

Optimisation du maintien des conditions abiotiques dans les élevages d'*Hermetia Illucens* Par un système de brassage et de suivi automatisé

Auteur : Lowet, Florent

Promoteur(s) : Mercatoris, Benoît; Caparros Megido, Rudy

Faculté : Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)

Diplôme : Master en bioingénieur : sciences et technologies de l'environnement, à finalité spécialisée

Année académique : 2020-2021

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/11069>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

**OPTIMISATION DU MAINTIEN DES
CONDITIONS ABIOTIQUES DANS LES
ELEVAGES D'*HERMETIA ILLUCENS* PAR UN
SYSTEME DE BRASSAGE ET DE SUIVI
AUTOMATISE**

FLORENT LOWET

**TRAVAIL DE FIN D'ETUDES PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
MASTER BIOINGENIEUR EN SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE L'ENVIRONNEMENT**

ANNEE ACADEMIQUE 2019-2020

CO-PROMOTEURS: RUDY CAPARROS MEGIDO, BENOÎT MERCATORIS

©Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique¹ de Gembloux Agro-Bio Tech.

Le présent document n'engage que son auteur.

¹ Dans ce cas, l'autorité académique est représentée par les promoteurs membres du personnel enseignant de GxABT.

**OPTIMISATION DU MAINTIEN DES
CONDITIONS ABIOTIQUES DANS LES
ELEVAGES D'*HERMETIA ILLUCENS* PAR UN
SYSTEME DE BRASSAGE ET DE SUIVI
AUTOMATISE**

FLORENT LOWET

**TRAVAIL DE FIN D'ETUDES PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
MASTER BIOINGENIEUR EN SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE L'ENVIRONNEMENT**

ANNEE ACADEMIQUE 2019-2020

CO-PROMOTEURS: RUDY CAPARROS MEGIDO, BENOÎT MERCATORIS

Remerciements

J'aimerais tout d'abord remercier mes deux co-promoteurs Benoît Mercatoris et Rudy Caparros Megido d'avoir accepté de m'encadrer dans ce projet, pour leurs conseils et leur confiance.

Merci à Rudy Schartz pour son accompagnement sur les parties techniques de ce travail qui a beaucoup enrichi mes connaissances dans ce domaine et à mes deux collègues automaticiens du Génie Rural Jesse Jap et Pierre-Yves Culot pour leur intérêt quant à mon travail, leur sympathie et leur aide.

Merci à Lucien et Didier de m'avoir aidé dans la conception et la transformation des bacs d'élevages.

Merci à Joachim Carpentier pour son aide dans la mise en place et la clôture de l'expérimentation.

Un merci tout particulier à Bertrand Hoc de m'avoir transmis sa passion pour les mouches soldats noires, pour sa disponibilité tout au long de ce travail dans les bons comme dans les mauvais moments.

Un immense merci à tous mes lecteurs pour leurs remarques qui ont permis d'améliorer ce travail et en particulier Pierre qui une fois de plus était à mes côtés dans cette étape éprouvante que peut être la rédaction d'un mémoire.

Pour finir merci à tous mes amis et proches qui ont de près ou de loin rendu possible l'aboutissement de mes études.

Résumé

Dans un contexte d'augmentation de la population mondiale et de réchauffement climatique où le système de production de protéines alimentaires est remis en question pour ses insuffisances à venir et ses défauts structurels, les élevages d'insectes apparaissent comme des solutions prometteuses à même de résoudre certains des problèmes posés par ce système.

Cette étude a pour but de participer à l'optimisation de la production des élevages d'*Hermetia illucens*, une espèce qui se démarque des autres espèces d'insectes par sa capacité de traitement d'un grand nombre de déchets organiques.

Pour répondre à cette problématique un prototype de système de brassage automatisé du milieu nutritif des larves, couplé à un système de suivi, a été conçu puis testé en conditions réelles d'élevage.

La présente étude a rencontré de nombreux biais et ne permet pas de conclure de manière robuste. Néanmoins, il semble que la modalité de brassage la plus élevée (3h/jour) présente une certaine efficacité quant à l'homogénéisation de l'humidité du substrat mais également un impact négatif sur le développement des larves, lesquelles mettent plus de temps à transformer leur nourriture et à se développer en comparaison de celles soumises à des modalités de brassage moins fréquentes (1h/jour) ou absentes.

Le prototype élaboré dans ce travail ouvre un grand nombre de perspectives dans le champ de la recherche sur l'optimisation des élevages d'insectes, et plus particulièrement sur le suivi des élevages et l'étude comportementale des larves, mais mène aussi potentiellement à de futures recherches sur les rejets de gaz à effet de serre à travers la valorisation des coproduits brassicoles à l'aide des larves d'*Hermetia illucens*.

Abstract

In a global context of a rapidly increasing world population and global warming, where the food protein production system is to be questioned, insect farms appear to be promising solutions.

This study aims to help future researchers/farmers optimizing the production of *Hermetia illucens* farms, which differs from other insect species by its ability to process a large number of organic wastes.

To address this problem, the prototype of an automated mixing system of the larvae's nutrient environment coupled with a monitoring system was designed and tested in real breeding conditions.

This study has encountered many biases and does not provide a robust conclusion. Nevertheless, it appears that the highest brewing modality (3h/day) has some effectiveness in homogenizing the moisture of the substrate but also a negative impact on the development of larvae, which take longer to process their food and to develop compared to those subjected to lower brewing modalities (1h/day) or none.

The prototype implemented in this work opens up a large number of perspectives in the field of research on the optimization of insect farms, and in particular on the monitoring and the behavioral study of larvae, but also potentially for future research on greenhouse gas releases from a valuation of brewing co-products using *Hermetia illucens* larvae.

Table des matières

Remerciements	i
Résumé	ii
Abstract	ii
1 Introduction.....	1
1.1 Contexte actuel	1
1.2 Avantages de l'élevage d'insectes.....	1
1.3 Avantages d' <i>Hermetia illucens</i> L. 1758.....	2
1.3.1 Traitement des déchets.....	3
1.3.2 Réduction des pathogènes.....	3
1.3.3 Alimentation animale	3
1.3.4 Production de bio carburant	3
1.3.5 Production de fertilisants organiques	4
1.4 Popularité grandissante des insectes.....	4
1.5 Etat de l'art.....	5
1.5.1 <i>Hermetia illucens</i>	5
1.5.2 Besoins d' <i>Hermetia illucens</i>	8
1.5.3 Fermes à insectes	9
1.6 Les limites des connaissances dans l'élevage d' <i>H. illucens</i>	16
1.7 Objectifs du travail	17
1.8 Description de l'expérience.....	17
2 Matériel et méthodes.....	18
2.1 Matériel biologique.....	18
2.1.1 Élevage.....	18
2.1.2 Chambre climatique	18
2.1.3 Substrat	19
2.2 Protocole expérimental.....	19
2.2.1 Mesures des paramètres biotiques.....	19
2.2.2 Mesures des paramètres abiotiques.....	21
2.2.3 Clôture de l'expérimentation	22
2.3 Conception d'un système de production	22
2.3.1 Bacs d'élevage	22
2.3.2 Système de brassage	24

2.3.3	Système de suivi	33
3	Résultats	43
3.1	Analyses statistiques	43
3.2	Déroulement de l'expérimentation.....	43
3.3	Humidité relative et température	47
3.4	Poids moyen et croissance des larves	49
3.5	pH	50
3.6	Humidité du substrat.....	53
3.6.1	Comparaison de l'humidité au sein de chaque modalité de brassage.....	54
3.6.2	Comparaison de l'humidité entre les modalités de brassage	55
3.7	Température du substrat	56
4	Discussion	57
4.1	Température et humidité relative.....	57
4.2	Croissance des larves.....	58
4.3	pH	59
4.4	Humidité massique du substrat	59
4.5	Déplacement des larves	59
4.6	Améliorations	60
4.6.1	Vis	60
4.6.2	Fuites d'eau	60
4.6.3	Système de récolte	60
4.6.4	Condensation et sondes d'humidité relative	60
4.6.5	Déplacement des larves	60
5	Conclusion	61
6	Bibliographie.....	1
Annexes	Erreur ! Signet non défini.	
Annexe 1 : Code du contrôle des moteurs de l'Arduino UNO	Erreur ! Signet non défini.	
Annexe 2 : Code d'acquisition des capteurs de la CR1000.....	Erreur ! Signet non défini.	
Annexe 3 : Code d'acquisition des capteurs de l'Arduino MEGA.....	Erreur ! Signet non défini.	
Annexe 4 : Statistiques du Poids des larves	Erreur ! Signet non défini.	
Annexe 5 : Statistiques du pH	Erreur ! Signet non défini.	
pH du substrat	Erreur ! Signet non défini.	
pH en surface du substrat	Erreur ! Signet non défini.	

Comparaison entre le pH du substrat et en surface du substrat **Erreur ! Signet non défini.**

Annexe 6 : Statistiques relatives à l'humidité du substrat et en surface du substrat.. **Erreur ! Signet non défini.**

Humidité en surface du substrat **Erreur ! Signet non défini.**

Humidité du substrat..... **Erreur ! Signet non défini.**

Comparaison entre l'humidité du substrat et en surface **Erreur ! Signet non défini.**

1 Introduction

1.1 Contexte actuel

En se basant sur des projections qui prévoient que la démographie mondiale atteindra neuf milliards d'êtres humains en 2050, l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (ONUAA/FAO) estime que pour nourrir l'ensemble de l'humanité il faudra augmenter la production agricole globale de 60% par rapport à la période 2005/2007 (Alexandratos et Bruinsma, 2012). Dans ce contexte, notre système de production alimentaire est remis en question depuis des décennies sur son aptitude à pouvoir répondre à ce défi de manière durable. Parmi les problématiques relatives aux défauts de durabilité qui contreviennent à la durabilité du système agricole global, la production de protéines animales telle qu'elle est actuellement conçue se trouve peu adaptée dans la mesure où elle est extrêmement consommatrice en ressources, sa consommation en eau s'élève à 8% de l'utilisation globale des activités humaines, les surfaces dédiées à l'élevage représentent 30% de la surface des terres immergées et 78% de l'utilisation des terres agricoles (Steinfeld et al., 2006). L'élevage participe également pour une grande part au total des émissions globales de gaz à effet de serre d'origine anthropique, puisqu'il représente 9% des émissions en dioxyde de carbone (CO₂), 35 à 40% des émissions en méthane (CH₄), 65% des émissions en protoxyde d'azote (N₂O) et 64% des émissions d'ammoniac (NH₃) du secteur agricole (Steinfeld et al., 2006).

1.2 Avantages de l'élevage d'insectes

Face à ces constats, des alternatives à la production actuelle de protéines animales ont émergées, telles que la production de mycoprotéines, d'algues ou encore d'insectes (van Huis et Tomberlin, 2018). Avec la publication en 2013 du rapport de la FAO sur la production d'insectes comestibles, un très grand nombre d'ouvrages et d'articles ont analysé les nombreux avantages des élevages d'insectes par rapport aux élevages conventionnels (FAO, 2013 ; van Huis et Tomberlin, 2018 ; Oonincx et al., 2015 ; Gahukar, 2016). Ces avantages résumés par van Huis et Oonincx (2017) sont les suivants :

1. Un besoin en eau et en surface moindre

La production d'un kilogramme (kg) de biomasse digestible de ver de farine nécessite 18 mètres carré (m²) de surface contre 51 m² pour l'élevage de volailles et jusqu'à 254 m² pour l'élevage bovin (Oonincx, 2012), tandis que la consommation en eau nécessaire pour produire 1 gramme (g) de protéine est de 23 litres (L) chez le ver de farine contre 34L pour le poulet, 57L pour le porc et jusqu'à 112L pour le bœuf (Miglietta et al., 2015).

2. Des émissions de gaz à effet de serre moins importantes

L'impact des élevages d'insectes sur le réchauffement climatique est moindre que les élevages conventionnels. En effet pour produire 1 kg de biomasse le rejet de gaz à effet de serre en équivalent CO₂ s'élève à 7.58g pour le ver de farine, 1.57g pour le grillon et 17.72g pour le criquet contre 79.59g à 1130 g pour le porc et 2850g pour le bœuf (Oonincx, 2010).

3. Un taux élevé de conversion alimentaire

Pour produire 1 kg de biomasse digestible le grillon n'a besoin que de 2.1kg de nourriture contre 4.5kg pour le poulet et jusqu'à 25kg pour le bœuf (van Huis, 2013). De plus le pourcentage de biomasse digestible

est plus important chez le grillon (80%) par rapport aux animaux d'élevages conventionnels qui ont une biomasse digestible entre 40 et 55% (FAO, 2013).

4. Le potentiel à remplacer la part des protéines dans les rations des élevages conventionnels (aviaires, porcins, bovins, aquacoles)

Les protéines d'insectes permettent de substituer 25% à 100% des sources protéiques à base de soja ou de farine de poissons contenues dans les rations alimentaires des élevages conventionnels (Makkar et al., 2014). Józefiak et al. (2019) confirme ce potentiel dans un essai expérimental comparant différentes rations comprenant 20% d'insectes à un contrôle sans insectes d'un élevage de truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). La survie des truites n'était pas affectée et certaines rations à base d'insectes comme *Tenebrio molitor* et *Blatta lateralis* permettaient une meilleure croissance des truites. La méta-analyse de Moula et Detilleux (2019) sur l'élevage de volailles, montre que les insectes ne doivent remplacer qu'une partie des sources protéiques des rations pour garder une croissance appropriée des volailles et exclut l'utilisation des criquets dont la consommation avait un effet négatif sur leur croissance..

1.3 Avantages d'*Hermetia illucens* L. 1758

Parmi les espèces d'insectes les plus intéressantes pour une transition du système de production de protéines actuel vers une production plus durable, *Hermetia illucens* présente un certain nombre d'autres avantages comme sa capacité naturelle pour le traitement des déchets organiques, la possible valorisation des lipides produits par ses larves afin de produire des biocarburants ou encore la réduction des pathogènes présents dans les effluents d'élevages ou humains (Singh, 2019).

