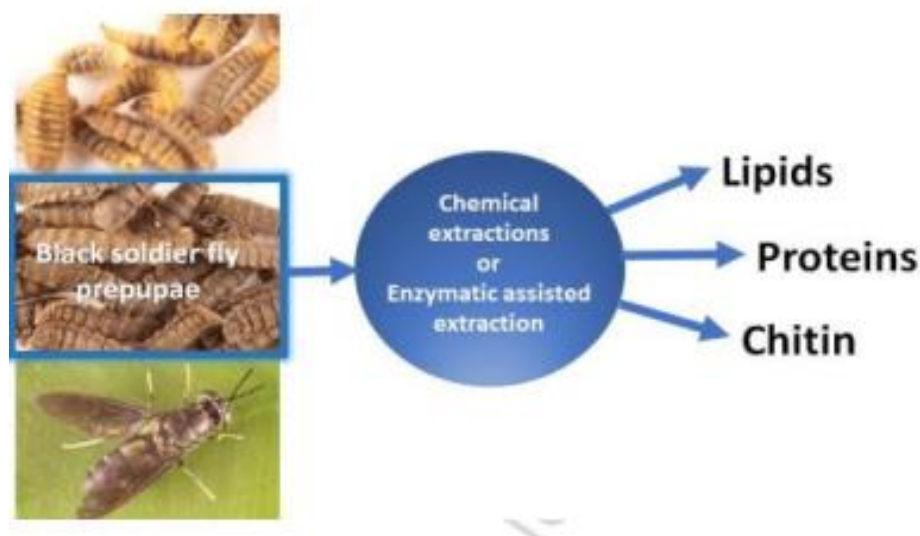
## 7.3 Production de biocarburants

Les larves de la mouche soldat noire peuvent également être utilisées pour la production de biocarburants tels que le biodiesel. La transformation des larves en biocarburants est plus efficace que la transformation des céréales et des plantes oléagineuses en biocarburants, car les larves sont riches en lipides (Lalander et al., 2015).

## 8. Biomolécules de la larve d'*Hermetia illucens*

Une demande croissante d'ingrédients provenant de sources naturelles et renouvelables a été observée au cours des dix dernières années, ce qui a incité diverses entreprises, notamment dans les domaines de l'alimentation animale, de l'alimentation humaine, des produits pharmaceutiques et cosmétiques, à proposer aux consommateurs des produits de plus en plus innovants. Des

bioactifs naturels ont été découverts dans le monde à partir d'une variété de sources, y compris des plantes, des animaux et même des microbes. Les cultures de masse d'insectes sont désormais accessibles en tant que source de lipides et de protéines et sont actuellement considérées comme une alternative prometteuse. Dans ce contexte, l'élevage des larves de la mouche soldat noire (*H. illucens*) a suscité une attention considérable, car elles forment une source de molécules ayant plusieurs applications, on cite essentiellement les protéines, les lipides, la chitine et le chitosane(Figure5) (Almeida et al., 2020).



**Figure 5.** Les biomolécules des larves d'*Hermetia illucens* (Caligiani et al., 2017).

### 8.1 Les protéines

Les larves de la mouche soldat noire contiennent 37 à 63 % de protéines ; Cette teneur peut être affectée par plusieurs facteurs comme l'alimentation et le stade de la larve. Les protéines brutes augmentent immédiatement après l'éclosion et diminuent progressivement au cours du temps, pour atteindre un maximum de 38-39 % au 14ème jour du stade larvaire ; Elles augmentent ensuite pour atteindre, respectivement, 45-46% et 56-57% aux stades de la pré-pupe et de la pupa (Queiroz et al., 2021).

La délipidation des BSFL (Larves de la mouche soldat noire) augmente la teneur en protéines à 66%. La teneur en protéines brutes la plus basse documentée du BSF est de 35-36% et est supérieure à celle des matières protéiques d'origine végétale, y compris les tourteaux de tournesol, de coton et de lin, les drêches de distillerie de blé et les haricots. Les acides aminés limitants dans l'alimentation des volailles à base de céréales contenant du soja et du maïs sont: la lysine, la méthionine et la thréonine. En effet, les insectes ont des niveaux extraordinaires de ces acides aminés essentiels. Par rapport à la farine de gluten de maïs, les larves de BSF ont une teneur plus

élevée en leucine, en lysine et en arginine. L'histidine serait quatre fois plus importante dans le BSF que dans les farines de poisson. En ce qui concerne les acides aminés non essentiels, les quantités de proline, d'alanine et de tyrosine sont plus importantes dans le BSF que dans les farines de soja et de poisson (Shah et Çetingül, 2022). Le tableau 2 représente la composition en acides aminés des BSFL en comparaison à celle de la farine de poisson et de tourteau de soja.

**Tableau 2.** Composition en acides aminés des protéines des larves de la mouche soldat noire, la farine de poisson et le tourteau de soja (g/Kg de matière sèche) (Lu et al., 2022).

		BSFL					CSBM	FM	
		Indispensable amino acids							
Type	FF	DF	FF	FF	FF	FF	FF		
Arginine	19.9	20.7	21.1	54.7	62.0	21.9	18.7	35.7	41.0
Histidine	13.8	16.3	13.5	32.5	48.0	9.8	13.7	14.2	15.4
Isoleucine	19.1	24.0	17.7	47.3	48.0	19.1	20.6	22.1	27.3
Leucine	30.6	36.7	27.8	78.3	77.0	32.1	29.4	38.6	47.7
Lysine	23.0	25.2	28.1	68.2	74.0	27.2	25.9	31.1	48.7
Methionine	7.1	8.56	8.0	21.2	6.0	6.0	7.1	.68	18.5
Phenylalanine	16.4	21.8	16.4	77.6	62.0	18.3	18.7	25.5	26.4
Threonine	16.2	21.8	16.3	44.3	45.0	26.5	16.7	19.8	27.5
Tryptophan	5.4					5.6	6.3	6.6	6.7
Valine	28.2	34.5	25.0	67.9	67.0	28.7	28.8	21.7	32.7
		Dispensable amino acids							
Alanine	27.8	43.7	25.6	82.1	62.0		26.6	21.6	41.9
Aspartic acid	36.9	48.8	38.7	73.0	103.0		35.6	55.0	57.7
Cysteine	2.2	0.2	3.5	7.6	5.0	4.2	3.2	7.7	6.5
Glycine	25.2	30.3	24.6	61.5	54.0	26.8	24.8	21.3	50.3
Glutamic acid	45.8	63.7	46.1	131.0	102.0		38.4	88.6	84.1
Proline	25.1	32.7	23.6	66.8	62.0		23.1	27.4	30.8
Serine	15.9	26.8	17.6	48.8	41.0	19.2	15.2	24.1	25.9
Tyrosine		34.1		67.1	60.0	26.5	26.9	15.5	20.1

CSBM = conventional soybean meal, DF = defatted, FM = fish meal, FF = full fat.

## 8.2 Les lipides

Les lipides sont également un composant majeur de la biomasse des insectes et peuvent être une source importante de matières grasses. Les huiles d'insectes sont riches en acides gras saturés et polyinsaturés, en plus des acides gras essentiels courants tels que les acides linoléique et  $\alpha$ -linoléique. La composition lipidique des insectes varie également selon les espèces et le stade de vie. Chez *H. illucens*, la teneur en lipides est d'environ 13 % pendant le développement larvaire et 40 % avant la nymphose (Almeida et al., 2020).

En outre, la teneur en lipides dans les larves d'*H. illucens* dépend de l'apport alimentaire. Cela signifie que plus la teneur en lipides du substrat de croissance est élevée; plus la teneur en lipides des larves est élevée. Les lipides des larves d'*H. illucens* sont de haute qualité et sont considérées comme un sous-produit de l'alimentation animale (Almeida et al., 2020). La teneur en glucides alimentaires influence la teneur en lipides des BSFL par la conversion des glucides en lipides par les larves. Un substrat pauvre en protéines et riche en glucides peut entraîner une plus grande accumulation de lipides dans la biomasse des larves de BSF qu'une alimentation équilibrée (un

mélange de composants avec un rapport équilibré final de protéines, de lipides et de glucides) (Franco et al., 2021).

Les acides gras dérivés d'insectes sont plus appropriés et nutritifs que la farine de soja ou de palmiste sans nuire à la productivité, à la digestibilité ou à la santé intestinale. L'acide laurique, un acide gras saturé à activité antimicrobienne, représente 35 à 50 % des acides gras totaux de BSF. L'acide myristique est également plus élevé dans le BSF que dans le tourteau de soja. Des concentrations d'acide linoléique (31,4%) et d'acide  $\alpha$ -linoléique (1,6%) ont été retrouvées à la fin de la première semaine de développement contre 7% et 1,5% au jour 14 de développement des larves (Hoc et al., 2020). La composition détaillée en acides gras des larves de BSF est représentée dans le tableau 3.

**Tableau3.**Composition en acides gras des larves de la mouche soldat noire (g/kg de matière sèche) (Lu et al., 2022).

Type	FF	FF	FF	FF	FF	FF
C10:0	20.3		8.6	14.3		8.6
C12:0	575.6	75.0	459.7	526	468.6	407.9
C14:0	71.4	23.0	87	85.4	98.7	65.6
C15:0			1.5		143.8	1.3
C16:0	10.3	192.0	122.1	109	143.8	162.7
C18:0	9.8	69.0	25.3	15.3	17.9	14.3
SFA	782.9	362.0	707.2	750.0	742.4	664.2
C16:1	33.4	8.0	19.1	19.8	27.8	23.6
c9C18:1	79.7	266.0	112.4	61.6	77.3	182.4
c11C18:1	1.2			2.4		
MUFA	119.9	287.0	134.1	85.5	115.8	218.8
C18:2n-6	78.3	314.0	38.0	116.0	127.7	100.7
n-6 PUFA	80.0	314.0	142.2	119.0	106.0	100.9
C18:3n-3	11.0	36.0	16.5	10.1	9.8	16.0
C18:4n-3	0.5					
C20:5n-3	2.3					0.2
C22:6n-3	0.1					
n-3 PUFA	14.3	36.0	16.5	10.1	9.8	16.2
MUFA /SFA, %	15.3	79.3	18.9	11.4	15.6	32.9
n-3 PUFA/ n-6 PUFA, %	17.9	11.5	11.6	8.5	9.0	16.1

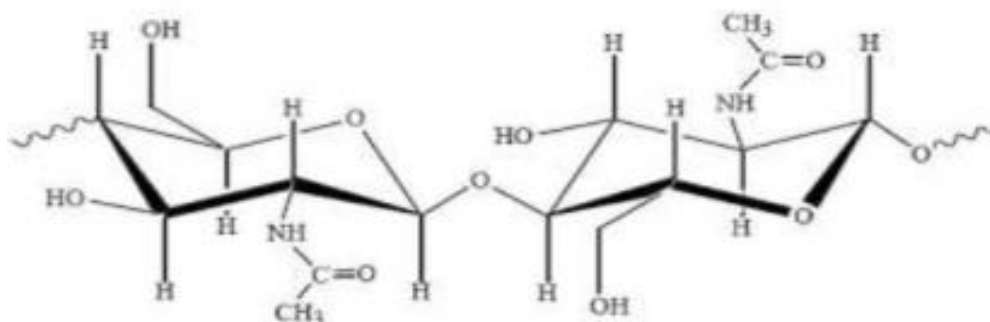
FF= matières grasses complètes des larves, SFA= acides gras saturés, MUFA=acides gras mono-insaturés, PUFA=acides gras polyinsaturés.