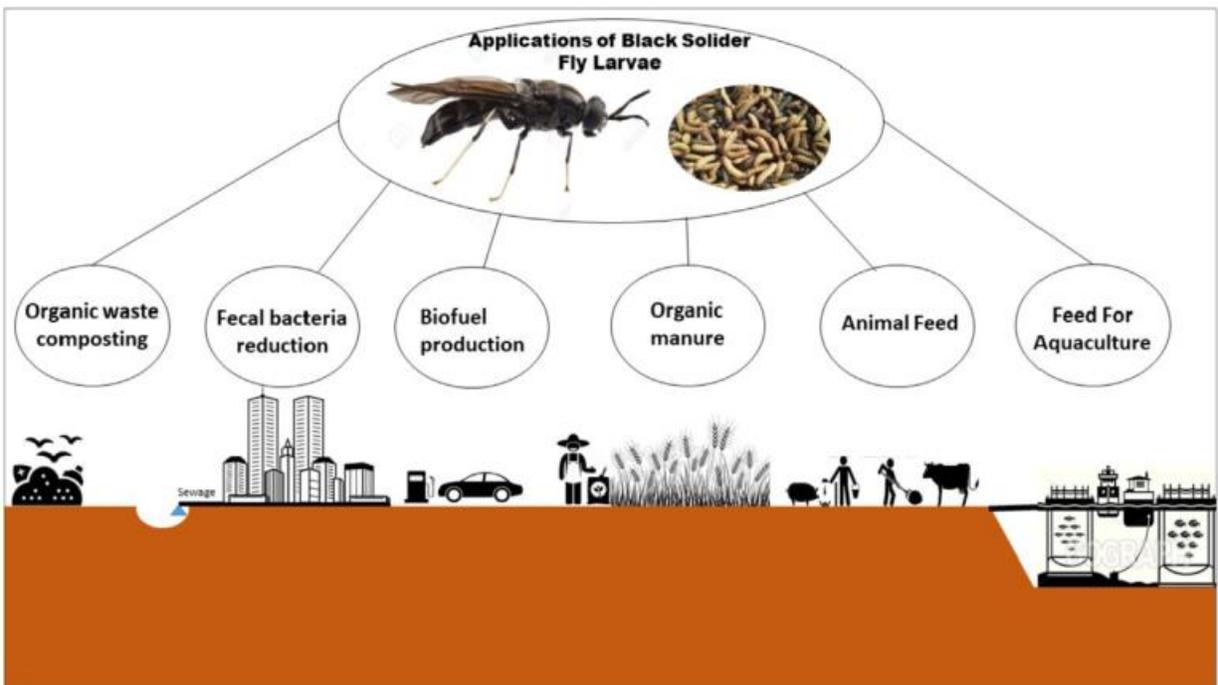


Figure 1 Applications des élevages d'*H. illucens*, traduit de l'anglais, de gauche à droite : compostage des matières organiques, réductions des bactéries fécales, production de biocarburant, fertilisant organique, alimentation animale, alimentation pour l'aquaculture) (Source : Singh, 2019).

1.3.1 Traitement des déchets

Les larves d'*H. illucens* sont saprophages et peuvent se nourrir d'une grande variété de déchets organiques. Dans leur revue littéraire, Gold et al. (2018) rapportent l'usage d'*H. illucens* dans le traitement des matières fécales d'origine animales (effluents d'élevages porcin, aviaire, bovin) et humaine (boues d'épuration), des déchets végétaux (issus du gaspillage alimentaire des entreprises productrices de fruits et légumes et des marchés), des déchets ménagers organiques (ménages, restaurateurs) et des coproduits de brasserie. Leur capacité à dégrader les déchets organiques est reconnue comme l'une des meilleures en comparaison d'autres espèces d'insectes d'élevage (Oonincx, 2015 ; Wang et Shelomi, 2017). En effet les larves d'*H. illucens* sont capables de réduire de 65,5 à 78,9% la masse totale de déchets ménagers organiques (Diener et al., 2011).

1.3.2 Réduction des pathogènes

Les larves d'*H. illucens* transforment le substrat nutritif dans lequel elles vivent, notamment en réduisant la quantité de bactéries pathogènes (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica*) présentes dans leur milieu (Singh, 2019). Elles régulent également les populations d'autres diptères pouvant être vecteurs de pathogènes (comme la mouche domestique *Musca domestica*) en perturbant l'oviposition de celle-ci (Singh, 2019).

1.3.3 Alimentation animale

Les réserves en protéines et en lipides de l'insecte sont réalisées durant les stades larvaires décrits en section 1.4.1. La teneur en protéines brutes et en lipides des larves d'*H. illucens* représentent respectivement 40% et 30% du poids sec des larves (Wang et Shelomi, 2017). Ces valeurs peuvent cependant varier en fonction du substrat proposé aux larves. En effet, les substrats riches en matières azotées comme les effluents d'élevages donnent des teneurs en protéines brutes de 42 à 44% et des teneurs en lipides de 31 à 35% (Wang et Shelomi, 2017). Pour les substrats plus pauvres en matières azotées comme les déchets végétaux les teneurs en protéines des larves sont de 39.9% et les teneurs en lipides de 37.8% (Wang et Shelomi, 2017).

Ce sont ces teneurs élevées en protéines et en lipides qui font d'*H. illucens* un bon candidat pour entrer dans la composition des rations d'élevage. Pour la truite arc-en-ciel, les rations à base de larves d'*H. illucens* élevées dans des substrats enrichis en Omega-3 donnent des résultats comparables en termes de développement des poissons par rapport aux rations classiques à base de farine de poisson (Wang et Shelomi, 2017).

Le remplacement des sources protéiques des rations des élevages de volailles (*Gallus gallus domesticus* Linnaeus, 1758) par des farines d'*H. illucens* n'ont pas montré de différence en termes de rendement et de poids dans le total de viande produite. Le seul effet défavorable constaté est l'augmentation d'acides gras saturés et monosaturés indésirables dans la viande de poulet produite, ce problème pouvant être résolu en utilisant des farines d'*H. illucens* dégraissées (Wang et Shelomi, 2017).

1.3.4 Production de bio carburant

Les lipides produits par les larves d'*H. illucens* sont de bons candidats pour la production de biocarburants et de bio-lubrifiants. (Van Huis, 2019). En effet, les études de Surendra et al. (2016) et Wang et al. (2017) étudiant le profil en acide gras des larves d'*H. illucens* confirment que les graisses produites conviennent à la production de biocarburants.

1.3.5 Production de fertilisants organiques

Les résidus des déchets traités par les larves d'*H. illucens* peuvent aussi être utilisés comme intrants pour la fertilisation des terres agricoles (Van Huis, 2019).

1.4 Popularité grandissante des insectes

C'est pour ces raisons que la production d'insectes et en particulier d'*H. illucens* n'a cessé de gagner en popularité ces dernières années comme en témoigne l'évolution du nombre de recherches associées à ces sujets (figure 2).

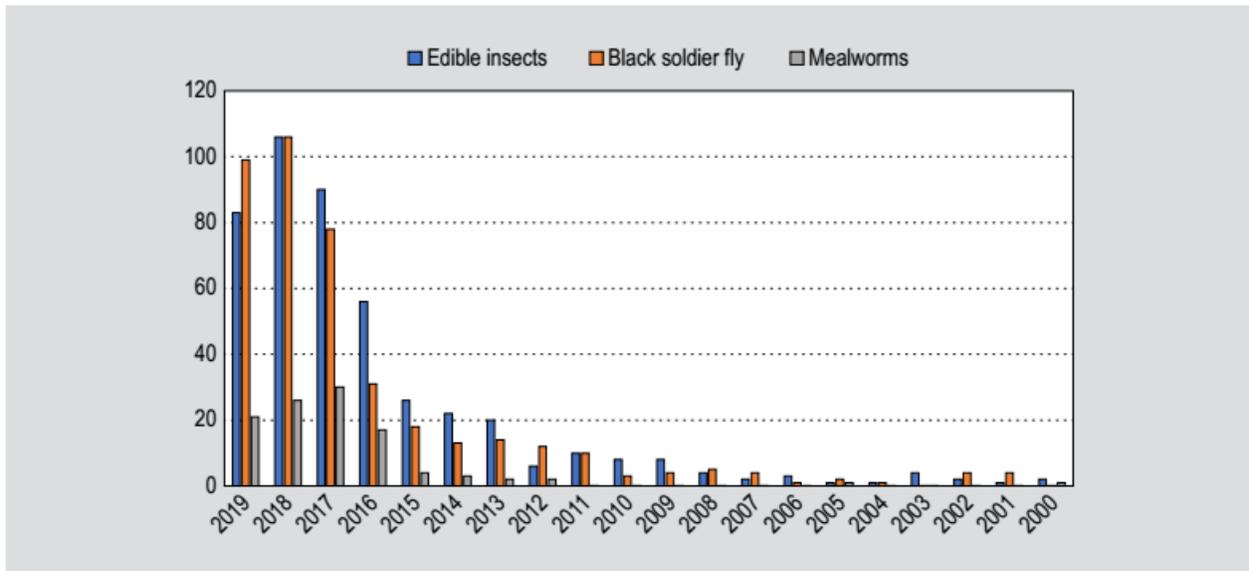


Figure 2 Nombre d'articles publiés d'après Web of Science sur les mots clés 'insectes comestibles', 'mouche soldat noire' et 'ver de farine' (Source : Van Huis, 2019)

La suite de ce travail va maintenant revenir plus en détail sur le champ des connaissances biologiques d'*H. illucens* ainsi que sur les techniques d'élevages de l'insecte.

1.5 Etat de l'art

Avant d'étudier le fonctionnement des élevages d'*H. illucens*, il est d'abord primordial de connaître le cycle de vie de l'insecte ainsi que les besoins relatifs à chacun de ses stades de vie.

1.5.1 *Hermetia illucens*

La mouche soldat noire (*Hermetia illucens* L. 1758) a une aire de répartition d'origine s'étalant du sud de l'Argentine jusqu'au nord des États-Unis (Gujarathi et Pejaver, 2013). Aujourd'hui, cette mouche peut être retrouvée naturellement dans les régions tropicales et tempérées de tous les continents sous des latitudes comprises entre 45°N à 40°S (Dortmans et al., 2017). *H. illucens* est un diptère de la famille des Stratiomyidae de couleur noire d'une taille de 12 à 20 millimètres (mm) (figure 3).



Figure 3 *Hermetia illucens* adulte

(Source : https://e-insects.wageningenacademic.com/hermetia_illucens).

Le cycle de vie de l'insecte (figure 4) est composé de 9 stades, à savoir : l'œuf, sept stades larvaires, la puppe et l'adulte. Les femelles pondent à proximité de matières organiques en décomposition qui serviront de nourriture aux futures larves. Une femelle pond de 500 à 900 œufs (figure 5) sur sa durée de vie. Les jeunes larves mettent 4 jours avant d'éclore (Singh, 2019).

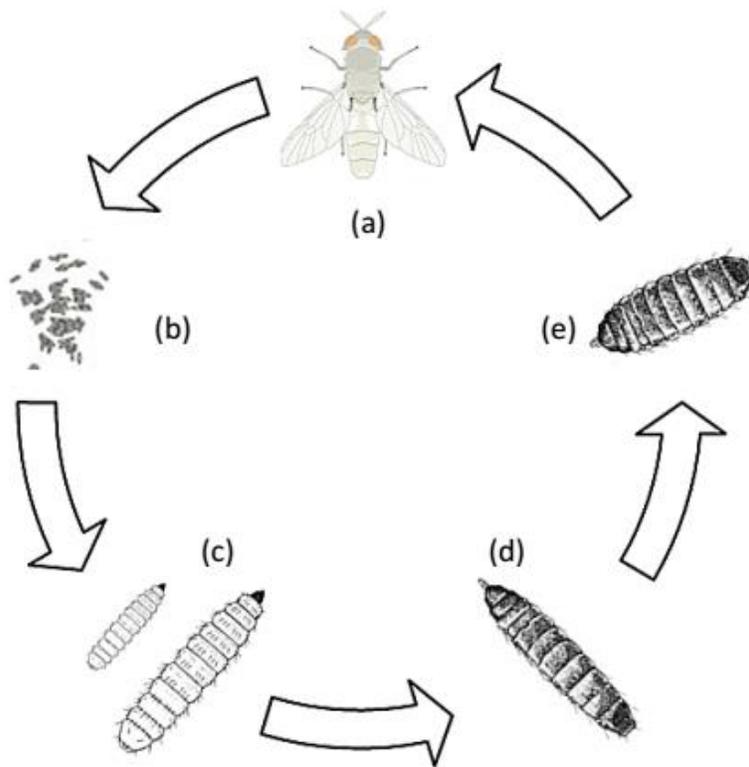


Figure 4 Cycle d'*Hermetia illucens*, (a) adulte (b) œuf (c) 1^{er}–6^{ème} stade larvaire (d) 7^{ème} stade larvaire (prépupe) (e) pupa (Source : Banks, 2014)



Figure 5 Œufs d'*Hermetia illucens*, échelle 1 mm (Source: Barros et al., 2019).

Les larves vont ensuite passer par une succession de six stades (figure 6) qui durera 15 jours en conditions optimales et jusqu'à 5 mois en conditions défavorables (ces conditions sont décrites dans la partie Besoins d'*Hermetia illucens* en section 1.5.2) (Caruso et al., 2014). Les stades larvaires se différencient par la taille des larves, leur couleur ainsi que le développement des soies (Barros et al., 2019).

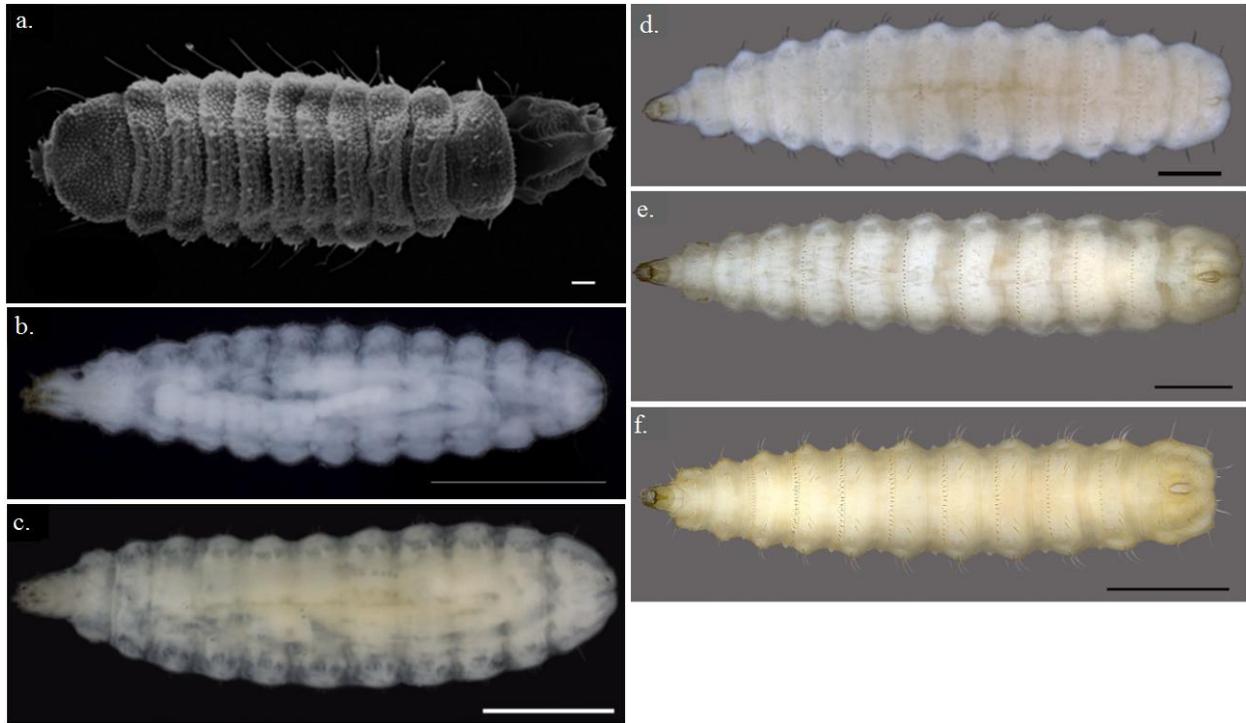


Figure 6 Vue ventrale des six premiers stades larvaires d'*Hermetia illucens*, a. Premier stade, échelle 30 μm (micromètre) ; b. Second stade, échelle 1 millimètre (mm) ; c. Troisième stade, échelle 1 mm ; d. Quatrième stade, échelle 1 mm ; e. Cinquième stade, échelle 2 mm ; f. Sixième stade, échelle 5 mm (Source : Barros et al., 2019).