### 8.3 La chitine et le chitosane

Outre les protéines et les lipides, le biopolymère chitine, présent dans la peau des insectes, pourrait constituer une source de revenus intéressante. Une variante chimique du chitosane (chitine désacétylée) est un composé prometteur avec de nombreuses utilisations, par exemple comme flocculant dans les produits pharmaceutiques et le traitement des eaux usées (Hahn et *al.*, 2020).

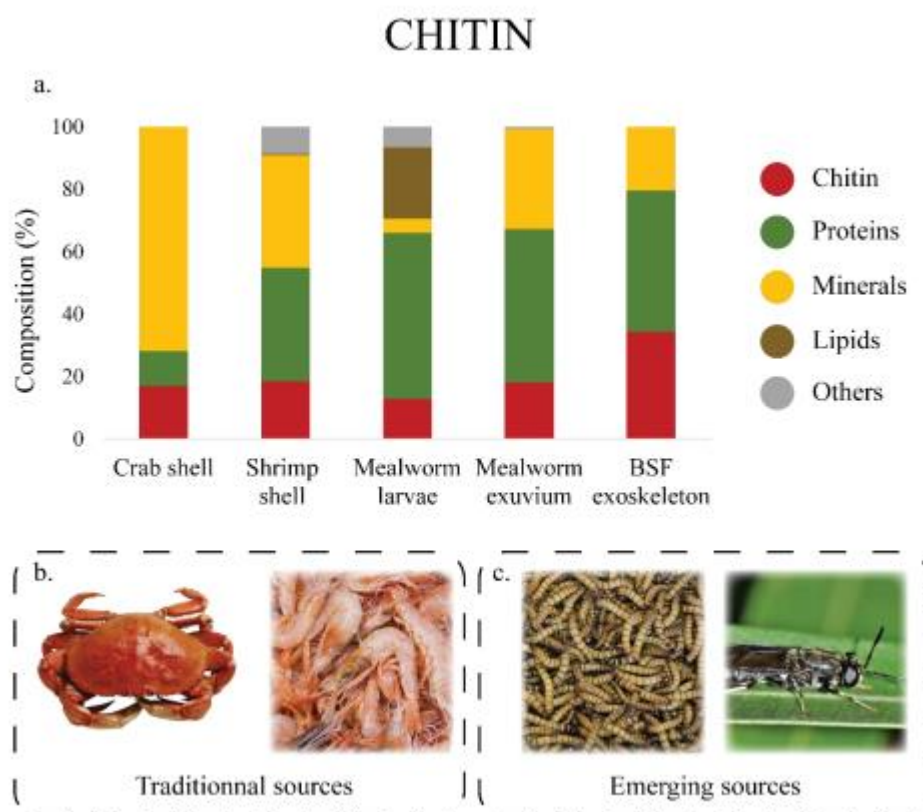
#### 8.3.1 La chitine

La chitine est un polymère formé à partir d'unités répétées de N-acétyl-D-glucosamine (Figure 6). C'est le deuxième composé organique le plus abondant après la cellulose sur terre (Muzzarelli, 1977). Ces chitines ont une structure cristalline  $\alpha$ . Le squelette est organisé avec de fortes liaisons hydrogène intermoléculaire (Tolaimate et *al.*, 2000). Ce polymère ne s'y dissout pas en raison de son utilisation avec des solvants ordinaires, par contre, le dérivé chitosane produit par les modifications chimiques de la chitine sont solubles dans les acides organiques dilués (Tolaimate et *al.*, 2003).



**Figure 6 :** Structure chimique de la chitine (Nugraha, 2006).

La source traditionnelle est constituée par les carapaces de crustacé présentes en quantités importantes sous forme de déchets de pêche. Cependant, de nouvelles sources de chitine sont apparues en tant que sous-produit de l'industrie des insectes récemment émergente. La figure 7 montre les sources principales et nouvelles d'extraction de la chitine ainsi que leur composition chimique.

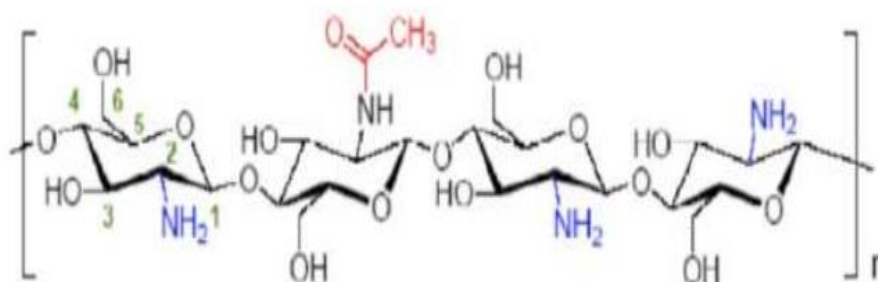


**Figure 7.** Sources traditionnelles (b) et émergentes (c) de la chitine, et leur composition (a) (Pasquier, 2022).

Selon la figure 7, les exuvies des larves de la mouche soldat noire sont les plus riches en chitine. Certains sous-produits du procédé de traitement des déchets BSFL pourraient être des sources intéressantes de chitine. Les exuvies et les mouches des petits BSF sont deux sous-produits de l'unité d'élevage, qui sont les plus riches en chitine. Les exuvies des larves (Figure 4) s'accumulent au cours de leur croissance ; Pendant la mue, les larves muent régulièrement et peuvent être collectées à la fois dans les écloseries et les unités d'élimination des déchets. Après l'accouplement et la ponte, les mouches meurent ; une fois la cage d'accouplement démontée, les mouches peuvent être facilement collectées, mais les exuvies de pupes et les peaux jetées ont tendance à se mélanger avec le compost ou les débris restants, de sorte qu'une étape de séparation supplémentaire est nécessaire avant le processus de nettoyage (Hahn et *al.*, 2020).

### 8.3.2 Le chitosane

Le chitosane est un polymère glucidique naturel de haut poids moléculaire obtenu par désacétylation partielle de la chitine (Figure 8), par transformation chimique ou microbiologique. Le chitosane est une fibre semblable à la cellulose, avec des propriétés uniques, notamment la capacité de former des Films (Youcefi et Riazi, 2012).



**Figure 8.** Structure chimiques du chitosane (Nugraha, 2006).

La principale différence entre la chitine et le chitosane est le degré d'acétylation (DA) ; la chitine a un DA supérieur à 80%, alors que pour le chitosane il ne dépasse pas 30%. La chimie du chitosane offre de nombreuses possibilités alternatives comme les modifications covalentes et ioniques qui permettent une large application de propriétés mécaniques et biologiques (Nugraha, 2006).

### 8.4 Les minéraux

Les larves de BSF sont riches en minéraux avec différentes teneurs. Le calcium (Ca) est le plus courant, allant de 1,2 g/kg à 35,7 g/kg de matière sèche de larves, selon que le BSFL a subi une délipidation ou non ; Le cuivre (Cu) varie de 0,1 g/kg à 15,0 g/kg ; Le fer (Fe) varie de 0,1 g/kg à 191,0 g/kg ; Le magnésium (Mg) varie de 1,0 g/kg à 3,5 g/kg ; Le manganèse (Mn) varie de 0,2 g/kg à 166,0 g/kg ; Le phosphore (P) varie de 1,0 g/kg à 10,3 g/kg ; Le potassium (K) varie de 1,7 g/kg à 15,4 g/kg ; Le sodium (Na) varie de 0,7 g/kg à 15,6 g/kg ; Le zinc (Zn) varie de 0,7 g/kg à 103,0 g/kg (Lu et al., 2022)

Cependant, en plus de l'accumulation des minéraux ci-dessus, des éléments toxiques et nocifs, tels que le baryum (Ba), le mercure (Hg) et le molybdène (Mo), s'accumulent également dans les BSF, créant des problèmes pour la production d'aliments pour animaux et la sécurité alimentaire (Lu et al., 2022).

## 9. Applications des biomolécules d'*Hermetia illucens*

### 9.1 Protéines et peptides

En général, les protéines et les peptides sont utilisés dans les formulations cosmétiques car ils jouent un rôle important dans l'homéostasie cutanée, aidant à maintenir l'hydratation de la peau et à réduire le vieillissement cutané. Le collagène et les peptides de collagène, issus principalement de sources animales, sont deux exemples de biomatériaux ayant ces applications cosmétiques (Almeida et *al.*, 2020).

### 9.2 Lipides et acides gras

Les acides gras étant couramment utilisés en cosmétique, d'autres composants de *H. illucens* peuvent être isolés ou utilisés comme complexes structuraux lipidiques. L'acide palmitique, l'acide oléique et l'acide linoléique, ainsi que d'autres acides gras essentiels, ont été identifiés comme des constituants importants de l'épiderme humain. L'acide oléique active le métabolisme des lipides, restaure la barrière cutanée et permet la rétention d'eau dans la couche cornée. L'acide myristique est utilisé dans les formulations cosmétiques pour épaissir et stabiliser les émulsions, mais il peut également restaurer les propriétés de barrière cutanée et améliorer la pénétration cutanée des actifs. L'acide palmitique et ses dérivés sont utilisés dans les crèmes et les lotions comme émulsifiants et émoullissants. L'acide linoléique joue un rôle physiologique dans le maintien de la barrière de perméabilité à l'eau de la peau, puisqu'il est un constituant des céramides acyl-glycosylés, qui jouent un rôle structurel dans la couche cornée (Almeida et *al.*, 2020).

### 9.3 Chitine et chitosan

Les fibres de chitine peuvent être utilisées comme sutures résorbables et matériaux de traitement des plaies et sont censées accélérer les taux de cicatrisation des plaies d'environ 75%. De plus, des études récentes ont montré que la chitine influence les réponses immunitaires innées et adaptatives, y compris sa capacité à recruter et activer des cellules immunitaires et à induire des cytokines. La chitine est également associée à des mécanismes de défense contre les infections parasitaires et peut réduire les réactions allergiques à certaines substances (Almeida et *al.*, 2020).

Après un processus de désacétylation, la chitine est convertie en chitosane. Ce polymère a de nombreuses utilisations et est couramment utilisé dans la purification de l'eau et le traitement des eaux usées. Cependant, il est également de plus en plus utilisé dans d'autres secteurs industriels, de l'agriculture à la pharmacie, des cosmétiques au textile (Almeida et *al.*, 2020).

# **CHAPITRE II**

## **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

## 1. Matériel

### 1.1 Les œufs d'*Hermetia illucens*

Une quantité de 15 g des œufs de l'insecte étudiée ont été fournis par KimmyFarm (Vietnam).

### 1.2 Les poulets de chair

Les poulets de chair de la race COBB 500 (femelles) ont été achetées à partir du centre de production de COQ HODNA, M'sila. L'alimentation des poulets de chair a été fournie du même centre.

### 1.3 Les souches bactériennes

Les bactéries utilisées dans l'évaluation de l'activité antibactérienne du chitosane extrait à partir de l'insecte étudiée sont toutes des souches de références (Tableau 4), fournies par le laboratoire de microbiologie au niveau du département de microbiologie et biochimie (Université de M'Sila).

**Tableau 4.** Souches bactériennes utilisées dans l'étude de l'activité antibactérienne.

Souche	GRAM	Référence
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	ATCC25923
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	ATCC27853
<i>Escherichia coli</i>	-	ATCC25922
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	ATCC13047

ATCC: American type culture collection.