Lorsque les larves de sixième stade ont accumulé suffisamment de réserves elles deviennent noires et quittent le substrat nutritif afin de trouver un lieu sec pour se nymphoser : on parle alors de prépupes. Une fois hors du substrat les prépupes s'immobilisent et commencent leur métamorphose : on parle alors de pupes (figure 7).

C'est au cours des stades larvaires que toutes les réserves énergétiques nécessaires à la métamorphose et à la reproduction des adultes sont réalisées. Après deux à trois semaines au stade de pupes les adultes émergent et se reproduisent lorsqu'ils sont sexuellement matures (2 jours après émergence). Ils meurent peu de temps après la reproduction et la ponte (5 jours). De nouveau cette durée de vie peut être étendue jusqu'à 6 à 7 semaines en conditions optimales (présence d'eau, réserves réalisées au stade larvaire, ...) (Caruso et al., 2014 ; Singh, 2019 ; Tomberlin, 2009).



Figure 7 Vue ventrale d'une pupe d'*H. illucens*, échelle 5 mm (Source : Barros et al., 2019).

1.5.2 Besoins d'*Hermetia illucens*

Comme énoncé précédemment, la durée de vie de la mouche soldat noire ainsi que la vitesse de développement des larves peuvent être influencées en fonction des paramètres abiotiques. Ces paramètres correspondent aux besoins de l'insecte, c'est pourquoi leur maîtrise et leur contrôle est la base de tout élevage.

1.5.2.1 Température et humidité relative

Les insectes sont des organismes dits « poïkilothermes ». Ainsi, plus la température de leur milieu est élevée, plus les insectes ont tendance à se développer rapidement avant d'atteindre un palier à partir duquel la température devient alors un facteur limitant. Par exemple, Tomberlin et al. (2009) ont démontré un meilleur taux de survie des larves et un développement plus rapide à 30 degrés Celsius (°C) qu'à 27°C ainsi qu'une mortalité importante à partir de 36°C. Cependant, les larves élevées à 30°C donnaient des adultes plus petits avec une durée de vie plus courte.

H. illucens peut tolérer des conditions d'humidité relative (HR) très élevées, jusqu'à 99% (Barragan et al., 2017). Toutefois, l'optimum de développement se situe dans une gamme de 60 à 70% HR (Barragan et al., 2017). Dans ces conditions, la reproduction, l'oviposition ainsi que l'incubation des œufs sont favorisées. Si l'humidité relative descend sous les 30%, les œufs se dessèchent, ce qui a pour effets directs une plus grande mortalité et une espérance de vie des larves réduites (Singh, 2019).

De manière générale, on admettra donc communément qu'*H. illucens* se développe de manière optimale entre 25 et 27°C, et à 60% d'Humidité relative (Sheppard et al., 2002 ; Holmes, 2010 ; Barragan et al., 2017).

1.5.2.2 Lumière

Les larves d'*H. illucens* sont lucifuges (Dortmans et al., 2017) tandis que les adultes sont dépendants de lumière pour réaliser leur reproduction. La lumière peut être d'origine naturelle (Park, 2016) ou artificielle (Zhang et al., 2010). L'intensité lumineuse optimale se situe entre 135 et 200 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ mais le spectre lumineux semble avoir un rôle plus important que l'intensité sur la fertilité des œufs (Barragan et al., 2017 ; Singh, 2019).

1.5.2.3 Conditions dans le substrat des larves

a) Humidité du substrat

Le développement des larves et leur survie sont directement influencés par la teneur en humidité du substrat dans lequel elles évoluent. Yu et al. (2014) ont démontré que les substrats avec un taux d'humidité de 30% entraînaient une forte mortalité des larves, et qu'un taux à 50% d'humidité menait à des larves plus petites et à une croissance plus lente par rapport à 70% d'humidité. Cette tendance est confirmée par

l'étude de Barragan et al. (2017) qui renseigne des optimums d'humidité du substrat entre 52 et 70%. Une tendance divergente a cependant été démontrée par Banks et al. (2014) - dans le cas de larves élevées sur des boues d'épuration - avec des poids de prépuces supérieurs à 85% d'humidité par rapport à 65 et 75%. Lalander et al. (2020) montre qu'il est possible d'utiliser des larves d'*H. illucens* pour le traitement de déchets à très hautes teneurs en humidité (entre 80 et 90% d'humidité) mais qu'un impact négatif croissant sur les larves est observé avec l'augmentation de l'humidité. En effet, à 76% d'humidité les larves achevaient une conversion de la biomasse totale de 33.4% et avaient un taux de survie de 97.2% contre une conversion de la biomasse de 17.5% et un taux de survie de 19.3% pour les larves élevées sur un substrat à 97.5% d'humidité.

b) Acidité du substrat

Des valeurs de pH du substrat des larves comprises entre 6 et 10 induisent une meilleure croissance des larves et des poids plus élevés (Meneguz et Tomberlin, 2018). Les larves tolèrent cependant les milieux acides et sont capables d'augmenter le pH de leur substrat, cette capacité étant dépendante de la densité des larves. Plus ces dernières sont nombreuses plus cette modification sera rapide (Alattar, 2012 ; Caruso et al., 2014 ; Meneguz et Tomberlin, 2018).

1.5.3 Fermes à insectes

Les élevages d'*H. illucens* doivent répondre aux besoins de l'insecte tout au long de son développement. C'est pourquoi les élevages sont généralement divisés en différentes étapes (reproduction des adultes, nurserie des œufs et jeunes larves et grossissement des larves). Ces étapes permettent de fournir l'environnement optimal au bon développement de l'insecte et d'exploiter au mieux les services rendus par ce dernier.

1.5.3.1 L'élevage des *Hermetia illucens*

La reproduction en élevage artificiel est rendue possible toute l'année grâce à l'éclairage, comme mentionné précédemment. Les adultes s'accouplent en plein vol (Caruso et al., 2014), c'est pourquoi les mouches sont maintenues dans des volières (figure 8). La production des œufs nécessaires au maintien de la population de l'élevage est influencée par la densité d'adultes (individu au mètre cube) : plus cette dernière est élevée plus la quantité d'œufs sera importante (Hoc et al., 2019 ; Park, 2016).

Un attractant olfactif composé de matières organiques en décomposition attire les femelles qui pondent naturellement à proximité de la future nourriture de leurs larves. Des pondoires disposés proches de l'attractant offrent des interstices favorisant l'oviposition et facilitant la récolte des œufs (figure 8). Ces derniers sont ensuite incubés sur un substrat riche (composé de farines et de houblon) afin de favoriser le développement des premiers stades larvaires. Les larves âgées de cinq jours sont ensuite transférées dans des bacs de grossissements jusqu'à leur récolte.



Figure 8 Volière de reproduction et récolte des œufs (Source : Florent Lowet)

1.5.3.2 Elevage des larves

Deux systèmes de bacs de grossissements sont communément utilisés dans les élevages d'*H. illucens*. Dans les deux cas, il s'agit d'élever les larves d'*H. illucens* directement dans leur nourriture. La principale différence entre les deux systèmes réside dans l'apport de cette nourriture (van Huis et Tomberlin, 2018).

Le premier système consiste en un élevage en bac continu qui s'apparente à une ligne de production, pouvant être très longue (90 m de long sur 1-2m de large). Les larves y sont alimentées de manière journalière par un apport direct de nourriture en surface (van Huis et Tomberlin, 2018). Lorsque les larves atteignent le stade de pré-pupes elles migrent naturellement en dehors du substrat via une pente de 30° et sont récoltées dans un système de collecte des larves souvent sous forme d'une gouttière (figure 9) (Diener et al., 2011).

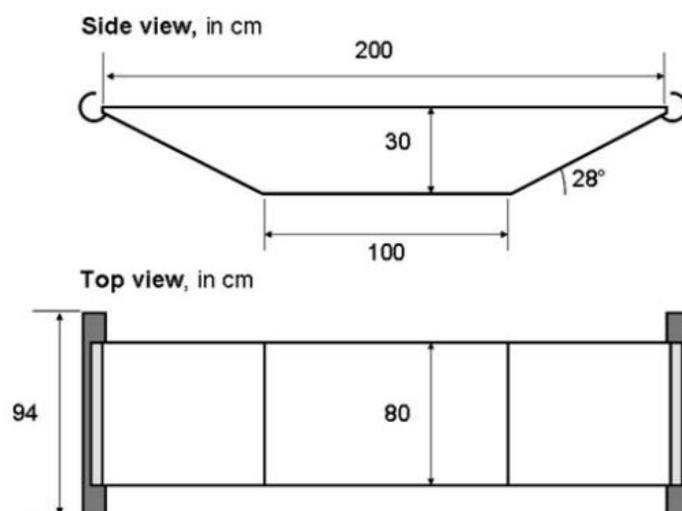


Figure 9 Exemple de bac équipé d'une pente et d'un système d'auto-récolte des larves (Source : Diener et al., 2011).

Le second système est constitué de bacs (figure 10) dans lesquels une quantité donnée de substrat nutritif est mis en contact des larves pendant toute la durée de leur développement. Lorsque le temps déterminé pour la croissance des larves est atteint, les larves sont récoltées. La récolte est alors réalisée par tamisage pour séparer les larves du substrat. C'est ce second système constitué de petits bacs qui est le plus répandu car il présente de nombreux avantages. Tout d'abord, il permet une meilleure gestion du développement des larves au sein d'un bac, car celles-ci y ont le même âge et peuvent donc être récoltées au même moment. Ensuite, les bacs sont standardisés ce qui permet de palettiser un grand nombre de bacs et de mécaniser leur gestion. Il est également plus aisé de réaliser le nettoyage des bacs entre deux inoculations ce qui présente l'avantage de réduire le risque de parasitage des larves ou la transmission de potentielles maladies. Cependant, d'après Joosten et al. (2020), aucun problème de maladies n'a été recensé à ce jour dans les élevages d'*H. illucens*.



Figure 10 Bacs de grossissement des larves d'*H. illucens* utilisées pour le traitement des déchets de Beijing (Chine), une palette porte 40 bacs de grossissement et permet le traitement de 500kg de déchets en 10 jours (Source : <https://www.evoconsys.com/blog/what-we-do-in-china-teamwork-through-evo-jmgreen#>).

1.5.3.3 Fonctionnement d'une ferme d'élevage

Les fermes d'élevage d'*Hermetia illucens* sont constituées de 5 phases successives de production (Dortmans et al., 2017) :

1. Le **pré-traitement** consiste en la réception des matières premières et en la préparation du substrat, c'est-à-dire le broyage et/ou le brassage des matières premières afin de faciliter leur dégradation par les larves. Le lien repris en référence montre une vidéo² d'un prétraitement via un brassage de l'usine de traitement des déchets organiques de la ville de Beijing (Chine).
2. Le **traitement** des déchets est la dégradation du substrat grâce aux larves d'*H. illucens*. Celles-ci se nourrissent du substrat ce qui assainit et réduit la quantité initiale de déchets. Cette étape est le cœur d'une usine de traitement des déchets par les larves, elle est aussi appelée la phase de grossissement.
3. Le **maintien de l'élevage** qui consiste dans les étapes de reproduction des adultes, de production des œufs et de pré-grossissement des jeunes larves décrites précédemment. C'est une phase à part qui permet de fournir les larves utilisées pour le traitement de manière continue.

² Lien vidéo d'un prétraitement via brassage : https://www.evoconsys.com/uploads/2/4/9/7/24976321/img_1794.medium_566.mp4

4. La **récolte** des larves et prépuces en fonction de la méthode de récolte soit par tamisage (Vidéo de présentation de l'entreprise Millibeter (Circular Organics) montrant un tamisage des larves³) soit par auto-récolte.
5. Le **post-traitement** consiste à obtenir le ou les produits finaux désirés à partir des larves récoltées. Cette étape de post-traitement peut consister en la cuisson des larves, en l'extraction des protéines et des lipides. Les résidus des déchets peuvent également être valorisés par un compostage lorsqu'ils ne sont ni toxiques ni pollués. Dans l'étude d' Hua et Hongwei (2020), les résidus issus de la transformation des larves d'*H. illucens* sont utilisés comme nouvelle matière première pour un autre élevage d'insectes (le coléoptère *Postosia brevitarsis* Lewis, 1879).

Le schéma ci-dessous illustre un système de traitement de déchets organiques grâce aux larves d'*H. illucens*.

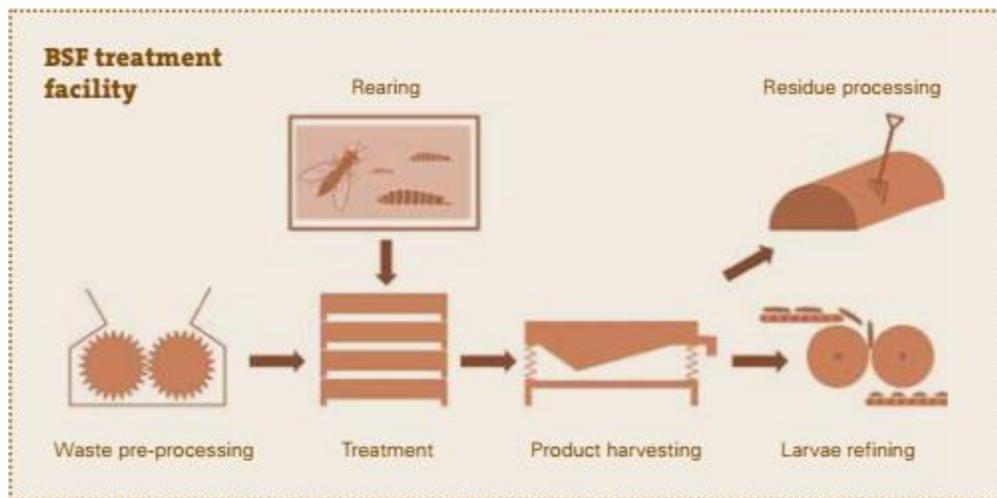


Figure 11 Etapes de production d'un élevage d'*Hermetia illucens*. (Source : Dortmans et al., 2017)

1.5.3.4 Mécanisation et automatisation des élevages

Au cours de la dernière décennie, les projets de recherche visant à développer les élevages d'insectes en Europe se sont multipliés (figure 12) (Azagoh, 2015). Le but principal de ces projets est de développer les technologies nécessaires à la création d'élevage d'insectes à l'échelle industrielle afin de réduire les coûts et de rendre compétitifs sur le marché les produits à base d'insectes (Van Huis, 2019). C'est dans ce sillage que le développement de la mécanisation et l'automatisation des élevages d'*H. illucens* s'intègre.

³ Lien vidéo du tamisage des larves: <https://www.youtube.com/watch?v=UNEeaY4mjao>



Figure 12 Projets européens de recherche sur la production de protéines d'insectes (Source : Azagoh, 2015)

La **mécanisation** existante se focalise avant tout sur les étapes de pré-traitement, de récolte et du post-traitement décrites précédemment ainsi que sur l'apport de nourriture (figure 13).



Figure 13 Photo d'un apport mécanisé de substrat dans un bac de grossissement (Source : Zhang et al., 2020).

En Chine où les installations de traitements des déchets organiques se multiplient, une installation mécanisée comme celle de Xi'an (figure 14) permet d'obtenir des rendements de traitement de 100 tonnes de déchets de cuisine par jour (Zhang et al., 2020).



Figure 14 Usine de traitement des déchets organiques de Xi'an (Chine) grâce aux *H. illucens* (Source : Zhang et al. ,2020).

domestiques et l'aquaculture, cependant le fonctionnement de ces entreprises n'est pas rendu public c'est pourquoi il n'est pas abordé dans ce travail. Et en ce qui concerne les plus petits élevages souvent basés sur des systèmes d'auto-récolte, la littérature disponible indique qu'ils ne sont pas ou peu optimisés en termes de mécanisation.

Or, même si les besoins des larves et adultes sont bien connus, il existe encore des questions à des échelles plus fines.

En premier lieu, des problèmes d'anoxies dans les substrats à haute teneur en eau ont été recensés dans la littérature (Cheng et al., 2017). Ces zones sans oxygène empêchent les larves de dégrader la nourriture ce qui entraîne une quantité de résidus plus importante ce qui est problématique dans le cas du traitement de déchets.

Un second problème, rencontré dans l'élevage expérimental du laboratoire d'entomologie fonctionnelle et évolutive de Gembloux Agro-Bio Tech (Université de Liège), est l'apparition de phénomènes d'assèchements en surface du substrat avant la récolte des larves. Ce phénomène vient perturber le système de récolte des larves basé sur leur migration. En effet, les larves n'ont plus besoin de quitter les bacs pour trouver un milieu sec pour se nymphoser et restent dans le substrat. Ce dernier point va induire une perte de production ou demander beaucoup de temps pour récupérer les larves.

Le but de ce travail est d'apporter une réponse à ces deux problèmes pouvant être rencontrés dans les élevages d'*H. illucens* valorisant des déchets organiques à haute teneur en eau basé sur un système d'auto-récolte.

1.7 Objectifs du travail

La réponse choisie pour explorer cette problématique d'optimisation a été l'élaboration d'un système de brassage automatisé du substrat des larves combiné à un système de suivi des conditions abiotiques des bacs. Notre hypothèse est que le brassage du substrat permettra de maintenir l'homogénéité du substrat en termes d'humidité, d'accessibilité aux nutriments et de teneur en oxygène afin de limiter les problèmes d'anoxies et d'assèchement superficiel du substrat. Ces conditions optimales de développement se traduisant par une meilleure croissance des larves, une meilleure réduction du milieu et une plus faible mortalité. Le système de suivi des conditions abiotiques a pour but d'obtenir un suivi en temps réel des conditions d'élevages afin d'améliorer la compréhension des modifications induites par le système de brassage sur ces conditions et sur le comportement des larves.

Ce travail est donc divisé en deux parties, une première partie expérimentale permettant d'étudier l'impact du prototype de brassage sur le développement des larves en conditions réelles d'élevage et une seconde partie conceptuelle détaillant l'élaboration des systèmes de brassage et de suivi des conditions abiotiques.

1.8 Description de l'expérience

Avant de décrire le matériel et méthode de l'expérimentation, une première description des différentes modalités et paramètres étudiés est réalisée.

Le brassage crée un flux dans le substrat parcourant le bac d'élevage sur toute sa surface tout en entraînant les matières présentes dans le fond du bac en surface et inversement. L'expérience vise à étudier l'impact de ce brassage sur le développement des larves et les conditions abiotiques de leur milieu.

Pour cela trois modalités de brassage sont comparées, la première (B1) fonctionnant 3 heures par jour, la seconde (B2) une heure par jour, et la dernière modalité ne subissant aucun brassage (T). Chaque modalité est réalisée en tri-réplicas, ce qui donne un total de neuf bacs d'élevages.

Les paramètres observés (décrits en détail dans la section 2.2) afin de mesurer l'impact du brassage sur le développement des larves sont la croissance des larves (évolution du poids des larves au cours du temps), le taux de conversion et la mortalité. Les paramètres mesurant la variation des conditions abiotiques sont la température et l'humidité relative des bacs, le pH, l'humidité globale du substrat (c'est-à-dire sur toute sa hauteur) et l'humidité en surface du substrat.

2 Matériel et méthodes

2.1 Matériel biologique

2.1.1 Élevage

Les larves d'*Hermetia illucens* proviennent de l'élevage expérimental du laboratoire d'entomologie fonctionnelle et évolutive de Gembloux Agro-Bio Tech (Université de Liège). Une population initiale estimée à 80 000 individus à un poids initial de $\pm 0.01g$ a servi de base pour former neuf sous-populations de 6700 individus pour chaque bac d'élevage. Afin de s'assurer de l'homogénéité du poids des larves de la population un échantillonnage de 5% du nombre total de larves est nécessaire (Bosch et al., 2020). Pour ce faire 80 lots de 50 larves (4000 larves) ont été pesés à l'aide d'une balance de précision (STX223, OHAUS Scout®, Parsippany, USA, précision 0.001g), la moyenne du poids d'une larve était précisément de 0.010g. Neuf sous populations de 67g de larves ont alors étéensemencés dans chacun des bacs expérimentaux. Trois lots de 50g de larves ont également été prélevés et passés à l'étuve 48h à 105°C afin de déterminer le taux de matière sèche initial des larves.

2.1.2 Chambre climatique

Les neuf bacs ont été disposés sur quatre étagères dans une chambre climatique de 5.02 m² maintenue à $27 \pm 1^\circ C$ et $60 \pm 5\%$ d'humidité relative grâce à un système de chauffage couplé à un humidificateur dont la position de la buse d'aération est reprise sur les figures 16_A et 16_B. Les six bacs brassés ont été disposés aléatoirement sur les étagères de gauche (Etagère_1 et Etagère_2) afin de faciliter le câblage des moteurs. Tandis que les trois bacs témoins ont été disposés sur les étagères de droite (Etagère_3 et Etagère_4) (figure 16_A). Les bacs étant répartis sur les 3 étages (haut, milieu, bas) comme repris sur la figure 16_B.

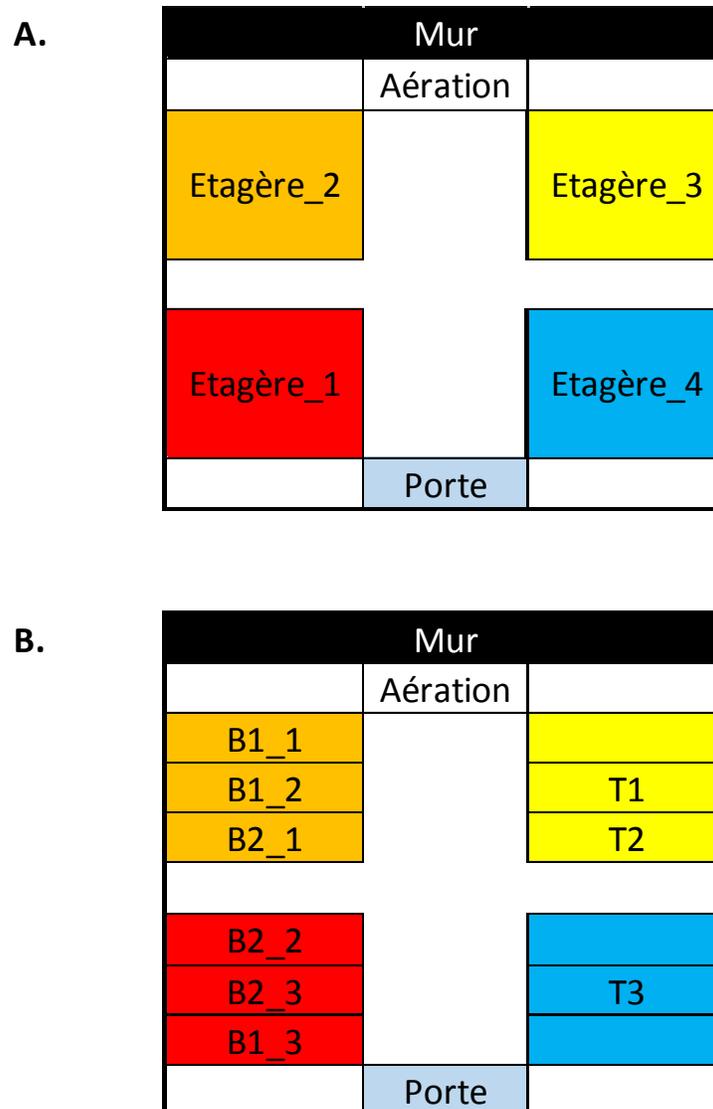


Figure 16. A. Vue du dessus de la disposition des étagères dans la chambre climatique ; B. répartition des bacs dans les étagères, (Source : Florent Lowet).

2.1.3 Substrat

Comme décrit précédemment en introduction, le substrat est à la fois la nourriture et le milieu de vie des larves. Au début de l'expérience chacun des bacs a reçu une quantité de 16 kg de substrat à base de coproduits brassicoles composés à 50% de houblon, à 25% de drèches et à 25% de carottes broyées. Au total 144 kg de substrat furent nécessaires pour la totalité des bacs.

2.2 Protocole expérimental

2.2.1 Mesures des paramètres biotiques

2.2.1.1 Suivi de la croissance des larves

Un suivi du poids des larves a été réalisé tous les quatre jours après le début du lancement de l'expérimentation. Tel que recommandé par Bosch et al. (2020), pour limiter les perturbations subies par

les larves lors de leur manipulation, seulement 50 larves sont prélevées en surface du substrat dans chaque bac.

Le prélèvement des larves et leur pesée sont réalisés en suivant les étapes décrites ci-après :

- Prélèvement des larves ;
- Nettoyage des larves dans de l'eau à température ambiante et propre ;
- Séchage des larves avec du papier absorbant ;
- Pesée des larves à l'aide de la balance de précision à 0.001g ;
- Dépôts des larves dans leur bac d'origine.

Ce suivi du poids des larves permet d'obtenir les courbes de croissance des larves pour chaque modalité de brassage.

2.2.1.2 Taux de conversion

Le taux de conversion est le rapport entre la masse d'aliments apportée aux larves et la masse d'aliments réellement consommée par les larves. Ce rapport est déterminé sur base de l'équation (formule 1) extraite de l'article de Bosch et al. (2020).

$$\text{Taux de conversion} = \left(\frac{(MSL_{end} - MSL_{start})}{(D_{start} - R_{end})} \right) \times 100$$

Formule 1 Taux de conversion

Avec :

- MSL_{end} la masse de larves en matières sèches en fin d'expérimentation, [g]
- MSL_{start} la masse de larves en matières sèches au départ de l'expérimentation, [g].
- D_{start} la quantité de substrat en matières sèches apporté dans le bac d'élevage, [g].
- R_{end} la quantité de résidus (substrat, exuvies, fèces) en matières sèches restant dans le bac en fin d'expérimentation.

2.2.1.3 Mortalité

Le pourcentage de mortalité des larves pour chaque modalité a été calculé en comparant le nombre de larves initiales avec le nombre de larves finales (formule 2).

$$\text{Pourcentage de mortalité} = \left(\frac{L_{\text{finales}}}{L_{\text{initiales}}} \right) \times 100$$

Formule 2 Taux de mortalité [%]

Avec :

- L_{finales} le nombre de larves en fin d'expérimentation.
- L_{initiales} le nombre de larves en début d'expérimentation

Le nombre de larves étant calculé sur base de la formule 3.

$$\text{Nombre de larves initiales/finales} = \frac{P_{\text{tot}}}{P_{\text{moy}}}$$

Formule 3 Estimation du nombre de larves à partir du poids moyen d'une larve

Avec :

- P_{tot}, le poids frais du total des larves en début/fin d'expérimentation, [g].
- P_{moy} le poids moyen d'une larve en début/fin d'expérimentation, [g].

2.2.2 Mesures des paramètres abiotiques

2.2.2.1 Humidité globale du substrat

Tous les 4 jours un prélèvement au centre de chaque bac est réalisé afin de prélever 50g de substrat (sans larves), le substrat est prélevé à la cuillère sur toute la hauteur du substrat. Le substrat est ensuite pesé avec la balance de précision à 0.001g et passé en étuve à 105°C pendant 48h, l'échantillon est alors pesé à nouveau et le taux de matière sèche est déterminé grâce à la formule 4.

$$\text{Pourcentage d'humidité massique} = \left(\frac{P_{\text{sec}} - T_{\text{are}}}{P_{\text{frais}}} \right) \times 100$$

Formule 4 Pourcentage d'humidité massique [%]

Avec :

- P_{sec} la masse d'échantillon après passage en étuve, [g]
- T_{are} la masse du contenant de l'échantillon, [g]
- P_{frais} la masse d'échantillon frais, [g]

2.2.2.2 Humidité en surface du substrat

En suivant le même protocole que pour l'humidité globale, l'humidité de surface du substrat est suivie tous les 4 jours en prélevant au centre du bac 25g de substrat à la cuillère. Cette fois, le prélèvement est réalisé uniquement sur les deux premiers centimètres de substrat afin de caractériser la surface. L'échantillon est pesé puis passé à l'étuve pendant 48h à 105°C et pesé à nouveau une fois sorti de l'étuve afin de déterminer le pourcentage de matière sèche avec la formule 1 décrite ci-avant.

2.2.2.3 pH

Un suivi du pH est également réalisé tous les 4 jours avec un pH-mètre (206-pH2, Testo, Allemagne) en un point au centre de chaque bac afin de suivre l'impact des larves sur les caractéristiques physico-chimiques du substrat.

2.2.2.4 Humidité relative et température

Comme détaillé dans la partie Système de suivi (section 2.3.3), des sondes mesurent l'humidité relative et la température de l'air dans chaque bac toutes les cinq minutes afin d'obtenir un suivi continu des conditions abiotiques dans les bacs. Ces mesures permettent de s'assurer que tous les bacs évoluent dans des conditions identiques de température et d'humidité et renseigneront sur les différences d'évaporation d'eau du substrat selon les différentes modalités de brassage.

La mesure de la température du substrat a pour but d'étudier l'efficacité du suivi de la position des larves dans le bac.

2.2.3 Clôture de l'expérimentation

L'expérimentation débutant le 4 novembre est clôturée après un nombre de jours de suivi fixe pour tous les bacs, ce jour est fixé pendant l'expérience après apparition des premières prépuces. Le système de brassage des bacs est alors arrêté et les rampes d'accès au système de récolte sont ouvertes pour permettre la migration des prépuces et leur récolte. Le poids cumulé de prépuces récolté est suivi quotidiennement jusqu'à la migration de la totalité des larves. Au besoin, de l'eau est ajoutée pour augmenter l'humidité du substrat et stimuler la migration des prépuces. La quantité d'eau ajoutée est alors quantifiée pour chaque bac.