### 1.4 Les souches fongiques

Deux moisissures ont été utilisées pour étudier l'activité antifongique de chitosane : *Aspergillus niger* et *Fusarium sp.* Elles ont été isolées à partir des denrées alimentaires contaminées et identifiées par Dr. HendelNoui (Département de microbiologie et biochimie, université de M'sila).

### 1.5 Les produits chimiques

Tous les produits chimiques utilisés proviennent de Sigma, Fluka, Biochem et Prolabo. Les solvants utilisés proviennent de Sigma-Aldrich, Honeywell et AnalaR NORMAPUR.

## 2. Méthodes

### 2.1 Détermination de la composition d'*Hermetia illucens*

#### 2.1.1 Délipidation (Extraction des lipides et des protéines)

Dans l'étape de délipidation, 60 g de la larve séchée et broyée ont été mélangés à 500 ml d'éther de pétrole, puis agités pendant 4 heures. Le mélange a été ensuite filtré pour obtenir deux parties : le rétentat qui forme l'ensemble des protéines et le filtrat qui contient les lipides en solution dans le solvant. Les protéines ont été séchées à l'étuve durant 12 h, puis conservées à 4°C. Pour obtenir les lipides, le filtrat a été soumis à une évaporation par un rotavapor pour éliminer l'éther de pétrole. La fraction lipidique obtenue a été séchée à l'étuve et conservée dans des eppendorfs à 4°C (Smets *et al.*, 2020).

Les rendements des protéines et des lipides sont exprimés en pourcentage et sont calculés par la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = \left( \frac{\text{Masse des lipides ou des protéines secs}}{\text{Masse initiale de la larve sèche}} \right) \times 100$$

#### 2.1.2 Dosage des protéines

Après délipidation et récupération de la fraction des protéines, ces dernières ont été quantifiées par la méthode de Kjeldahl. Cette méthode se base sur la détermination du taux d'azote dans l'échantillon, en faisant une déminéralisation en premier lieu pour dégrader la matière organique en sels d'ammonium en utilisant une hydrolyse acide à chaud. La deuxième étape est la distillation de l'ammonium par la soude pour obtenir l'ammoniac. Enfin, le dosage est réalisé par une solution étalon d'acide fort (Saez-Plaza *et al.*, 2013).

#### 2.1.3 Extraction de la chitine

L'exuvie (enveloppe rigide renfermant la larve) a été soumise à une série de traitements afin d'extraire la chitine ; ce traitement se déroule en trois étapes essentielles : une déminéralisation, une déprotéinisation et une étape de décoloration.

##### 2.1.3.1 Déminéralisation

Dans l'étape de déminéralisation, 25 g d'exuvies broyées ont été introduits dans une solution d'acide chlorhydrique (HCl, 1L), à 55°C pendant 2h pour drainer les minéraux, tels que le carbonate, le sodium, le magnésium, le potassium, le fer, le calcium, la silice et l'aluminium. Ensuite le mélange déminéralisé a été filtré pour éliminer le HCl, puis lavé plusieurs fois en

utilisant l'eau distillée pour obtenir un pH neutre, et enfin séché à l'étuve pendant 12h à une température de 50°C (Bagriaçiket *al.*, 2020).

### 2.1.3.2 Déprotéinisation

Dans cette étape, l'exuvie déminéralisée a été chauffée à 50°C dans une solution de NaOH (1M) pendant 4h. Ce traitement permet d'éliminer la plupart des protéines. Une filtration sous vide pour éliminer le NaOH, suivie d'un lavage à l'eau distillée ont été réalisés. Après filtration pour éliminer l'excès d'eau distillée, la chitine récupérée a été séchée à l'étuve pendant 12h à 50°C (Soetemanset *al.*, 2020).

### 2.1.3.3 Décoloration

Les échantillons de chitine isolés ont été décolorés dans un mélange d'eau distillée (40 ml), de méthanol (20 ml) et de chloroforme (10 ml), à température ambiante pour éliminer les pigments et les huiles. Le mélange a été agité pendant 40 min. Après la filtration, les échantillons ont été lavés soigneusement à l'eau distillée avant d'être placés dans une étuve à 50°C pendant une semaine (Kaya et *al.*, 2016).

Le rendement de la chitine a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = (\text{Masse de la chitine sèche} / \text{Masse initiale d'exuvie}) \times 100$$

### 2.1.4 Extraction de chitosane

Le chitosane résulte de la désacétylation de la chitine. La chitine obtenue a été immergée dans une solution de NaOH (45%) à 22 °C pendant 4 jours, puis lavée à l'eau distillée jusqu'à avoir un pH égale à 7, puis séchée dans l'étuve à 55°C (Rinaudo, 2006).

Le rendement du chitosane est exprimé en pourcentage et est calculé comme suit :

$$\text{Rendement (\%)} = (\text{Masse de chitosane sec} / \text{Masse initiale d'exuvie}) \times 100$$

### 2.1.5 Caractérisation de chitosane par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

Le chitosane obtenu a été finement broyé, puis encapsulé dans le bromure de potassium (KBr) pour préparer les disques translucides. L'échantillon préparé a été ensuite analysé par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier pour confirmer la structure de chitosane. Les spectres d'échantillons ont été obtenus avec une gamme de fréquence de  $\lambda=500-4000 \text{ cm}^{-1}$ .

## **2.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne de chitosane**

### **2.2.1 Préparation de l'inoculum**

Les souches bactériennes sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance pendant 24 h à 37 °C. Les champignons sont cultivés sur le milieu nutritif Potato Dextrose Agar (PDA) pendant 7 jours à 25 °C. Une colonie de chaque bactérie a été prélevée et introduite dans 9 ml d'eau physiologique contenue dans un tube stérile. Après agitation, l'inoculum a été ajusté à une turbidité standard de 0.5 McFarland, ce qui correspond à une densité optique de 0.08-0.13 à une longueur d'onde de 620 nm. La concentration finale de l'inoculum est approximativement de l'ordre de 10<sup>7</sup>-10<sup>8</sup> ufc/ml (Khrich et *al.*, 2018).

### **2.2.2 Etude de l'activité antibactérienne (Méthode des disques de diffusion ou aromatoگرامme)**

La technique utilisée pour étudier l'activité antibactérienne de chitosane est celle de la diffusion sur disque en milieu gélosé. Les milieux MHA (Mueller Hinton Agar) coulés en boîtes de Petri sontensemencés par écouvillonnage de suspensions bactériennes préalablement préparées. Dans des conditions aseptiques, le chitosane dissout dans l'acide acétique (1%) est déposé à un volume de 30 µl sur des disques de papier Whatman stériles placés à la surface des milieux. L'acide acétique (1%) seul a été utilisé comme contrôle négatif et les disques de gentamycine (10 µg/disque) ont été utilisés comme contrôle positif. Les boîtes ont été maintenues à 4°C pendant 1 heure pour que le chitosane puisse diffuser, et elles ont été ensuite incubées pendant 24 heures à 37°C. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en millimètre (Mouas et *al.*, 2017). Les souches testées sont considérées non sensibles pour les diamètres de 8 mm; sensibles pour les diamètres de 9 à 14 mm ; très sensibles pour les diamètres de 15 à 19 mm et extrêmement sensibles pour les diamètres plus de 20 mm (Ponce et *al.*, 2003).

### **2.2.3 Etude de l'activité antifongique (Méthode des disques de diffusion)**

L'effet de chitosane sur la croissance fongique a été déterminé par la méthode des disques de diffusion. Brièvement, les milieux PDA coulés en boîtes de Petri (90 mm) sont inoculés au centre par des disques de 7 mm pris de cultures fongiques âgées de 7 jours. Dans des conditions aseptiques, des aliquotes (30µl) de chitosane (dissout dans l'acide acétique à 1%) sont déposés sur des disques de papier Whatman stériles placés sur le PDA à trois points équidistants du centre et des bords de la boîte de Petri. Les boîtes ont été maintenues à 4°C pendant 1 heure et elles ont ensuite été incubées pendant 7 jours à 25°C. Le chitosane a été remplacé par l'acide acétique dans les témoins. La mesure des diamètres d'inhibition s'est basée sur le calcul de la différence entre le

diamètre du témoin et celui de la culture test et le taux d'inhibition est mesuré selon la formule suivante (Stanojevic et *al.*, 2017) :

$$I\% = [(Dc-Dt)/Dc] \times 100$$

Où

I% : Taux d'inhibition de la croissance du mycélium en pourcentage.

Dc : Diamètre de la colonie fongique du témoin (mm).

Dt : Diamètre de la colonie fongique traitée par le chitosane (mm).

## **2.3 Utilisation d'*Hermetiaillucens* dans l'alimentation des poulets de chair**

### **2.3.1 Elevage d'*Hermetiaillucens***

Environ 15 grammes d'œufs de mouche soldat noir ont été placés sur une grille métallique à une distance de 10 cm au-dessus d'un mélange de sucre, de lait en poudre et de son de blé mélangés à l'eau minérale. La température a été maintenue de 27 à 30°C et l'humidité atteignant 70 % pendant cinq jours, en ajoutant le mélange des aliments d'une façon régulière et l'eau pour le rendre le mélange doux et humide

Après une période de sept jours, les larves microscopiques commencent à émerger. Il est conseillé de disposer du son de blé sec le long des rebords de la boîte afin d'empêcher les larves de s'échapper et de grimper sur les parois. Afin de garantir une croissance optimale des larves, il est essentiel de maintenir un taux d'humidité compris entre 70 % et 80 %, ainsi qu'une température située entre 25 et 30°C. Il est également nécessaire de veiller à une bonne ventilation de l'environnement et de réaliser deux retournements par jour.

Au dixième jour, les larves sont isolées dans le but d'augmenter leur teneur en protéines, puis placées dans de nouveaux récipients (Figure 9). Un mélange organique est ajouté selon la composition suivante :

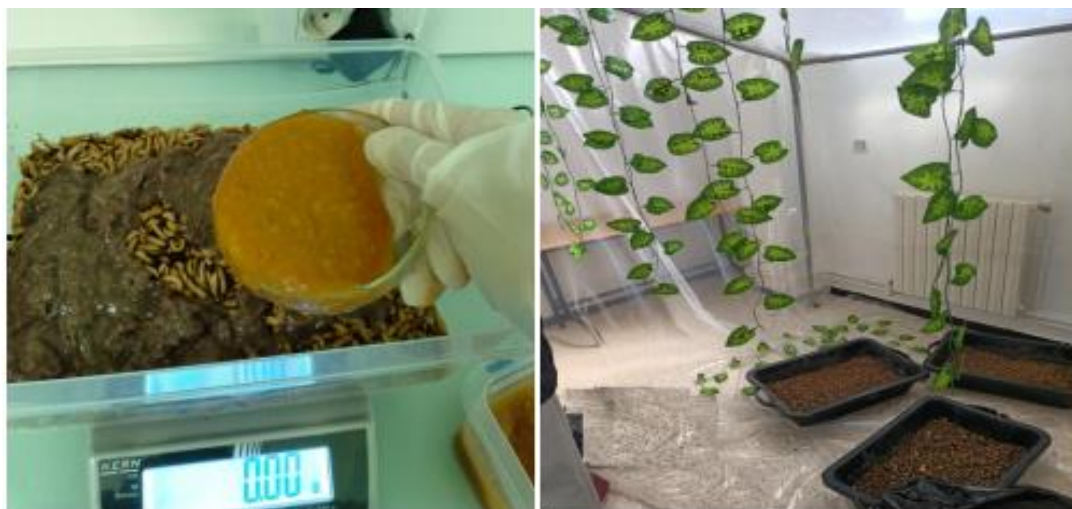
- 50 % d'entrailles de volaille : utilisées en tant que source riche en protéines, en matières grasses et en acides aminés essentiels.
- 20 % de fibres végétales : fournissant des fibres alimentaires et contribuant à l'amélioration de la digestion des larves.
- 10 % de feuilles hachées : offrant une source supplémentaire de fibres et de nutriments naturels.