Lorsque la totalité des larves a migré, l'expérience est définitivement clôturée. Le poids de substrat restant dans chaque bac est pesé et un échantillon de 150g est ensuite prélevé pour déterminer la quantité de matière sèche restante. Le poids total des prépuces de chaque bac est mesuré avec une balance (EMB 600-2, Kern, Balingen, Allemagne, précision : 0.01g) tandis que leur nombre est estimé en réalisant une série de moyennes du poids de cinquante larves afin d'atteindre 5% du nombre de prépuces comme réalisé pour la population initiale de larves (cf section 2.1.1). Un échantillon de 50g de prépuces est prélevé dans chaque bac pour quantifier le taux de matières sèches des prépuces. Les prépuces restantes sont congelées dans le but de réaliser des mesures ultérieures et de garantir leur conservation.

2.3 Conception d'un système de production

2.3.1 Bacs d'élevage

Les neuf populations d'élevage sont maintenues dans neuf bacs en polypropylène (PP) de 60 cm de longueur x 40 cm de largeur x 23.5 cm de hauteur (30.622.DB.1, Transoplast, Pays-Bas) (figure 17.D), ce matériau est utilisé car il est compatible avec le contact alimentaire ce qui exclut tout impact délétère sur le développement des larves. Une paroi dans la longueur de chaque bac a été modifiée afin de créer une pente de 30° (Diener et al., 2011) pour permettre l'auto-collecte des larves (figure 17.C). Pendant la période de brassage une paroi en polychlorure de vinyle (PVC) (Superplastic, Liège) maintient l'accès au système d'auto-collecte fermé (figures 17.A, 17.B) afin d'assurer le bon déroulement du brassage au niveau de la pente.



Figure 17 Prototype du bac d'élevage : A. Photo avec accès à la rampe fermée ; B. Photo avec accès à la rampe ouverte ; C. Pente de 30° du système de récolte ; D. Vue du dessus du bac, (Source : Florent Lowet).

2.3.2 Système de brassage

Sur les neuf bacs, six sont équipés d'un système de brassage composés de trois vis sans fin (figure 17.D) dessinées avec le logiciel Blender®, version 2.81 en utilisant la base en licence libre disponible sur le site internet⁴ de thingiverse. Les vis ont été imprimées en trois dimensions (3D) à l'aide d'une imprimante Luzbot taz 6.

2.3.2.1 Description des tests de brassage

Au préalable à la conception des vis finales, des tests ont été réalisés afin d'estimer l'efficacité d'un brassage horizontal en fonction de l'espacement des vis et de leur vitesse de rotation. Un premier prototype de vis de 5 cm de diamètre et de 25 cm de longueur a été réalisé afin d'être testé dans des bacs blancs Ikea (TROFAST 42x30x10 cm, Ikea) (figure 18).



Figure 18 Test de brassage avec un espacement des vis de 23 cm, (Source : Florent Lowet).

Lors de ces tests le substrat alimentaire a été disposé dans un bac blanc équipé de deux vis. L'efficacité des vis a été mesurée au moyen d'un colorant noir en poudre en étudiant le temps nécessaire à ce colorant pour effectuer un tour complet du bac. Après 20 minutes de brassage le pourcentage de surface brassée (colorée) par rapport à la surface totale de substrat a été calculé grâce à une analyse d'image. L'outil JRuler a été utilisé pour passer de la taille en pixel à la taille réelle en cm. Les mesures ont été réalisées à partir des images des films enregistrés (dispositif de test figure 19) avec un téléphone portable Huawei P9 Lite en résolution 1080p.

⁴ Lien internet du dessin libre licence : <https://www.thingiverse.com/thing:3894371>



Figure 19 Dispositif de brassage et suivi vidéo, (Source : Florent Lowet).

2.3.2.2 Résultats des tests de brassage

Les premiers résultats obtenus avec trois kilogrammes de substrat sont en accord avec la littérature sur les systèmes de brassage horizontaux, à savoir qu'ils ne sont efficaces que dans l'environnement proche de la vis (Ameur, 2018). Cependant en doublant la quantité de substrat apportée (6 kg) de manière à recouvrir complètement les vis, un courant de brassage se crée. Ce courant est dû à l'apparition de zones d'accumulation et de zones lacunaires en substrat, ce dernier se déplaçant des zones d'accumulation vers les zones lacunaires, et créant un mouvement de rotation dans tout le bac (figure 20).

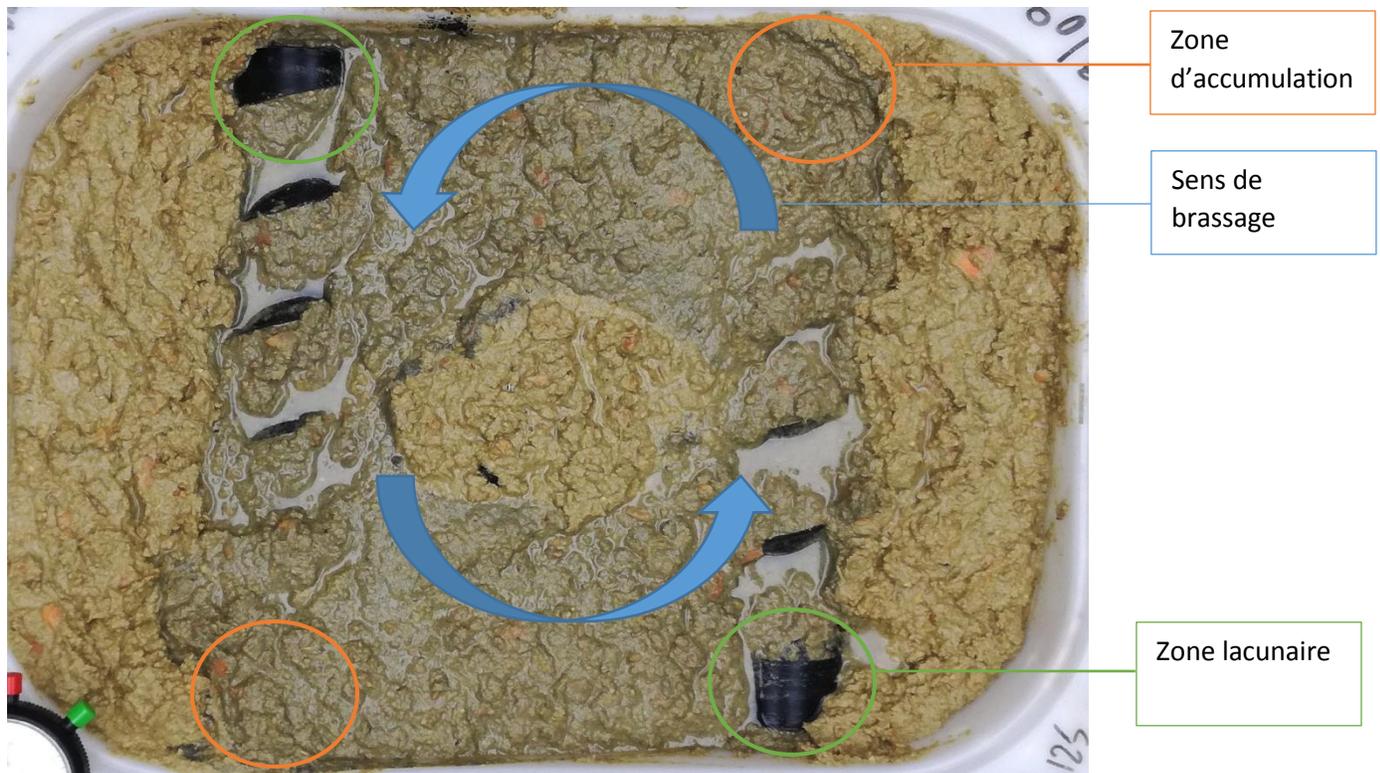


Figure 20 Fonctionnement du système de brassage après 20 minutes de brassage avec un espacement de 18 cm des vis, les zones brassées sont grisées par le colorant tandis que les zones non brassées restent jaune, (Source : Florent Lowet).

Le second résultat observé a été l'efficacité du système de brassage ainsi configuré pour répartir l'eau dans tout le bac en la faisant remonter du fond de celui-ci. En effet, l'eau contenue dans le substrat a tendance à percoler dans le fond du bac ce qui pose des problèmes pour les larves. Or on peut distinguer que les zones brassées sont bien plus humides en surface que les zones non brassées.

La première étude de ce système de brassage a donc permis de constater l'efficacité de celui-ci à remonter l'eau stagnant au fond du bac et à l'homogénéiser le substrat entre les vis de brassage à condition d'apporter une quantité de substrat suffisante (la hauteur de substrat doit être supérieure au diamètre des vis, 5 cm).

La vitesse de rotation des vis influence directement la vitesse de brassage. A un espacement de 13 cm des vis le brassage à 18 tours/minute (tr/min) achevait une révolution du colorant en 1 minute 53 secondes contre 3 minutes 29 secondes pour le même espacement à 9 tr/min.

Afin de déterminer le nombre de vis nécessaires par bac afin d'obtenir un brassage optimal, trois espacements des vis 13 cm, 18 cm (figure 20) et 23 cm (figure 19) ont été comparés à une vitesse de 9 tours/min. Sur base de ces tests, les espacements de 13 et 18 cm étaient concluants et permettaient une rotation de colorant en 3 minutes 29 secondes et 6 minutes 49 secondes respectivement. Pour une surface brassée après 20 minutes de brassage de 44% pour l'espacement à 13 cm contre 39% pour l'espacement à 18 cm. Ce résultat permet de garantir une efficacité de brassage entre ces deux valeurs d'espacements des vis. Afin d'augmenter le pourcentage de surface brassée du système final, les vis ont été disposées

proche des parois (5 cm par rapport au centre des vis) pour contraindre le substrat à rester dans la zone brassée. Etant donné la largeur des bacs de 40 cm deux vis ne sont pas suffisantes pour obtenir un espacement de 18 cm maximal c'est pourquoi trois vis ont été utilisées. Pour obtenir un espacement équivalent entre chaque vis celles-ci sont disposées à 15 cm d'écart (figure 21).

Le système est en contact avec des larves vivantes et il a été pris comme postulat que la vitesse devait être la plus faible possible afin de limiter le potentiel impact négatif du brassage sur le développement des larves, c'est pourquoi la vitesse de rotation dans l'expérience finale a encore été réduite de moitié pour atteindre 5 tr/min.

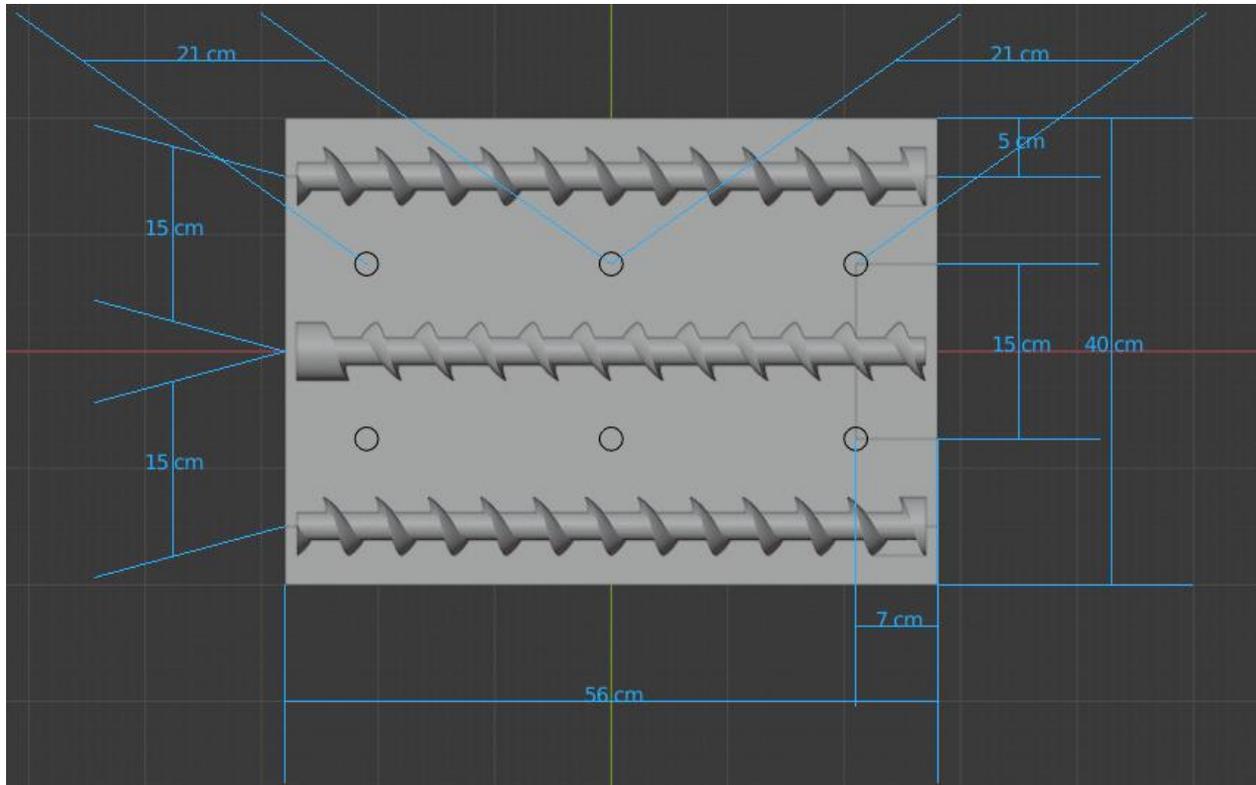


Figure 21 Vue schématique du dessus d'un bac d'élevage reprenant les dimensions et la position des vis et des six sondes LM35 (cercles noirs) fixées dans le fond du bac, (Source : Florent Lowet).

De la même manière après conception des bacs d'élevage un test de brassage filmé avec ajout de colorant a été réalisé à la vitesse de rotation finale de 5 tr/min. Sur base de ce test 16kg de substrat ont été nécessaires afin d'atteindre une hauteur suffisante pour le brassage, tandis que la durée de brassage nécessaire a été estimée à 30 minutes.

2.3.2.3 Conception des vis de brassage

Parmi les matériaux accessibles à la conception des vis le choix s'est porté sur l'acide polylactique (PLA) en raison de sa facilité d'impression, sa biocompatibilité et son prix abordable. Son principal défaut dans l'application de l'élevage d'*Hermetia illucens* est sa faible résistance thermique (fiche technique des matériaux Neofil3D).

Afin de correspondre aux dimensions des bacs d'élevages décrits précédemment les dimensions des vis finales sont de 5 cm de diamètre et 54 cm de longueur.