- 20 % de déchets de cuisine : comprenant des restes de légumes, de fruits et d'autres aliments organiques, apportant une variété nutritionnelle et améliorant la texture de l'aliment.

Le rapport larves/aliment est calculé en fonction du poids des larves, avec une proportion de 3/1, respectivement, afin de fournir une quantité adéquate de nourriture. Lorsque les larves atteignent un poids de 0,22 g, elles commencent à former une enveloppe externe sombre, ce qui coïncide avec une diminution de leur appétit. Les larves noires (pupes) sont alors collectées en augmentant la teneur en eau de l'aliment, ce qui les incite à quitter l'alimentation à la recherche d'un environnement sec, sombre et chaud.

Les pupes sont collectées et placées dans des récipients contenant une couche de sciure de bois d'une épaisseur de trois centimètres. Ces récipients sont soigneusement disposés dans une chambre entièrement obscure afin de créer un environnement propice. La température est maintenue à 28°C, tandis que l'humidité est maintenue à un niveau de 30%. Une ventilation adéquate est assurée tout au long de la journée afin de favoriser les échanges gazeux et d'éviter toute accumulation d'humidité ou de gaz nocifs.

Après 10 à 15 jours de dormance, les mouches commencent à émerger (Figure 9). Elles sont placées dans des cages à mouches, où une humidité élevée est maintenue en ajoutant de l'eau et du sucre. La température est maintenue autour de 30°C, et une forte intensité lumineuse est fournie, de préférence en exposant les cages à la lumière du soleil pendant cinq heures par jour.



**Figure 9.** Elevage d'*Hermetia illucens*. A gauche : Alimentation des larves. A droite : Chambre d'élevage des mouches.

Après quatre jours d'apparition des mouches, un groupe de morceaux de bois est disposé les uns sur les autres, en laissant un espace de 2 mm entre chaque pièce de bois. Au-dessus de cet arrangement, un mélange de bananes et de pommes fermentées est placé. Chaque femelle dépose entre 500 et 1000 œufs. Les œufs sont collectés au 10<sup>ème</sup> jour après l'émergence des mouches, et le processus d'éclosion est répété.

Cette approche scientifique permet de contrôler et de reproduire le cycle de vie des mouches pour une production optimale d'œufs. Les conditions de température, d'humidité et d'éclairage sont soigneusement ajustées pour favoriser le développement et la ponte des mouches (Dortmans et al., 2017).

### 2.3.2 Substitution de soja par *Hermetiaillucens* dans l'alimentation des poulets de chair

Dans le but d'étudier l'adoption d'un programme alimentaire basé sur les larves du soldat noir (*Hermetiaillucens*) en tant que source de protéines dans l'alimentation des poulets de chair, et de l'utiliser en substitution partielle ou totale du soja. Nous avons évalué les performances de croissance, la qualité de la viande des poulets de chair (Cobb 500) nourris avec des régimes contenant des larves de soldat noir (Murawska et al., 2021).

L'expérience a été réalisée sur 250 poulets de race Cobb 500. Les poulets ont été pris à l'âge de 7 jours, puis répartis en 5 groupes : G1, G2, G3, G4 et G5. Le poids moyen des poulets était de  $186.72 \pm 1.77$  g. Le groupe G1 (contrôle) a reçu l'alimentation commerciale standard des poulets, dont la composition est comme suit (Tableau 5) :

**Tableau 5.** Composition de l'alimentation standard des poulets de chair.

Composant (g)	Démarrage (Semaine 1)	Croissance (Semaine 2 à 5)
Mais	500	550
Son de Blé	20	20
Tourteau de soja	400	350
Huile de soja	2.5	2.5
Farine de poissons	50	50
Complément (minéraux/vitamines)	0.5	0.5
Acidesaminés	2	2
<b>Calories</b>	<b>2997 Cal</b>	<b>2800 Cal</b>

Pour les autres groupes (G2 à G5), différentes formulations ont été utilisées pour le remplacement de soja (source de protéines dans l'alimentation initiale), selon les pourcentages suivants (Tableau 6) :

**Tableau 6.** Remplacement de soja par les larves de soldat noir dans les groupes des poulets de chair.

<b>Groupe</b>	<b>Pourcentage des larves de soldat noir (BSFL)</b>
G1	00%
G2	15%
G3	25%
G4	50%
G5	100%

BSFL: Black Soldier Fly Larvae.

Durant les cinq semaines de l'expérimentation, des installations spécifiques ont été utilisées pour mener l'expérience (salles d'élevage de volailles) en offrant les conditions nécessaires à la croissance des poulets. Le poids des poulets des cinq groupes a été suivi et enregistré chaque semaine durant la période de l'expérience et la qualité de viande a été vérifiée par des laboratoires spécialisés.

**CHAPITRE III**  
**RÉSULTATS ET**  
**DISCUSSION**

## 1. Teneur en lipides et en protéines d'*Hermetia illucens*

Après extraction des protéines et des lipides à partir des larves d'*Hermetia illucens*, les teneurs en lipides et en protéines ont été calculées et exprimées en pourcentage. La teneur en lipides est égale à 37.66 %, alors que celle en protéines est de 24.82%.

Selon l'étude réalisée par Hopkins et al., (2021), le pourcentage de lipides dans la larve étudiée peut varier de 0 à 42.9 % selon l'alimentation utilisée dans l'élevage de la larve ; les lipides sont moins fréquents lorsque l'alimentation est formée de pommes et de déchets de pain, alors qu'ils atteignent une valeur maximale pour l'alimentation formée de déchets de volaille. De même pour les protéines, leur teneur est dépendante de l'alimentation, elle varie de 0.4 (pommes) à 72.7 % (déchets du poisson *Sardinella aurita*). Dans une autre étude réalisée par Wang et Shelomi (2017) sur la composition des larves d'*Hermetia illucens*, la teneur en lipides était estimée de 29% et celle des protéines était de 42%.

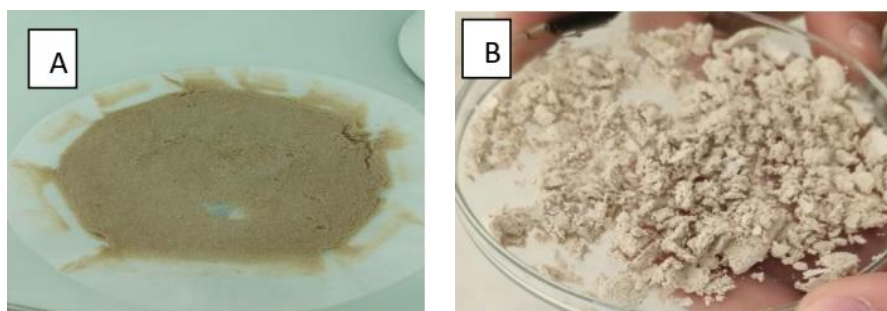
Pour le dosage des protéines effectué par la méthode de Kjeldahl sur l'échantillon des larves après élimination des lipides par l'éther de pétrole, on a trouvé que la teneur totale en protéines augmente après délipidation à 86%.

## 2. Extraction de chitine et de chitosane

Après extraction de la chitine, une désacétylation a été effectuée pour obtenir le chitosane. Les caractéristiques de chitine et de chitosane obtenus sont résumées dans le tableau 7 et la figure 10.

**Tableau 7.** Aspects de la chitine et de chitosane extraits d'*Hermetia illucens*.

<i>Caractères</i>	<i>Chitine</i>	<i>Chitosane</i>
<i>Couleur</i>	Beige	Beige clair
<i>Aspect</i>	Poudre semi rigide	Poudre semi rigide
<i>Odeur</i>	Inodore	Inodore

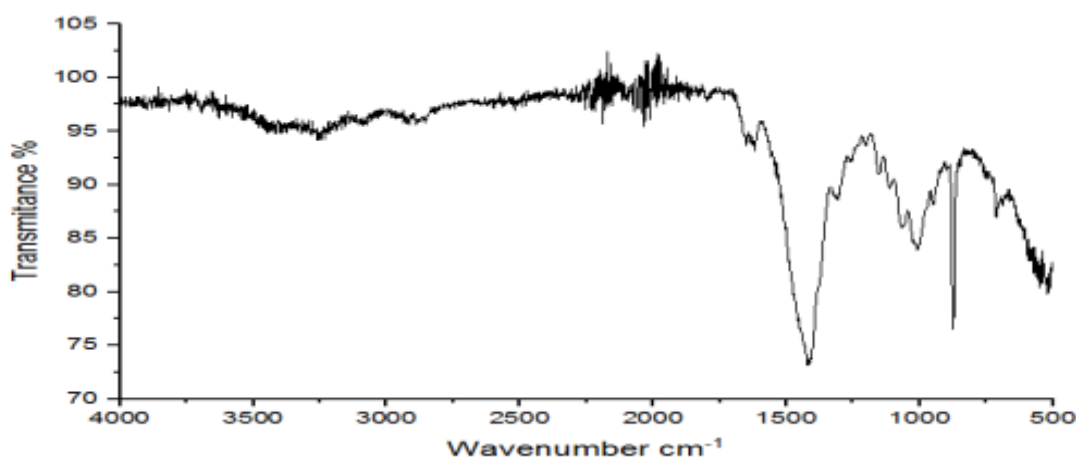


**Figure 10.** Apparence de la chitine (A) et le chitosane (B), extraits d'*Hermetia illucens*.

Dans cette étude, le rendement de chitine et de chitosane obtenus est de 20.8% et 14.39%, respectivement. Plusieurs études ont été menées sur l'extraction de ces deux molécules à partir de puparium de cet insecte ; dans l'étude de Lagat et *al.*, (2021), les rendements de chitine et de chitosane sont de 10.18% et 6.58%, respectivement. Une autre étude réalisée par Zimri et Natasha (2018) a mentionnée que la teneur était de 13% (chitine) et 11% (chitosane) ; ces résultats sont inférieurs aux résultats trouvés dans notre étude. Dans l'étude de Soetemans et *al.*, (2020), le rendement en chitine était de 23%, et dans celle d'Antonov et *al.*, (2019) était de 21.3%, ce qui est très proche de nos résultats.

### 3. Caractérisation du chitosane par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

Après analyse de chitosane extrait des exuvies des larves de la mouche soldat noire par spectroscopie infrarouge, le spectre obtenu est représenté dans la figure 11. La structure de chitosane a été confirmée par Dr. Abdellaoui Karima (Département de microbiologie et biochimie, université de M'sila).