Les vis ne pouvant pas être imprimées en une seule pièce au vu de leurs dimensions trop importantes par rapport à la capacité de l'imprimante Luzbot taz 6 utilisée, une impression en trois parties a été réalisée. Pour permettre une meilleure prise lors de l'assemblage des trois parties de vis réalisées en utilisant une colle toutes surfaces (Pattex, High Tack), la partie des vis au contact de la colle a été dessinée en biseau (figure 22) afin d'augmenter la surface de contact.



Figure 22 Assemblage de deux parties d'une vis, (Source : Florent Lowet).

Les vis ont été remplies à 30% en utilisant un remplissage rectiligne (figure 23) afin de limiter la quantité de PLA utilisée. Dans ces conditions les trois parties d'une vis (figure 24) nécessitaient 23 heures d'impression pour un total de 208 grammes de matériau.

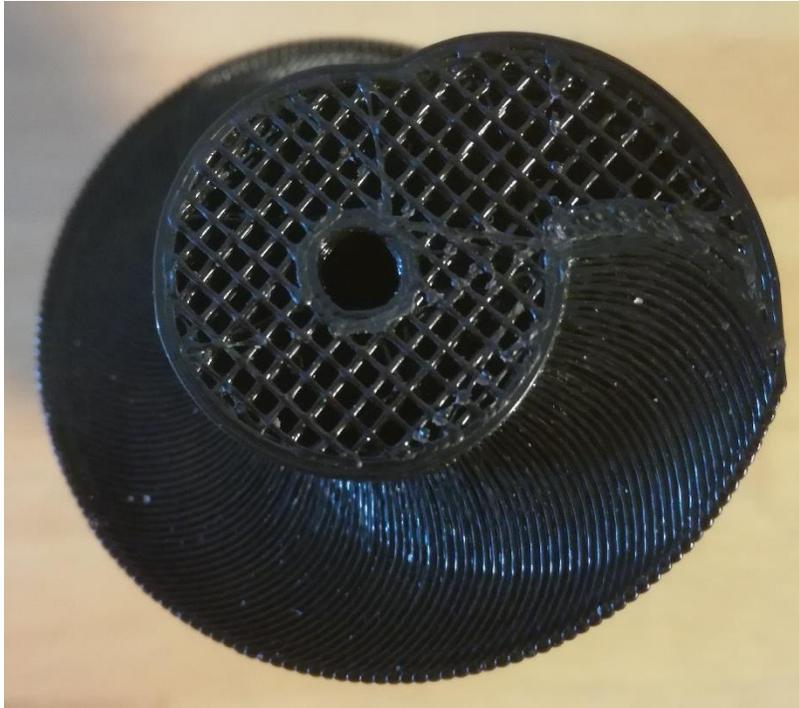


Figure 23 Remplissage rectiligne à 30% de remplissage, (Source : Florent Lowet).

Une réduction de matière est possible étant donné la bonne conservation des propriétés mécaniques de départ, en effet un remplissage rectiligne à 20% permet de maintenir des propriétés mécaniques de l'acrylonitrile butadiène styrène (ABS) de 42 à 63% des propriétés mécanique du remplissage à 100% (tableau 1) (Akhoundi et Behraves, 2019).

Table 1 Résistances de l'ABS obtenues pour un remplissage rectiligne tirées des graphiques de l'étude de Akhoundi et Behraves, 2019.

Taux de remplissage [%]	20%	50%	100%
Résistance à la traction [MPa]	30	35	53
Résistance à la flexion [MPa]	42	50	100
Module de Young [GPa]	2.1	2.6	3.3



Figure 24 Collage des vis sans fin imprimée en 3D, (Source : Florent Lowet).

2.3.2.4 Contrôle de la rotation des vis

Chaque vis est mise en rotation par un moteur à courant continu alimenté en 12 V (ZYTD520, Greartisan), équipé d'un réducteur (ZGA37RG, Zhengke) permettant d'obtenir une vitesse de rotation de 5 tr/min. Les moteurs sont fixés aux vis à l'aide d'un moyeu de 6mm (Lynxmotion) et sont montés sur un support de fixation d'un diamètre de 37 mm (Pololu) (figure 25).

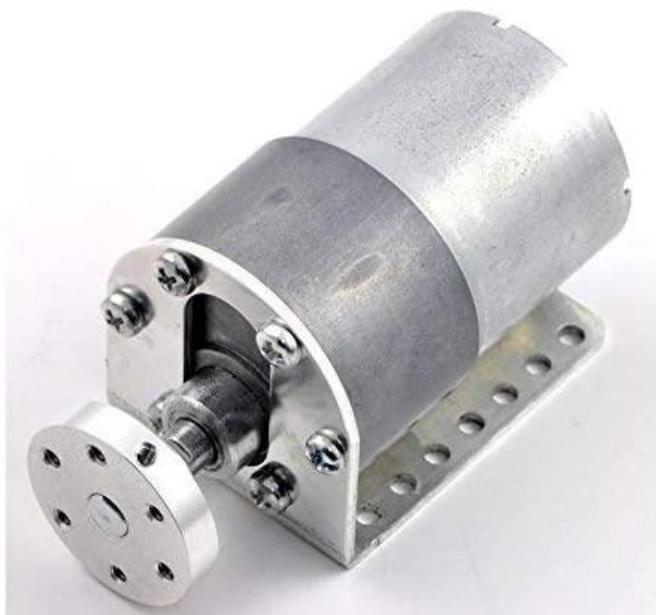


Figure 25 Moteur équipé d'un moyeu et d'un support de fixation, (Source : www.pololu.com)

Les 18 moteurs sont alimentés via une alimentation 12 V (S-150-12, MeanWell) et leur contrôle est réalisé grâce à six relais (module relais 8 canaux 5V, Elegoo) et une carte Arduino UNO.

L'Arduino UNO est une plateforme de programmation utilisant un microcontrôleur ATmega328P (Atmel) afin de contrôler des composants électroniques via les broches d'entrées/sorties (E/S) disponibles sur la plateforme Arduino. Le logiciel de programmation en libre licence utilisé est Arduino IDE et se base sur un langage de programmation C++.

Les broches E/S numéro 7 et 8 de l'Arduino UNO contrôlent les six relais à raison de trois relais (IN sur la figure 26) par broche, chaque relais contrôlant les trois moteurs d'un bac. Le fonctionnement des relais est similaire au fonctionnement d'un interrupteur : les relais laissent passer un courant ou non en fonction de leur position. Les relais sont utilisés en « Normally Open » (NO) c'est-à-dire que lorsque le signal reçu des broches 7 et 8 est à l'état bas, les relais ne laissent pas passer le courant : ils sont dits « ouverts », lorsque le signal reçu est à l'état haut les relais laissent passer le courant : ils sont dits « fermés ».

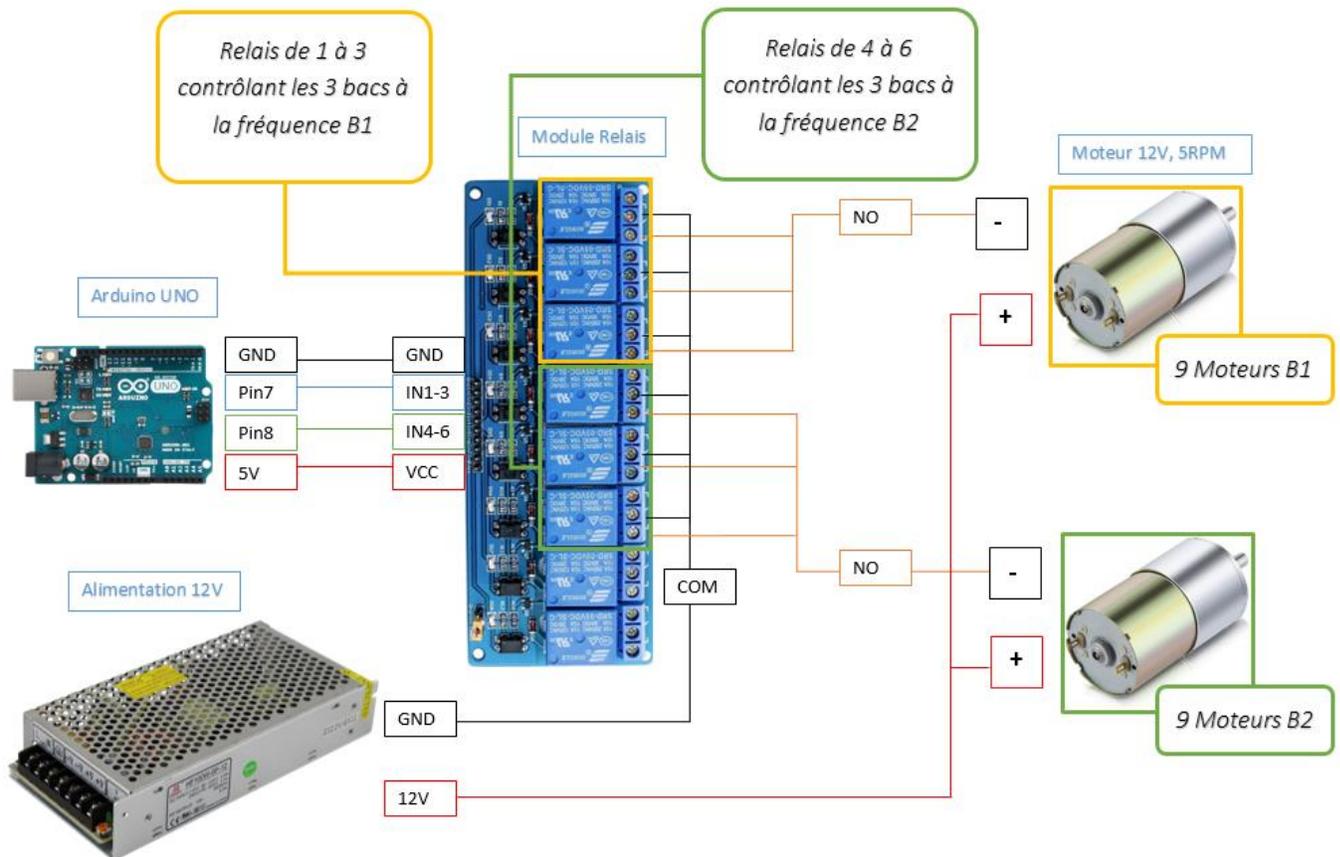


Figure 26 Schéma du contrôle et de l'alimentation des moteurs à courant continu, (Source : Florent Lowet).

Les deux broches de l'Arduino envoient des impulsions de commande afin de générer les deux fréquences de brassage distinctes (figure 27). Sur une journée la première fréquence est divisée en six périodes de 30 minutes de brassage et la seconde fréquence en deux périodes de 30 minutes. De cette manière les bacs sont brassés plusieurs fois sur une journée pour assurer une meilleure répartition de l'effet du brassage.

Le code (Annexe 1) permettant le contrôle des moteurs se base sur l'utilisation d'un « Timer » (Timer2 de l'Arduino Uno). Le Timer permet de compter les impulsions de l'horloge interne du microprocesseur de l'Arduino afin d'activer la rotation des moteurs à un moment précis. Une structure de contrôle « if » permet de changer l'état des broches 7 et 8 aux délais voulus grâce à une boucle qui se répète indéfiniment tout au long de l'expérimentation.

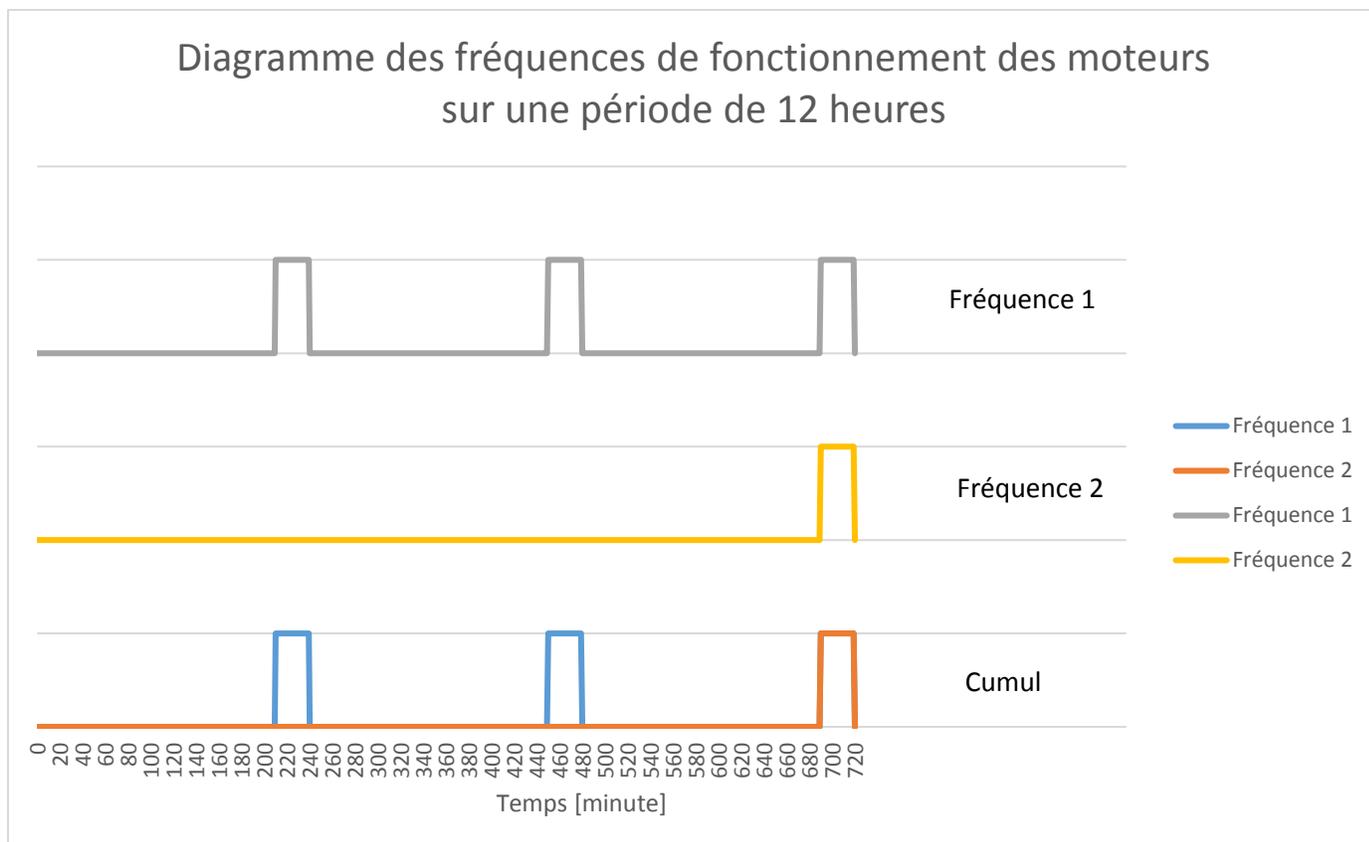


Figure 27 Schéma des deux fréquences de fonctionnement des moteurs et leur cumul, (Source : Florent Lowet).

2.3.3 Système de suivi

2.3.3.1 Test préliminaire de sondes

Afin de sélectionner les sondes de température et d'humidité, un suivi de la phase de grossissement des larves a été réalisé sur un groupe de 10 000 individus élevés dans un bac d'élevage de 56 cm de large sur 76 cm de long. L'expérimentation s'est déroulée dans une atmosphère maintenue à 27°C jusqu'à l'auto-récolte des larves au bout de 20 jours. Le bac d'élevage a été équipé de cinq sondes SHT75 (Sensirion) pour mesurer l'évolution de l'humidité relative et de la température de l'air à l'intérieur du contenant. Une sixième sonde SHT75 a permis de suivre les conditions ambiantes. Deux sondes EC-5 (Metergroup) ont été utilisées pour mesurer l'humidité en volume du substrat et un thermocouple pour la température du substrat (figure 28). En complément, le taux d'humidité du substrat a été mesuré deux fois par semaine en prélevant du substrat pour le faire sécher en étuve comme décrit en section 2.2.2.

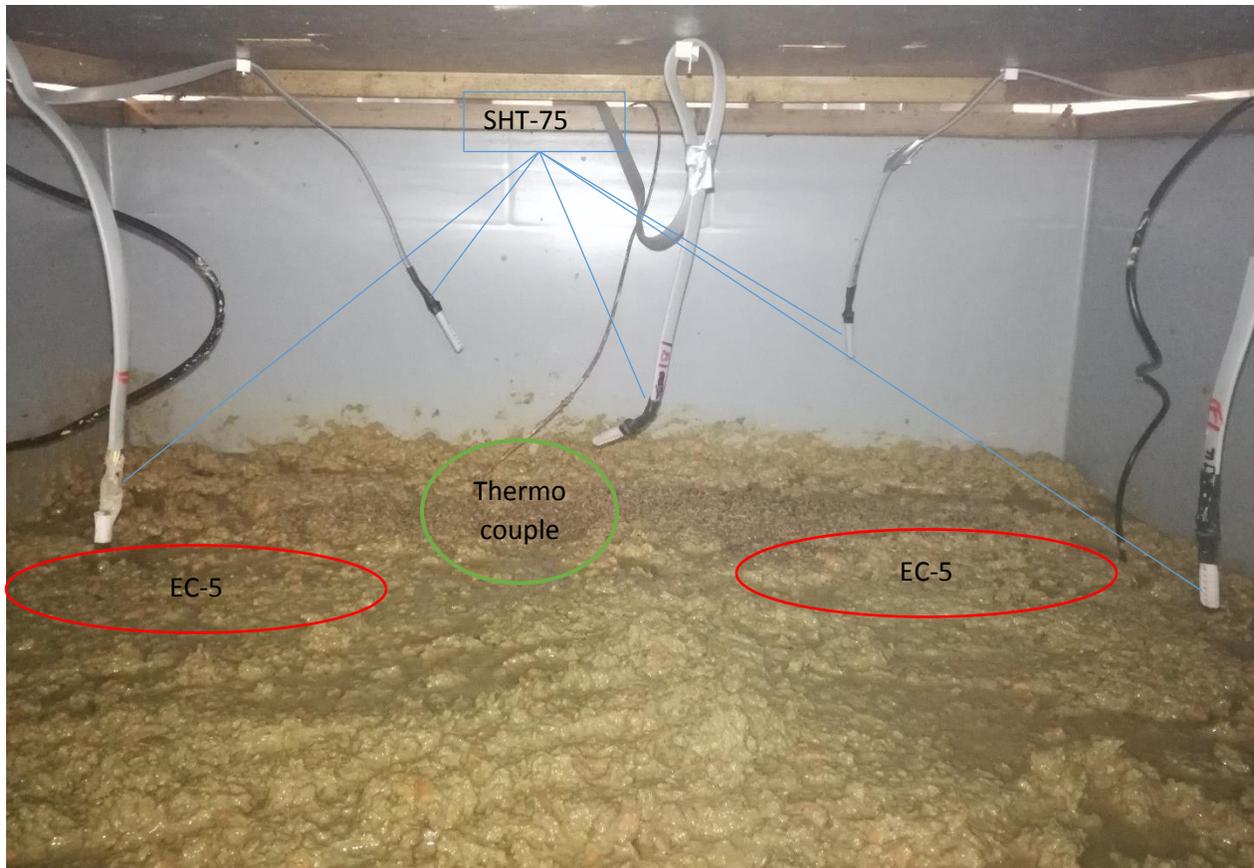


Figure 28 Bac de l'élevage expérimental équipé des sondes testées, (Source : Florent Lowet).

Les résultats de température obtenus repris sur la figure 29 mettent en lumière des grandes variations de température dans le conteneur d'élevage. On observe pendant les premiers jours après le lancement du bac d'élevage (du 28 au 31 mai), une succession de périodes froides (courbes décroissantes) et de périodes chaudes (courbes croissantes), Il s'agit des variations de température journalière. On remarque ensuite des chutes de températures les trois premiers jours de juin ainsi que les 13 et 15 juin 2020. Ces variations apparaissent lorsque les températures et l'insolation extérieures augmentent ce qui active la climatisation du conteneur à l'origine. Ensuite une dégradation des conditions météorologiques du 4 au 10 juin (journées pluvieuses diminuant l'insolation et la température journalière) ont induites une stabilisation de la température à l'intérieur du conteneur à 29°C et de l'air du bac entre 25 et 27°C. Pour ce qui est de la température du substrat, on commence à observer des pics de températures ponctuels pouvant aller jusqu'à 34,3 degrés Celsius (°C) le 8 juin, ces pics de températures sont dus à la présence des larves sur le capteur de température. Les larves ont un comportement grégaire et lorsqu'elles sont suffisamment grandes et nombreuses leur métabolisme émet des températures suffisamment importantes pour observer ces pics de températures.

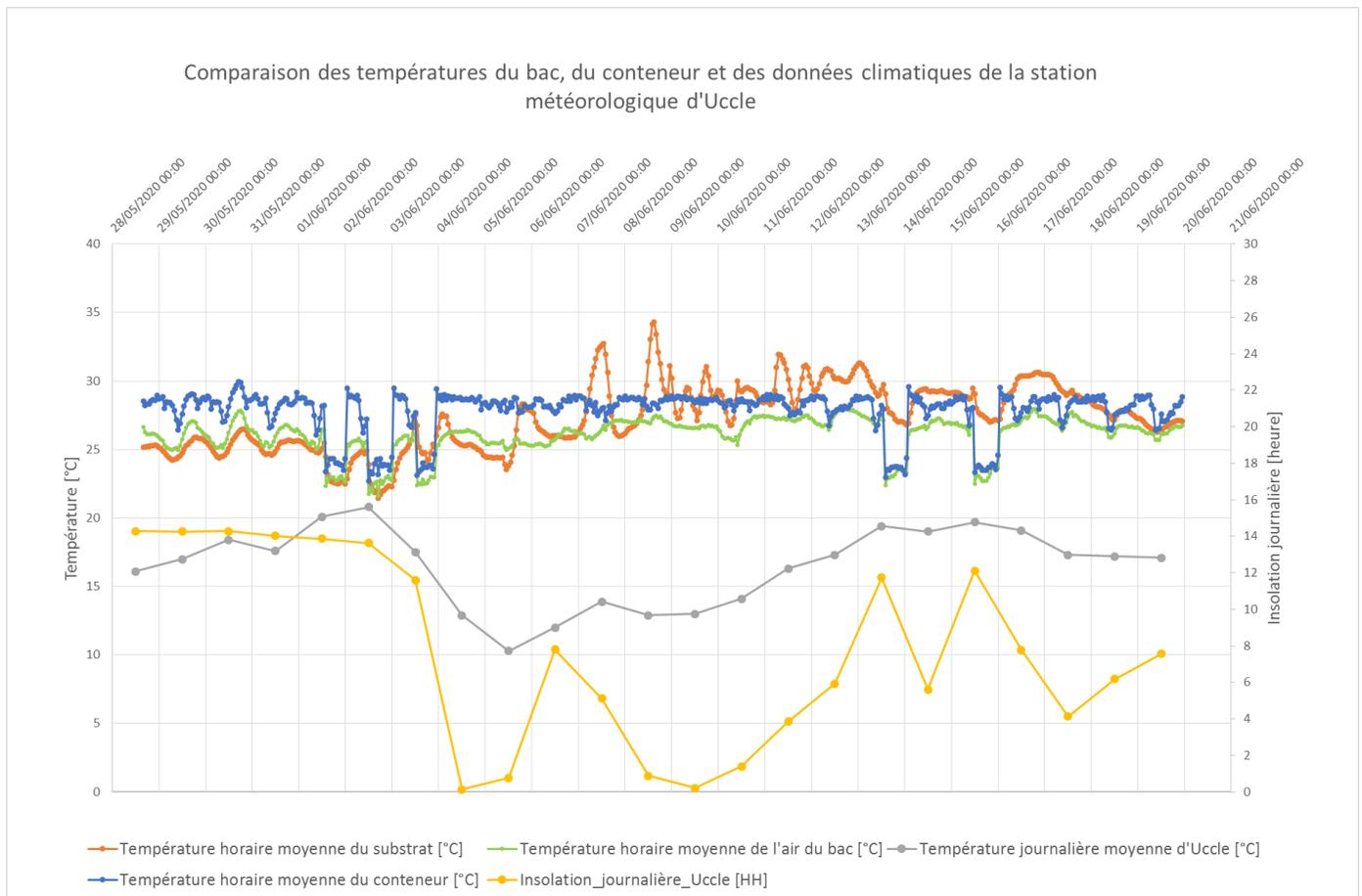


Figure 29 Résultats du suivi des variations de température du bac et du conteneur mise en relation avec les données de température et d'insolation de la station météorologique d'Uccle, (Source : Florent Lowet).

Ces premiers résultats ont permis d'affirmer la fiabilité des sondes SHT75 ainsi que du thermocouple et ont mis en évidence l'impact de la météorologie sur la température du conteneur. C'est pourquoi il a été décidé, afin d'obtenir des données exemptes de ces variations, de réaliser l'expérience sur le brassage dans une chambre climatique mieux isolée.

Les résultats du suivi de l'humidité obtenus sont repris sur la figure 30. Comme pour les données de température les moyennes horaires reprises sur le graphique ont été obtenues en réalisant une moyenne horaire. Les points en rouge représentent les jours où du substrat a été ajouté dans le bac. L'apport a été réalisé comme suit : 12 kg/4kg/4kg/2kg/2kg aux dates reprises sur le graphique. Le pourcentage d'humidité massique initial du substrat est très élevé (87%) et descend à 77% d'humidité 23 jours après le lancement de l'expérience, ce qui témoigne d'une évaporation d'une partie de l'eau initialement contenue dans le substrat. En parallèle, l'air du bac initialement à 50% d'humidité relative augmente pour atteindre 75% après 7 jours, ce qui confirme l'évaporation d'eau en provenance du substrat du bac. L'humidité relative du conteneur est inférieure à l'humidité du bac d'élevage, la première initialement inférieure à 30% n'excède pas les 50% d'humidité sauf en cinq pics. Ces pics correspondent à nouveau avec les jours chauds à forte insolation où la climatisation a été enclenchée. Malgré l'humidité élevée du substrat en fin

d'expérimentation (77%), un phénomène d'assèchement en superficie du substrat a été observé ce qui a engendré un arrêt de la migration des prépuces (figure 31).

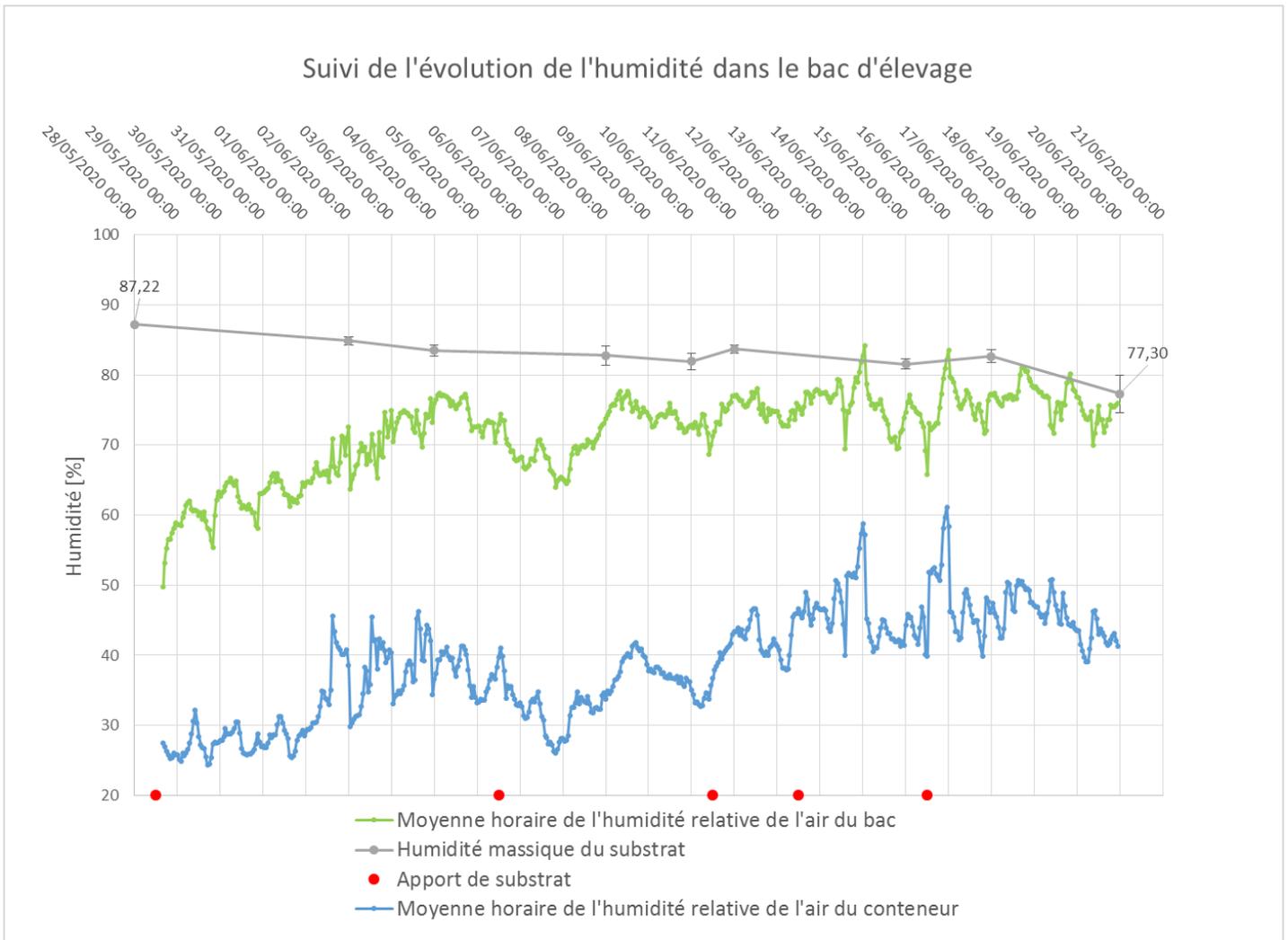


Figure 30 Résultats du suivi des variations d'humidité relative du bac et du conteneur et du pourcentage d'humidité massique du substrat, la courbe verte reprend la moyenne des humidités relatives obtenues à partir des 5 sondes SHT75, la courbe bleue reprend l'humidité relative de la sonde SHT75 en dehors du bac et la courbe grise reprend le pourcentage d'humidité massique du substrat obtenu à partir des prélèvements de substrats soumis à dessiccation en étuve pendant 48h, (Source : Florent Lowet).