**Figure 11.** Spectre infrarouge du chitosane extrait à partir d'*Hermetia illucens*.

## 4. Activité antimicrobienne de chitosane

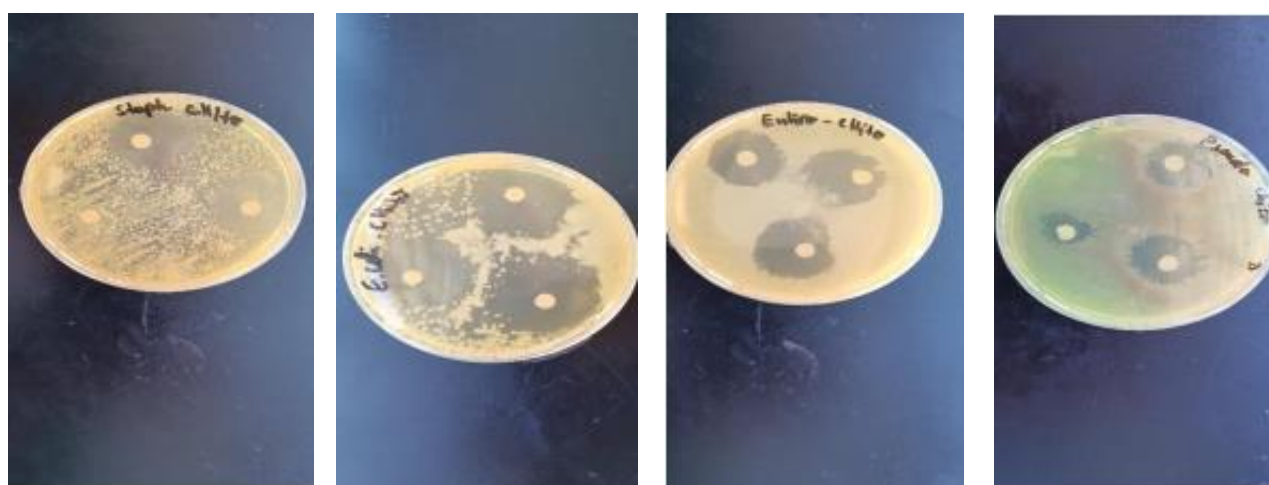
### 4.1 Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne du chitosane d'*Hermetia illucens* contre les bactéries testées est évaluée par la méthode des disques de diffusion (aromatogramme). Leur potentiel antibactérien est évalué par la mesure du diamètre des zones d'inhibition. Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau 8 et la figure 12.

**Tableau 8.** Diamètres des zones d'inhibition (mm) résultant de l'effet antibactérien de chitosane d'*Hermetia illucens* (2 mg/ml, 30 µl/disque), et de la gentamicine (10 µg/disque).

Souche	Chitosane	Gentamicine
<i>Staphylococcus aureus</i>	27.5 ± 3.53	35.33 ± 0.57
<i>Escherichia coli</i>	30 ± 0	25 ± 1
<i>Enterobacter cloacae</i>	25 ± 2	28.33 ± 2.88
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	38.5 ± 2.12	20.5 ± 4.94

L'antibiotique utilisé comme contrôle positif pour l'évaluation de l'activité antibactérienne est la gentamicine (GM) (10 µg/disque). Il appartient à la famille des aminosides (ou aminoglycosides) qui ont un large spectre d'activité contre les bactéries Gram positif et Gram négatif (Nauciel et Vildé, 2005). Dans cette étude, toutes les souches testées ont montré une sensibilité extrême à la gentamicine (diamètres variant de 20.5 à 35.33 mm).



**Figure 12.** Activité antibactérienne de chitosane extrait à partir d'*Hermetia illucens*.

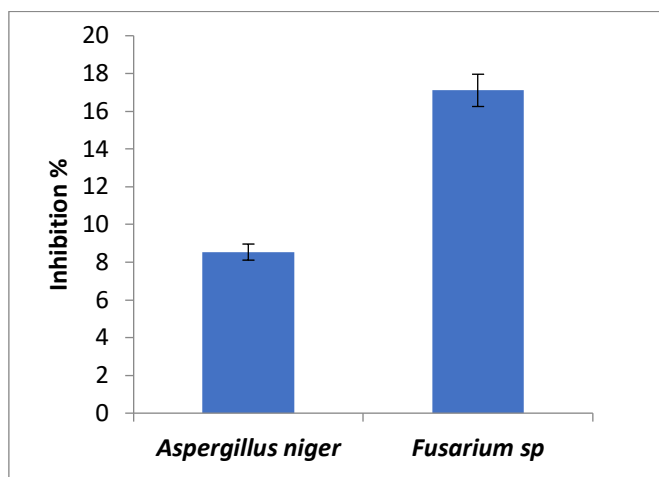
On note que l'activité antibactérienne la plus élevée est celle contre *Pseudomonas aeruginosa* (38.5 mm), suivie d'*Escherichia coli* (30mm), puis *Staphylococcus aureus* (27.5mm) et enfin *Enterobacter cloacae* (25mm). Pour les souches *E. coli* et *P. aeruginosa*, le chitosane a provoqué une inhibition plus importante que celui de la gentamycine (GM : 25 mm et 20.5 mm, respectivement), on peut dire alors que ces bactéries sont qualifiées extrêmement sensibles au chitosane. Alors que pour les souches *S. aureus* et *E. cloacae*, la gentamycine était plus efficace avec des zones d'inhibition de 35.33 mm et 28.33 mm, respectivement, ces deux souches sont aussi extrêmement sensibles au chitosane.

Dans une étude menée par Lagat et al., (2021), *E. coli* était extrêmement sensible au chitosane d'*Hermetia illucens* par une zone d'inhibition de 25.3 mm, alors que *S. aureus* (21.67mm) et *P. aeruginosa* (18.33 mm) ont été très sensibles à cette molécule, à une concentration de 2.5 mg/ml ; donc ces valeurs sont proches à nos résultats à l'exception de ceux concernant *P. aeruginosa*.

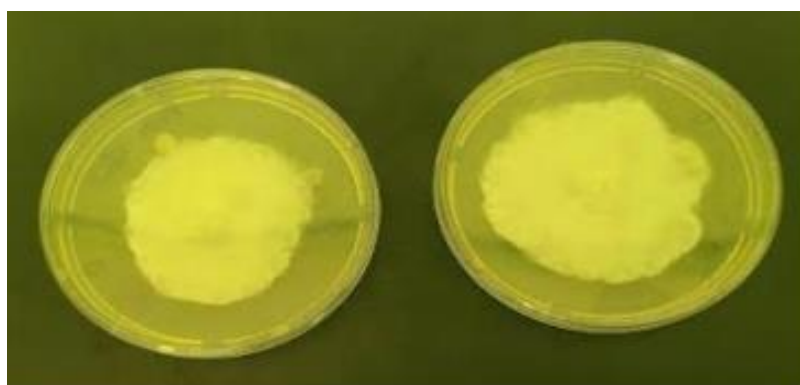
Les activités antimicrobiennes de la chitine et du chitosane contre une grande variété de micro-organismes ont été largement étudiées (Islam et al., 2017). Il a été démontré que la chitine n'a pas d'activité antimicrobienne substantielle parce qu'elle est naturellement non chargée et insoluble (Ólafsdóttir et al., 2020). Cependant, le chitosane s'est avéré avoir des activités antifongiques, antibactériennes et antivirales ; toutefois, son activité antimicrobienne est plus élevée contre les champignons que contre les bactéries (Mohamed et Madian, 2020). Le chitosane inhibe la croissance de nombreuses bactéries pathogènes, telles que *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*., son activité est souvent plus élevée contre les souches à Gram positif que ceux à Gram négatif, cela pourrait être dû aux différences entre leurs structures de surface et la composition de leurs parois cellulaires (Xing et al., 2017). Différents mécanismes ont été proposés et décrits pour les activités antibactériennes directes du chitosane ; le principal mécanisme d'action proposé est lié à ses propriétés cationiques (Chandrasekaran et al., 2020). Le mécanisme implique des interactions électrostatiques où les charges positives des molécules de chitosane interagissent avec les charges négatives de la surface des agents pathogènes (Fuster et al., 2020). Cette interaction entraîne la destruction de la structure cellulaire, des altérations importantes de la surface cellulaire et une perméabilité accrue de la membrane cellulaire. Un autre mode d'action proposé pour le chitosane implique la modification de la perméabilité cellulaire (Inbaraj et al., 2020). Il s'agit notamment de son dépôt à la surface des cellules pathogènes, ce qui entraîne la création d'une couche polymérique imperméable qui inhibe l'absorption des nutriments dans la cellule et les changements dans la sécrétion des métabolites dans la matrice extracellulaire. Le chitosane est également capable de regrouper certains nutriments essentiels, oligo-éléments et métaux nécessaires à la croissance microbienne, inhibant ainsi leur croissance et la production de toxines (Xing et al., 2017).

## 4.2 Activité antifongique de chitosane

L'activité antifongique du chitosane d'*Hermetia illucens* a été évaluée vis-à-vis de deux moisissures (*Aspergillus niger* et *Fusarium sp*) sur milieu PDA par la méthode de diffusion en disques. Les résultats de cette méthode sont représentés dans les figures 13, 14 et 15.

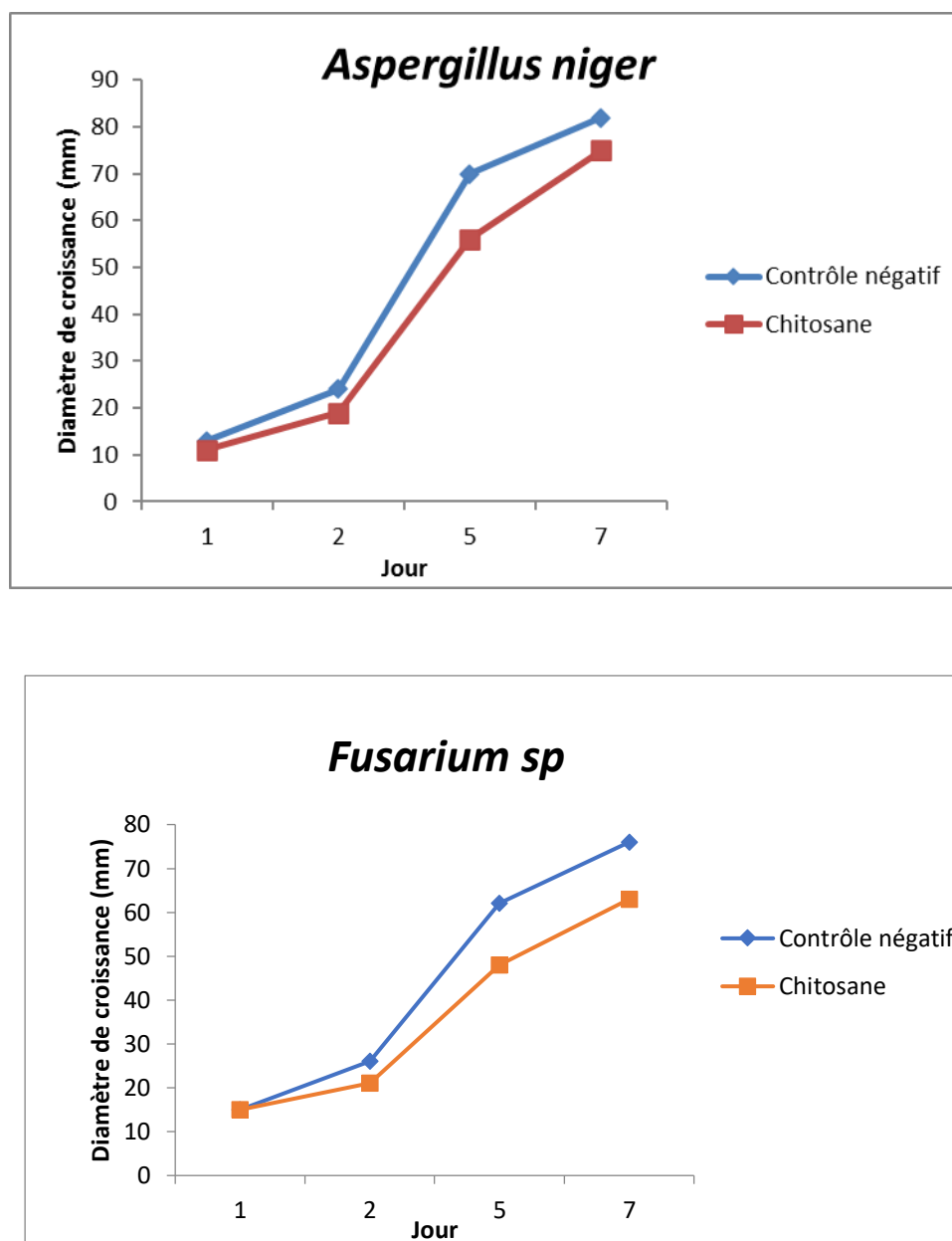


**Figure 13.** Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne par le chitosane d'*Hermetia illucens* (7<sup>ème</sup> jour d'incubation).



**Figure 14.** Activité antifongique du chitosane d'*Hermetia illucens* (à gauche), par rapport au contrôle négatif (à droite), contre *Fusarium sp*. (5<sup>ème</sup> jour d'incubation).

Les résultats de cette méthode représentés dans la figure 13 montrent que le chitosane a provoqué une inhibition faible des moisissures étudiées, avec des pourcentages d'inhibition inférieurs à 20% (8.5% pour *Aspergillus niger* et 17% pour *Fusarium sp*). Dans les travaux de Lagat et *al.*, (2021), ils ont trouvé une inhibition de 22% pour *Candida albicans* à une concentration de 2.5 mg/ml. Une autre étude menée par Khayrova et ses collaborateurs (2020) a mentionné que le chitosane inhibe la croissance de la moisissure *Fusarium oxysporum* de 50% pour une concentration de 1.8 mg/ml.



**Figure 15.** Cinétique de la croissance fongique en présence de chitosane et d'acide acétique à 1% (contrôle négatif).

Dans la figure 15, on remarque l'augmentation du diamètre de croissance de toutes les moisissures au cours du temps ; cependant la croissance en présence de chitosane est moins importante par rapport au contrôle négatif (acide acétique à 10%).

Plusieurs mécanismes d'action ont été décrits pour expliquer l'activité de chitosane contre quelques champignons. Premièrement, le chitosane affecte la membrane cellulaire par le biais d'interactions électrostatiques avec les phospholipides chargés négativement ; une fois la membrane cellulaire perturbée, le chitosane est capable de pénétrer dans la cellule (Ma et al.,

2017). Cela pourrait conduire à l'inhibition de la synthèse de l'ADN/ARN et à la perturbation de la synthèse des protéines (Li et Zhuang, 2020). Cependant, pour les champignons résistants au chitosane, il semble que le chitosane soit incapable de traverser la membrane cellulaire et reste à la surface extérieure (Verlee et *al.*, 2017). La raison pour laquelle le chitosane n'est pas en mesure de perturber la membrane cellulaire des champignons résistants au chitosane est due à la différence de fluidité de la membrane cellulaire (Lopez-Moya et *al.*, 2021).

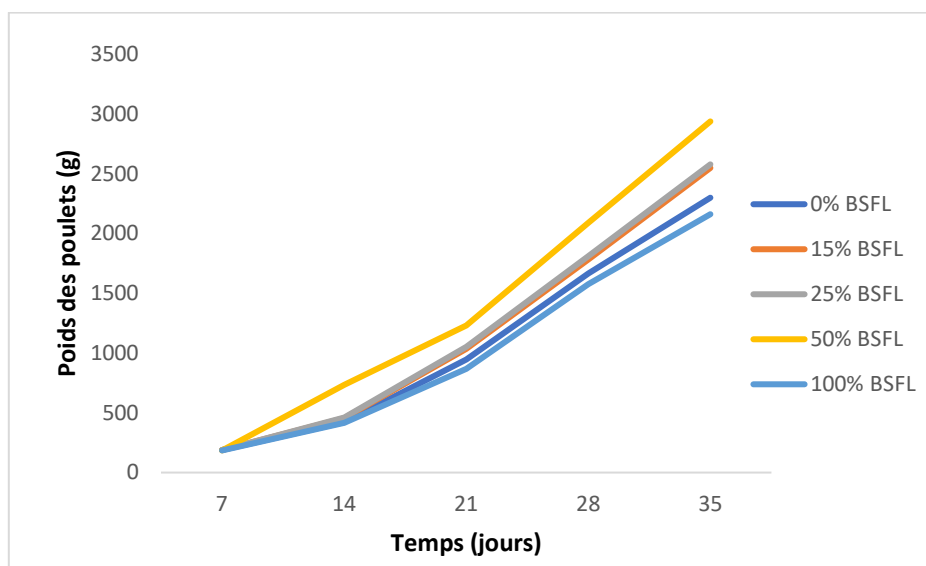
L'activité antifongique du chitosane dépend de plusieurs facteurs tels que le poids moléculaire, le degré de désacétylation, la concentration en chitosane et le pH (Confederat et *al.*, 2021). L'influence du poids moléculaire et du degré de désacétylation semble dépendre des souches testées (Riaz Rajoka et *al.*, 2020). Comme pour l'activité antibactérienne, l'activité antifongique du chitosane est plus importante à des pH plus bas (Perinelli et *al.*, 2018). En général, l'activité antibactérienne dans notre étude a été plus importante que l'activité antifongique.

## **5. Utilisation d'*Hermetia illucens* dans l'alimentation des poulets de chair**

Pendant une période de cinq semaines, une étude a été menée, afin de vérifier l'effet du remplacement de la farine de soja dans l'alimentation des poulets de chair par la larve d'*Hermetia illucens*. Les paramètres qui ont été suivis pour connaître l'effet de la larve sont le poids des poulets, la qualité de la viande et la mortalité.

### **5.1 Poids des poulets**

Les résultats obtenus après suivie de changement du poids des poulets appartenant aux cinq groupes de l'expérience sont résumés dans la figure 16.



**Figure 16.** Changement de poids des poulets en fonction du temps.

D'après les résultats obtenus, on a noté qu'à la fin de la première semaine, le poids des poulets de tous les groupes est plus ou moins le même. Après, le poids des poulets a continué d'augmenter pour tous les groupes. A la fin de la 5<sup>ème</sup> semaine, le poids moyen du groupe G1 contrôle qui n'a pas consommé la larve (0% BSFL) est de 2299,2 g. Ce poids moyen du 1<sup>er</sup> groupe est proche à celui du G5 (100% BSFL), qui a été estimé de 2161g. Pour les groupes G2 (15 % BSFL) et G3 (25 % BSFL), les poids moyens de ces deux groupes ont été proches et estimés de 2548,2 g et 2578,1 g, respectivement. Enfin, le (50 % BSFL) avait le poids moyen le plus élevé par rapport aux autres groupes.

Pour le gain de poids, le groupe G5 (100 % BSFL) a perdu un poids moyen de 138.2g par rapport au groupe contrôle G1 (0 % BSFL) ; le groupe G2 (15 % BSFL) avait un gain de poids moyen de 249 g et G3 (25% BSFL) de 278.9 g par rapport au groupe contrôle. Le gain de poids le plus important a été montré par le groupe G4 (50 % BSFL) par une valeur de 638.2 g.

Les résultats obtenus par Murawska et *al.*, (2021), ont démontré que le remplacement du tourteau de soja par des teneurs élevées (50%, 75 % ou 100 %) de la farine d'*Hermetia illucens* riche en matières grasses dans l'alimentation des poulets de chair tout au long de la période d'élevage est défavorable. Les résultats de cette étude ont montré que les poulets de chair nourris avec des régimes à taux élevés de la larve étudiée ont consommé moins d'aliments que les poulets nourris avec des régimes standards, ce qui s'est traduit par une baisse de poids moyen des poulets.

Dans une autre étude réalisée par Opoku et ses collaborateurs (2018), il a été établi que la larve étudiée peut complètement remplacer le tourteau de soja sans aucun effet significatif sur les performances de croissance, les caractéristiques de la carcasse et le profil sanguin. La larve n'a pas été en mesure de remplacer complètement la farine de poisson car les résultats de l'étude ont indiqué de manière significative une performance négative des oiseaux sur tous les paramètres de croissance et de carcasse, par rapport au régime à base de farine de poisson.

## **5.2 Qualité de viande**

La qualité de viande a été vérifiée pour tous les groupes de poulets de l'expérience et a été validée par les abattoirs qui ont confirmé que la viande de tous les poulets est conforme aux normes.

## **5.3 Mortalité**

Durant la première semaine de l'étude, aucune mortalité n'a été enregistrée dans les groupes de poulets étudiés. Pour la 2ème semaine d'étude, une mortalité de 2% a été enregistrée dans le groupe 2 (15 % BSFL). De la 3ème à la 5ème semaine, nous avons remarqué que la mortalité la plus élevée (16 %) était enregistrée dans le groupe 1 (0% BSFL) et le groupe 5 (100% BSFL) ; pour le groupe 2 (15% BSFL), on a enregistré une mortalité de 6 % ; alors que pour les groupes G3 (25% BSFL) et G4 (50% BSFL), aucune mortalité n'a été enregistrée.

# **Conclusion**

En raison du processus de bioconversion durable de la matière organique utilisée comme substrat pour son développement, la biomasse des larves d'*Hermetia illucens* est considérée comme une source de composés à haute valeur agrégée et comme un marché très prometteur. Les matières qui peuvent être extraites des larves d'*Hermetia illucens* ont ouvert la voie à un nouveau domaine d'ingrédients divers, principalement pour l'industrie de l'alimentation animale et humaine, mais aussi avec une applicabilité potentielle comme antibiotiques et cosmétiques. Dans le présent travail, on a extrait et quantifié les protéines et les lipides à partir des larves de la mouche soldat noire, ainsi que la chitine et le chitosane, en étudiant leurs propriétés antimicrobiennes et leur application comme aliment pour les poulets de chair.

L'extraction des protéines et des lipides à partir des larves d'*Hermetia illucens* a donné un rendement de 24.88% et 37.66%, respectivement. La chitine et le chitosane extraits à partir des exuvies des pupes avaient un rendement de 20.8% et 14.39%, respectivement.

Dans la détermination du pouvoir antimicrobien du chitosane contre les souches bactériennes par la méthode des disques de diffusion, la meilleure zone d'inhibition ( $38.5 \pm 2.12$  mm) a été observée pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* ; Donc, le chitosane possède une activité antibactérienne supérieure même à la gentamycine pour quelques souches. En revanche, le chitosane a donné une inhibition faible contre les moisissures *Aspergillus niger* et *Fusarium sp.* avec des pourcentages d'inhibition moins de 20%.

Le remplacement de tourteau de soja par les larves de BSF dans l'alimentation des poulets de chair a montré que la substitution à 50% est la meilleure par rapport à la substitution totale (100 %), avec un gain de poids important et une basse mortalité.

L'ensemble de ces résultats montrent que les larves d'*Hermetia illucens* sont une source importante de substances bioactives qui méritent d'être considérées comme des coproduits de grande valeur. Comme perspectives, l'étude d'autres applications des biomolécules de cet insecte semble très prometteuse.

**RÉFÉRENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

- Almeida, C., Rijo, P., & Rosado, C. (2020). Bioactive compounds from *Hermetia illucens* larvae as natural ingredients for cosmetic application. *Biomolecules*, 10(7), 976.
- Antonov, A., Ivanov, G., Pastukhova, N., & Bovykina, G. (2019). Production of chitin from dead *Hermetia illucens*. In IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science* (Vol. 315, No. 4, p. 042003). IOP Publishing.
- Bagriaçik, N. (2011). Determination of some structural features of the nest paper of *Vespa orientalis* Linnaeus, 1771 and *Vespa crabro* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Vespinae) in Turkey. *Archives of Biological Sciences*, 63(2), 449-455
- Bonelli, M., Bruno, D., Brilli, M., Gianfranceschi, N., Tian, L., Tettamanti, G., Caccia, S., & Casartelli, M. (2020). Black Soldier Fly Larvae Adapt to Different Food Substrates through Morphological and Functional Responses of the Midgut. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(14), 4955.
- Cai, M., Li, L., Zhao, Z., Zhang, K., Li, F., Yu, C., Yuan, R., Zhou, B., Ren, Z., Yu, Z., & Zhang, J. (2022). Morphometric characteristic of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) · Wuhan Strain and Its Egg Production Improved by Selectively Inbreeding. *Life*, 12(6), 873.
- Caligiani, A., Marseglia, A., Leni, G., Baldassarre, S., Maistrello, L., Dossena, A., & Sforza, S. (2017). Composition of black soldier fly prepupae and systematic approaches for extraction and fractionation of proteins, lipids and chitin. *Food research international*, 105, 812-820.
- Chandrasekaran, M., Kim, K. D., & Chun, S. C. (2020). Antibacterial activity of chitosane nanoparticles: A review. *Processes*, 8(9), 1173.
- Čičková, H., Newton, G.L., Lacy, R.C., & Kozánek, M. (2015). The use of fly larvae for organic waste treatment. *Waste Management*, 35, 68–80.
- Confederat, L. G., Tuchilus, C. G., Dragan, M., Sha'at, M., & Dragostin, O. M. (2021). Preparation and antimicrobial activity of chitosan and its derivatives: A concise review. *Molecules*, 26(12), 3694.
- Cummins Jr, V.C., Rawles, S.D., Thompson, K.R., Velasquez, A., Kobayashi, Y., Hager, J., Webster C.D. (2017). Evaluation of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal as partial or total replacement of marine fish meal in practical diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). 473: 337-344.
- Diener, S., Studt Solano, N. M., Roa Gutiérrez, F., & Zurbrügg, C. (2011). Biological treatment of municipal organic waste using black soldier fly larvae. *Waste and Biomass Valorization*, 2(4), 357-363.

- Diener, S., Studt Solano, N.M., Gutiérrez, F.R., Zurbrügg, C., & Tockner, K. (2011). Biological treatment of municipal organic waste using black soldier fly larvae. *Waste Biomass Valorisation*, 2, 357–363.
- Dortmans, B., Diener, S., Bart, V., & Zurbrügg, C. (2017). Black soldier fly biowaste processing: a step-by-step guide. eawag.
- Fatchurochim, S., Widiastuti, R., & Herawati, R. Y. (2020). The Potential of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae in Waste Management. IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science*, 423(1), 012014.
- Franco, A., Scieuzo, C., Salvia, R., Petrone, A. M., Tafi, E., Moretta, A., ... & Falabella, P. (2021). Lipids from *Hermetia illucens*, an innovative and sustainable source. *Sustainability*, 13(18), 10198.
- Fuster, M. G., Montalbán, M. G., Carissimi, G., Lima, B., Feresin, G. E., Cano, M., ... & Vllora, G. (2020). Antibacterial Effect of Chitosan–Gold Nanoparticles and Computational Modeling of the Interaction between Chitosan and a Lipid Bilayer Model. *Nanomaterials*, 10(12), 2340.
- Gortari, M.C., & Hours, R.A. (2013). Biotechnological processes for chitin recovery out of crustacean waste: A mini-review. *Electronic Journal of Biotechnology*, 16(3).
- Hahn, T., Tafi, E., Paul, A., Salvia, R., Falabella, P., & Zibek, S. (2020). Current state of chitin purification and chitosane production from insects. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 95(11), 2775-2795.
- Hoc, B., Genva, M., Fauconnier, M. L., Lognay, G., Francis, F., & Caparros Megido, R. (2020). About lipid metabolism in *Hermetia illucens* (L. 1758): on the origin of fatty acids in prepupae. *Scientific Reports*, 10(1), 11916.
- Hopkins, I., Newman, L. P., Gill, H., & Danaher, J. (2021). The Influence of Food Waste Rearing Substrates on Black Soldier Fly Larvae Protein Composition: A Systematic Review. *Insects*, 12(7), 608.
- Inbaraj, B. S., Chen, B. Y., Liao, C. W., & Chen, B. H. (2020). Green synthesis, characterization and evaluation of catalytic and antibacterial activities of chitosan, glycol chitosan and poly ( $\gamma$ -glutamic acid) capped gold nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 161, 1484-1495.
- Islam, S., Bhuiyan, M. A. R., & Islam, M. N. (2017). Chitin and Chitosan: Structure, Properties and Applications in Biomedical Engineering. *Journal of Polymers and the Environment*, 25 (3), 854–866.

- Kaya, M., Sofi, K., Sargin, I., & Mujtaba, M. (2016). Changes in physicochemical properties of chitin at developmental stages (larvae, pupa and adult) of *Vespa crabro* (wasp). *Carbohydrate polymers*, 145, 64-70.
- Khayrova, A., Lopatin, S., & Varlamov, V. (2020). Obtaining chitin/chitosan-melanin complexes from black soldier fly *Hermetia illucens*. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering 809(1), 2020.
- Khribch, J., Nassik, S., El houadfi, M., Zrira, S., Oukessou, M., ( 2018 ). Activité antibactérienne del'huile essentielle d'origan et du carvacrol sur des souches d'*Escherichia coli* d'origine aviaire Mar. Sci.Agron. Vét, 6 (3): 300-307.
- Lagat, M. K., Were, S., Ndwigah, F., Kemboi, V. J., Kipkoech, C., & Tanga, C. M. (2021). Antimicrobial activity of chemically and biologically treated chitosan prepared from black soldier fly (*Hermetia illucens*) Pupal Shell Waste. *Microorganisms*, 9(12), 2417.
- Lalander, C. H., Diener, S., Magri, M. E., Zurbrügg, C., & Lindström, A. (2015). Faecal sludge management with the larvae of the black soldier fly (*Hermetia illucens*) from a hygiene aspect. *Science of the total environment*, 521, 34-42.
- Lalander, C., Diener, S., Magri, M. E., Zurbrügg, C., Lindström, A., & Vinnerås, B. (2013). Faecal sludge management with the larvae of the black soldier fly (*Hermetia illucens*)—From a hygiene aspect. *Science of the Total Environment*, 458, 312-318.
- Li, J., & Zhuang, S. (2020). Antibacterial activity of chitosan and its derivatives and their interaction mechanism with bacteria: Current state and perspectives. *European Polymer Journal*, 138, 109984.
- Li, W., Li, Q., Zheng, L., Wang, Y., Zhang, J., Yu, Z., & Zhang, Y. (2015). Potential biodiesel and biogas production from corncob by anaerobic fermentation and black soldier fly. *Bioresour Technol.* 194:276-82.
- Li, Z., Zhou, J., Huang, H., Wei, J., Zhang, J., & Wang, X. (2019). Complex chemical communication of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Scientific reports*, 9(1), 1-12.
- Linnaeus C. *Systema Natura*. Edition 10. Tome I, 1758.
- Lopez- Moya, F., Martin-Urdiroz, M., Osés- Ruiz, M., Were, V. M., Fricker, M. D., Littlejohn, G., ... & Talbot, N. J. (2021). Chitosan inhibits septin- mediated plant infection by the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* in a protein kinase C and Nox1 NADPH oxidase- dependent manner. *New Phytologist*, 230(4), 1578-1593.

- Lu, S., Taethaisong, N., Meethip, W., Surakhunthod, J., Sinpru, B., Sroichak, T., ... & Paengkoum, P. (2022). Nutritional composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.) and its potential uses as alternative protein sources in animal diets: A review. *Insects*, 13(9), 831.
- Ma, Z., Garrido-Maestu, A., & Jeong, K. C. (2017). Application, mode of action, and in vivo activity of chitosan and its micro- and nanoparticles as antimicrobial agents: A review. *Carbohydrate polymers*, 176, 257-265.
- Mohamed, N., & Madian, N. G. (2020). Evaluation of the mechanical, physical and antimicrobial properties of chitosan thin films doped with greenly synthesized silver nanoparticles. *Materials Today Communications*, 25, 101372.
- Mohan, K., Rajan, D. K., Muralisankar, T., Ganesan, A. R., Sathishkumar, P., & Revathi, N. (2022). Use of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal in aquafeeds for a sustainable aquaculture industry: A review of past and future needs. *Aquaculture*, 738095.
- Mouas, Y., Benrebiha, F., & Chaouia, C., (2017). Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *Rosmarinus officinalis* L. *Revue Agrobiologia*, 7(1) :363-370.
- Murawska, D., Daszkiewicz, T., Sobotka, W., Gesek, M., Witkowska, D., Matusevičius, P., & Bakula, T. (2021). Partial and total replacement of soybean meal with full-fat black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) Larvae meal in broiler chicken diets: Impact on growth performance, carcass quality and meat quality. *Animals*, 11(9), 2715.
- Muzzarelli, R.A.A. (1977). Chitin. Pergamon Press, Oxford, *Great Britain*, 1-309.
- Nauciel, C., & Vildé J.L., (2005). Bactériologie médicale. 2ème Ed : Masson, Paris. 5,10.
- Newton, G. L., Sheppard, D. C., Watson, D. W., Burtle, G., Dove, R., Tomberlin, J. K., & Thelen, E. E. (2005). The black soldier fly, *Hermetia illucens*, as a manure management/resource recovery tool. *In Proceedings of the fifth international conference on urban pests* (pp. 485-492).
- Nugraha E., 2006 -Développement de films biodégradables à base de chitosane : Etude du mélange chitosane/ PLA, de la plastification et de la compatification et de la comptabilisation a Reims.
- Ólafsdóttir, S. (2020). Comparison of Different Assay Methods and Sample Preparation Procedures for the Evaluation of the Antibacterial Activity of Chitosan (Doctoral dissertation).

- Oliveira, F. R., Doelle, K., & Smith, R. P. (2016). External Morphology of *Hermetia illucens*, *Stratiomyidae: Diptera* (L. 1758) based on Electron microscopy. *Annual research and review in biology*, 1-10.
- Oonincx, D. G., Volk, N., Diehl, J. J., van Loon, J. J., & Belušič, G. (2016). Photoreceptor spectral sensitivity of the compound eyes of black soldier fly (*Hermetia illucens*) informing the design of LED-based illumination to enhance indoor reproduction. *Journal of insect physiology*, 95, 133–139.
- Opoku, O., Atuahene, C. C., Adjei, M. B., Quaye, B., & Adu, M. A. (2018). Black soldier fly (*hermetia illucens*) larvae meal (bsflm) as alternative dietary protein source for broiler chickens; effects on growth performance, carcass and haematological parameters. *Ghanaian Journal of Animal Science*, 9(1), 25-31.
- Pasquier, E. (2022). Preparation of biobased materials from nano-polysaccharides and lignin particles for food packaging applications (Doctoral dissertation, Université Grenoble Alpes).
- Perinelli, D. R., Fagioli, L., Campana, R., Lam, J. K., Baffone, W., Palmieri, G. F., ... & Bonacucina, G. (2018). Chitosan-based nanosystems and their exploited antimicrobial activity. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 117, 8-20.
- Ponce, A.G., Fritz R., Delvalle, C. et Roura, S.I., (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologic*, 36 : 679-684.
- Queiroz, L. S., Regnard, M., Jessen, F., Mohammadifar, M. A., Sloth, J. J., Petersen, H. O., ... & Casanova, F. (2021). Physico-chemical and colloidal properties of protein extracted from black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *International journal of biological macromolecules*, 186, 714-723.
- Riaz Rajoka, M. S., Mehwish, H. M., Wu, Y., Zhao, L., Arfat, Y., Majeed, K., & Anwaar, S. (2020). Chitin/chitosan derivatives and their interactions with microorganisms: a comprehensive review and future perspectives. *Critical reviews in biotechnology*, 40(3), 365-379.
- Rinaudo M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science (Oxford)*. 31: 603-632.
- Sáez-Plaza, María José Navas, Sławomir Wybraniec, Tadeusz Michałowski & Agustín García Asuero (2013). An Overview of the Kjeldahl Method of Nitrogen Determination. Part II. Sample Preparation, Working Scale, Instrumental Finish, and Quality Control. *Critical reviews in analytical chemistry*. 43: 224-272.

- Shah, S. R. A., &Çetingul, I. S. (2022). Nutritive value of black Soldier Fly (*Hermetiaillucens*) as economical and alternative feedstuff for poultry diet. *Journal of World's Poultry Research*, 12(1), 01-07.
- Shelomi, M. (2015). The little things that run the world revisited: a review of ant-mediated ecosystem services and disservices (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, 21, 133-146.
- Shelomi, M. (2015). Why we still don't understand the ecological benefits of cannibalism. *Integrative and Comparative Biology*, 55(2), 261-272.
- Sheppard, D.C., Tomberlin, J.K., Joyce, J.A., Kiser, B.C., & Sumner, S.M. (2002). Rearing methods for the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae). *Journal of Medical Entomology*, 39, 695-698.
- Smets, R., Verbinnen, B., Van De Voorde, I., Aerts, G., Claes, J., & Van Der Borght, M. (2020). Sequential extraction and characterisation of lipids, proteins, and chitin from black soldier fly (*Hermetiaillucens*) larvae, prepupae, and pupae. *Waste and Biomass Valorization*, 11, 6455-6466.
- Soetemans, L., Uyttebroek, M., & Bastiaens, L. (2020). Characteristics of chitin extracted from black soldier fly in different life stages. *International Journal of Biological Macromolecules*, 165, 3206-3214.
- Stanojevic, P. L., Marjanović-Balaban, Z., Kalaba, V.D., Stanojević, J., Cakic, M., Cvetkovic, D., Stratiomyidae: Diptera (L.1758) Based on Electron Microscopy. *Annual Research & Review in Technology*, 194, 276–282.
- Tolaimate A., Desbrieres J., Rhazi M. et Alaguic A., 2003 -Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled Physico-chemical properties. *Polymer*, 44: 7939 - 7952.
- Tolaimate A., Desbrières J., Rhazi M., Alaguic A., Vincendon M. et Vottero P., 2000 –On the influence of deacetylation process on the physico chemical characteristics of chitosan from squid chitin. *Polymer*, 41: 2463 - 2469.
- Tomberlin, J. K., & Sheppard, D. C. (2009). Soldier Fly Larvae Reduce House Fly and Stable Fly Egg Numbers in Poultry Manure. *Journal of medical entomology*, 46(4), 805-810.
- Verlee, A., Mincke, S., & Stevens, C. V. (2017). Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives. *Carbohydrate polymers*, 164, 268-283.
- Wang, Y. S., & Shelomi, M. (2017). Review of black soldier fly (*Hermetiaillucens*) as animal feed and human food. *Foods*, 6(10), 91.

Webster, C.D. (2017). Evaluation of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal as partial or total replacement of marine fish meal in practical diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 473, 337–344.

Xing, K., Liu, Y., Shen, X., Zhu, X., Li, X., Miao, X., ... & Qin, S. (2017). Effect of Chitosan nanoparticles on the development and membrane permeability of *Verticillium dahliae*. *Carbohydrate polymers*, 165, 334-343.

Youcefi F. and Riazi A., 2012-Extraction, Physicochemical Characterization and in Vitro Antioxidative Potential of Chitosan in Shrimp Shell Waste from Beni Saf Sea, Algeria. *International Journal of Science and Research*, 3: 955-959.

Zimri, M. N. (2018). Preparation and electrospinning of chitosan from waste black soldier fly biomass (Doctoral dissertation, University of the Western Cape).

# **ANNEXE**

### Préparation des milieux de culture et solutions

#### - Gélose Mueller Hinton (M-H) (g/l)

Extrait de viande 3 g

Hydrolysate acide de caséine 17.5 g

Amidon 1.5 g

Agar 16 g

Eau distillée 1000 ml

pH: 7.3

#### - Potato Dextrose Agar (PDA) (g/l)

Filtrat de pomme de terre 200g

Glucose 20 g

Agar 20 g

Eau distillée 1000ml

#### - Eau physiologique

Eau distillée	1000 ml
---------------	---------

NaCl	09 g
------	------

في السنوات الأخيرة ، حظيت عدة أنواع من الحشرات باهتمام متزايد كمواد خام للأغذية البشرية والحيوانية وللتطبيقات الصناعية. أحد هذه الأنواع هو *Hermetia illucens*، الذي تستطيع يرقاته تحويل النفايات العضوية منخفضة القيمة إلى كتلة حيوية قيمة غنية بالدهون والبروتينات والكيتين والكيوتوزان. كان الهدف من هذا العمل هو استخراج الكيتين والكيوتوزان والبروتينات والدهون من يرقات هيرميتيا ، واستخدام اليرقات في تربية الدجاج اللحم. كان الهدف من هذا العمل هو استخراج الكيتين والكيوتوزان والبروتينات والدهون من يرقات *Hermetia illucens* ، واستخدام اليرقات في تربية الدجاج اللحم. الهدف الآخر هو تسليط الضوء على النشاط المضاد للبكتيريا والفطريات للكيوتوزان ضد موجبة الجرام (*Staphylococcus aureus*) وسلبية الجرام (*Escherichia coli* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، *Enterobacter cloacae*) السلالات البكتيرية والفطريات (*Aspergillus niger* and *Fusarium sp*). تم إجراء استخلاص الدهون والبروتين باستخدام الأثير البترولي بحصيلة 37.66% و 24.82% على التوالي. بالنسبة للكيتين والشيوتوزان ، تم استخدام *Hermetia illucens* pupae لاستخراج ؛ تم إجراء نزع المعادن ونزع البروتين باستخدام حمض الهيدروكلوريك وهيدروكسيد الصوديوم ، على التوالي. بعد ذلك ، يتم تحويل الكيتين المستخرج إلى كيوتوزان عن طريق نزع الأسيتيل باستخدام هيدروكسيد الصوديوم. كانت عواندها 20.8% و 14.39% على التوالي ، وتم إجراء توصيف للكيوتوزان بواسطة التحليل الطيفي FTIR ، وتم تحديد الخصائص المضادة للبكتيريا لهذا الجزيء باستخدام طريقة قرص الانتشار حيث لوحظت أفضل منطقة تثبيط (38.5 ± 2.12 مم) في سلالة *Pseudomonas aeruginosa*. فيما يتعلق بالقوة المضادة للفطريات ، لوحظ تثبيط ضعيف للقوالب المدروسة بنسب تثبيط أقل من 20%. أظهرت نتائج استبدال مسحوق فول الصويا مع يرقات BSF في علف دجاج التسمين زيادة معنوية في وزن الدجاج الذي يستهلك 50% BSFL مقارنة بمجموعة التحكم.

**الكلمات المفتاحية:** *Hermetia illucens*، البروتينات، الدهون، الكيتين، الشيوتوزان، النشاط المضاد للبكتيريا، الدجاج اللحم.

## Abstract

In recent years, several insect species have received increasing attention as raw materials for food, feed and industrial applications. One such species is *Hermetia illucens*, whose larvae can convert low-value organic waste into valuable biomass rich in lipids, proteins, chitin and chitosan. The aim of this work was to extract chitin, chitosan, proteins and lipids from *Hermetia illucens* larvae, and to use the larvae in broiler rearing. The other objective is to demonstrate the antibacterial and antifungal activity of chitosan against Gram-positive (*Staphylococcus aureus*) and Gram-negative (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*) bacterial strains and fungi (*Aspergillus niger* and *Fusarium sp.*). Lipid and protein extraction was carried out using petroleum ether with yields of 37.66% and 24.82%, respectively. For chitin and chitosan, exuviae of *Hermetia illucens* pupae were used for extraction; demineralization and deproteinization were carried out using HCl and NaOH, respectively. The extracted chitin was then converted to chitosan by deacetylation using NaOH. Their yields were 20.8% and 14.39%, respectively. Characterization of chitosan was carried out by FTIR spectroscopy, and the antibacterial properties of this molecule were determined using the diffusion disk method, where the best inhibition zone (38.5 ± 2.12mm) was observed for the *Pseudomonas aeruginosa* strain. In terms of antifungal activity, a low level of inhibition of the molds studied was observed, with percentages of inhibition below 20%. The results of replacing soybean meal with BSF larvae in broiler feed showed a significant weight gain in chickens consuming 50% BSFL compared with the control group.

**Key words:** *Hermetia illucens* , proteins, lipids, chitin, chitosan, antimicrobial activity, broiler chickens.

## Résumé

Au cours des dernières années, plusieurs espèces d'insectes ont fait l'objet d'une attention accrue en tant que matières premières pour l'alimentation humaine et animale et pour des applications industrielles. L'une de ces espèces est *Hermetia illucens*, dont les larves peuvent convertir des déchets organiques de faible valeur en biomasse précieuse riche en lipides, en protéines, en chitine et en chitosane. L'objectif de ce travail était tout d'abord l'extraction de la chitine, chitosane, protéines et lipides à partir des larves d'*Hermetia illucens*, et l'utilisation des larves dans l'élevage des poulets de chair. L'autre objectif est de mettre en évidence l'activité antibactérienne et antifongique du chitosane vis-à-vis des souches bactériennes à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*) et les champignons (*Aspergillus niger* et *Fusarium sp.*). L'extraction des lipides et des protéines a été effectuée à l'aide de l'éther de pétrole avec un rendement de 37.66% et 24.82%, respectivement. Pour la chitine et le chitosane, les exuvies de pupes d'*Hermetia illucens* ont été utilisées pour l'extraction ; La déminéralisation et la déprotéinisation ont été effectuées à l'aide de HCl et de NaOH, respectivement. Ensuite, la chitine extraite est convertie en chitosane par désacétylation à l'aide de NaOH. Leurs rendements étaient de 20.8% et 14.39%, respectivement. La caractérisation de chitosane a été réalisée par spectroscopie FTIR, et les propriétés antibactériennes de cette molécule ont été déterminées à l'aide de la méthode des disques de diffusion où la meilleure zone d'inhibition (38.5 ± 2.12mm) a été observée pour la souche *Pseudomonas aeruginosa*. Concernant le pouvoir antifongique, une inhibition faible des moisissures étudiées a été observée avec des pourcentages d'inhibition inférieurs à 20%. Les résultats de remplacement de la farine de soja par les larves de BSF dans l'alimentation des poulets de chair montrent un gain de poids important des poulets qui consomment le BSFL à 50% par rapport au groupe témoin.

**Mots clés :** *Hermetia illucens*, protéines, lipides, chitine, chitosane, activité antimicrobienne, poulets de chair.