Figure 31 Problème d'assèchement du substrat en surface et présence de pupes dans le substrat, (Source : Florent Lowet).

Les résultats d'humidité obtenus via les sondes EC-5 ne seront pas décrits car ils n'ont pas été concluants. Un échec de la calibration avec le substrat pour les mesures d'humidité en est la cause. Ces sondes étant initialement prévues pour mesurer l'humidité du sol, il est probable qu'elles ne soient pas compatibles avec l'humidité rencontrée dans le substrat de l'élevage. De plus, le caoutchouc autour des sondes était attaqué par les larves.

Sur base de ce test préliminaire des sondes, il a pu être mis en évidence l'efficacité du suivi de l'humidité relative et de la température de l'air ainsi que la possibilité de suivre la dynamique de l'élevage grâce à des capteurs de température dans le substrat. C'est pourquoi il a été décidé de continuer à suivre ces paramètres dans l'expérimentation finale étudiant l'impact du brassage sur le développement des larves. Cependant la sélection des capteurs basée sur les critères financiers, de précision et de disponibilité sur le marché ne s'est finalement pas portée sur les sondes SHT75 mais sur des sondes DHT22 également appelée RHT03 (Adafruit, États-Unis). Celles-ci bien que moins précises sont moins onéreuses et ont permis d'équiper les bacs d'un nombre plus important de sondes. Pour avoir un aperçu de la position des larves il a été décidé d'implémenter des sondes de température LM35 (Texas Instruments, États-Unis) en plusieurs points au fond des bacs.

Les sondes DHT22 sont composées d'un capteur capacitif afin de mesurer l'humidité relative, et d'une thermistance afin de mesurer la température. Le capteur comprend quatre broches (Pin sur la figure 32) : la première (VDD) alimente le capteur en courant, la seconde (DATA) permet l'envoi du signal digital vers le système d'acquisition, la troisième broche (NULL) est inutile et enfin la quatrième broche (GND) est reliée à la terre.

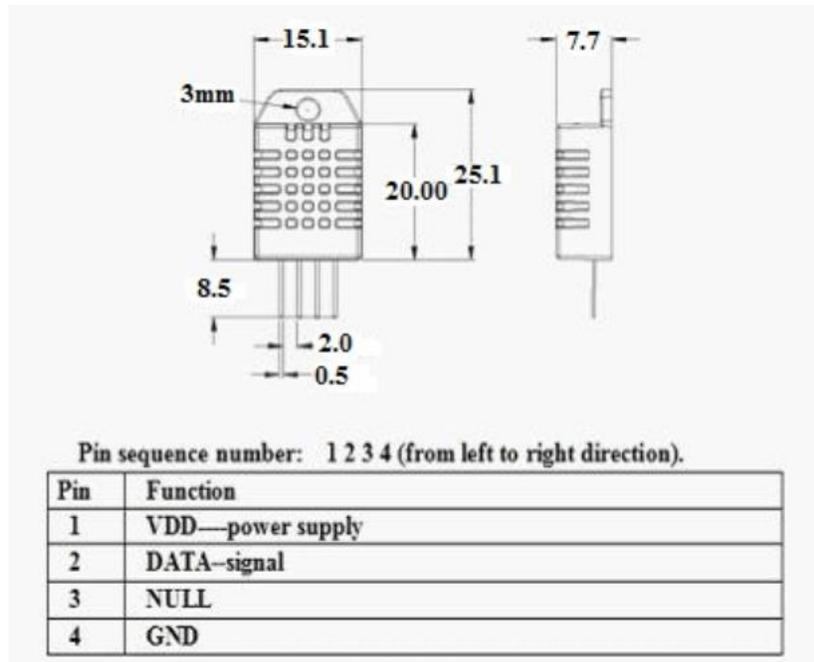


Figure 32 Dimensions (mm) et fonctions des broches du capteur DHT22, (Source : fiche technique RHT03 MaxDetect).

Les sondes LM35 sont composées d'un circuit intégré contenu dans un transistor standard TO-92. Le capteur comprend trois broches (figure 33), la première pour l'alimentation du capteur en courant 5V, la seconde pour l'envoi des mesures en signal analogique et la troisième est reliée à la terre. Le signal envoyé est un signal analogique directement proportionnel à la température en °C de pente 10mV/°C.

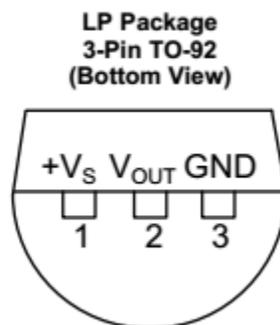


Figure 33 Vue du dessous d'un capteur LM35 reprenant l'assignation des broches, (Source : fiche technique LM35 Texas Instrument).

Chaque bac d'élevage est équipé de cinq sondes DHT22 et de six sondes LM35, ce qui correspond à un total de 99 sondes (45 DHT22 et 54 LM35). Avant de connecter les sondes au système d'acquisition décrit ci-après, celles-ci ont été soudées aux câbles électriques (figure 18 et 19) et protégées de l'humidité avec des gaines thermo-rétractables (Chilitec). L'imperméabilité des sondes LM35 plongées dans le substrat a été réalisée grâce à une résine bi-composante (résine cristal, Gédéo) disposée dans une gaine thermo-rétractable (figure 36).



Figure 34 Câblage via soudure à l'étain d'une sonde LM35, (Source : Florent Lowet).

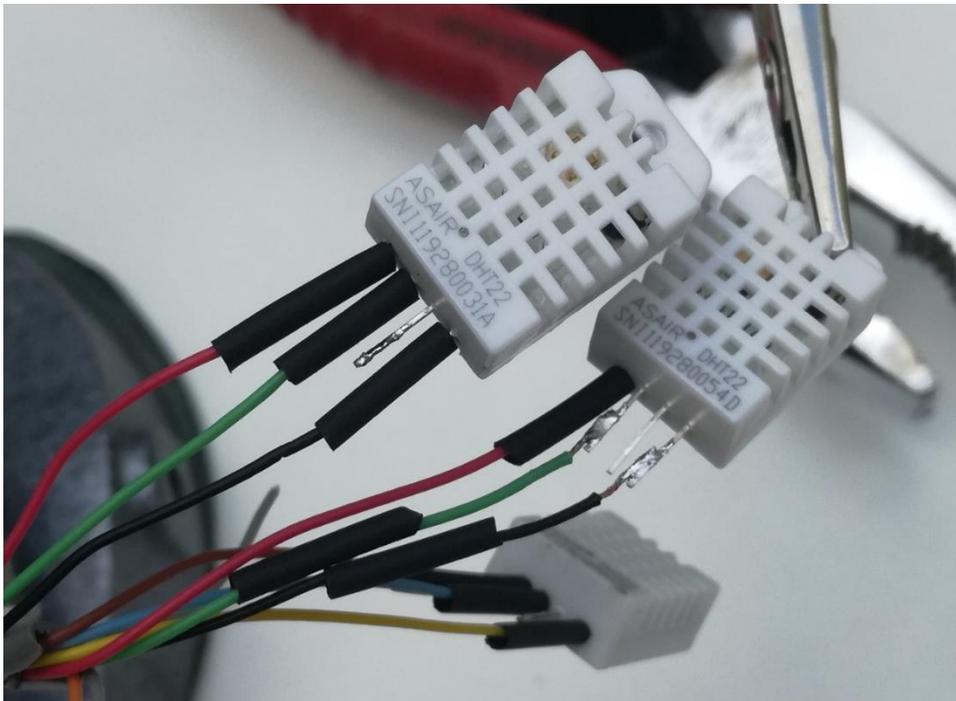


Figure 35 Soudure à l'étain de trois sondes DHT22, (Source : Florent Lowet).



Figure 36 Imperméabilisation à la résine bi-composant des sondes LM35, (Source : Florent Lowet).

Les DHT22 sont fixées 5 cm sous le couvercle et disposées en croix pour couvrir le volume du bac uniformément (Figure 37), tandis que les LM35 sont fixées au fond du bac et disposées entre les vis afin de ne pas gêner lors du brassage. (Figure 21, partie Résultats des tests de brassage, section 2.3.2.2).

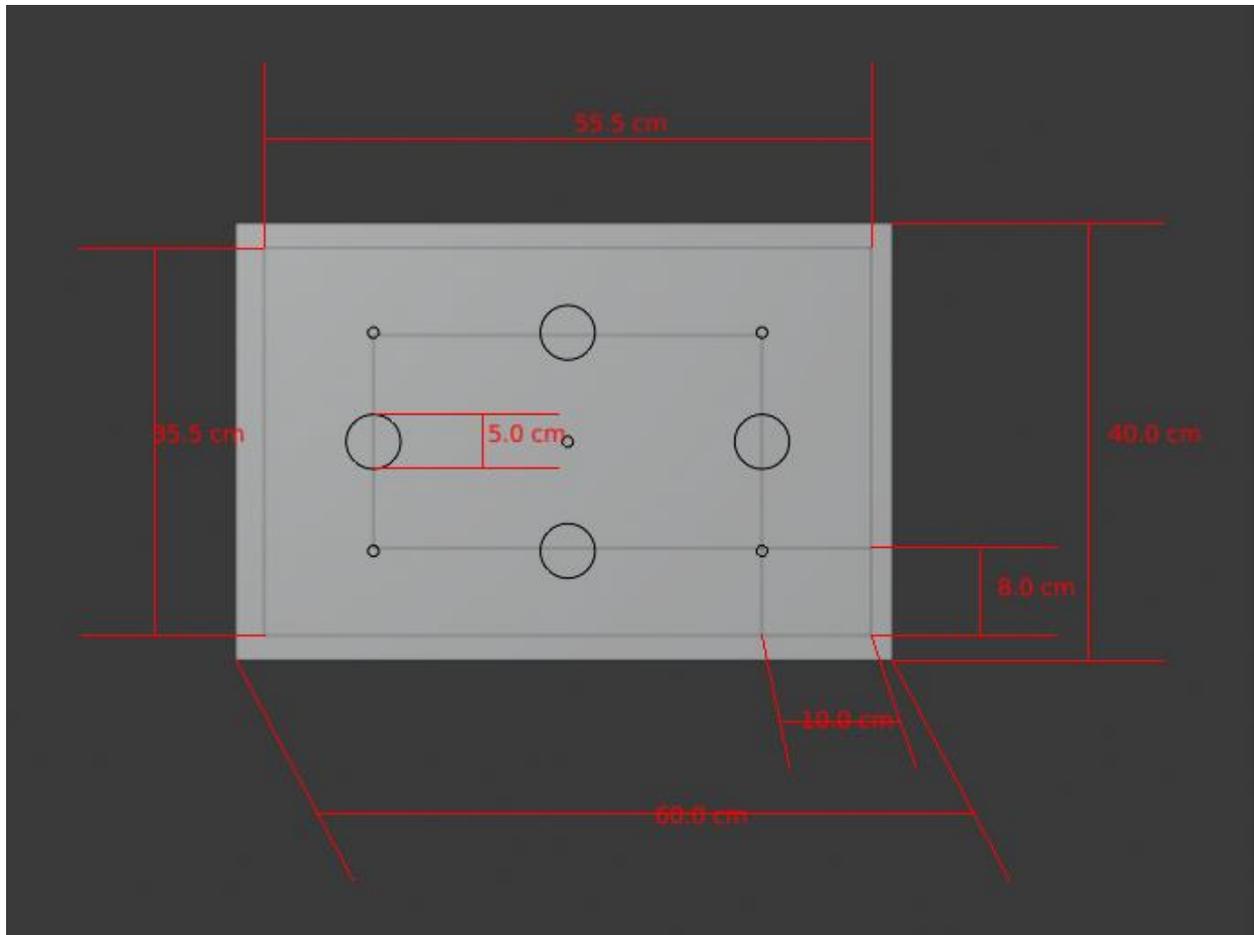


Figure 37 Schéma du couvercle d'un bac reprenant les dimensions ainsi que la position des quatre trous d'aération (cercle noir de 5 cm de diamètre) et des cinq sondes DHT22 (petit cercles noir), (Source : Florent Lowet).

2.3.3.2 Système d'acquisition

L'acquisition des données de température et d'humidité est effectuée toutes les 5 minutes grâce à une station CR1000 (Campbell Scientific Inc, États-Unis) qui se présente sous la forme d'un panneau de câblage (figure 38) sur lequel des capteurs, des alimentations ou des dispositifs de communication peuvent être branchés. La CR1000 est programmée en langage CRBasic et le module Ethernet (NL115, Campbell Scientific Inc) permet le stockage des données sur une carte mémoire.

Au vu du nombre important de sondes LM35 l'ajout d'un multiplexeur Campbell AM16/32b a été nécessaire. Il permet d'augmenter le nombre de capteurs implémentables que peut mesurer la CR1000. Le multiplexeur est un circuit permettant de connecter un nombre élevé de signaux d'entrée (ici 64) sur une seule voie de transmission (signal de sortie) arrivant à la CR1000. Pour ce faire un relais mécanique permet de connecter successivement le signal d'entrée voulu au signal de sortie pendant le temps de la communication et de passer ensuite au signal d'entrée suivant et ainsi de suite. Dans notre cas le multiplexeur est utilisé en mode 4x16, c'est-à-dire que la lecture est effectuée par groupe de quatre terminaux (4 signaux d'entrée). La partie du code CRBasic nommée « Contrôle de l'AM16/32 » permet le contrôle du multiplexeur est repris dans l'annexe 2.

La lecture des sondes DHT22 est réalisée par l'intermédiaire d'une carte Arduino Mega 2560. Par rapport à la carte Arduino Uno, elle dispose d'un nombre de broches disponibles plus important ainsi que d'un plus grand espace mémoire. Les 45 DHT22 sont branchées sur les broches digitales de l'Arduino numéro 2 à 17 et 20 à 48, les broches 18 et 19 étant réservées à la communication série entre l'Arduino et la Campbell. Le code correspondant à la communication série est repris dans la partie « Communication série CR1000-ArduinoMega » de l'annexe 2 du code CRBasic et dans le code Arduino de l'annexe 3. La logique de communication entre l'Arduino et la CR1000 est la relation « maître-esclave », la station Campbell initiant la communication et interrogeant l'Arduino. Pour ce faire une lettre de « a » à « i » a été assignée à chacun des neuf groupes de cinq capteurs (nommé « NumPatch » dans l'annexe 2). La CR1000 va envoyer ces lettres les unes après les autres à l'Arduino qui va ensuite renvoyer les valeurs d'humidité relative et de température correspondant aux cinq capteurs du groupe interrogé.

La figure 38 reprend les différents composants du système d'acquisition et schématise leurs interactions.

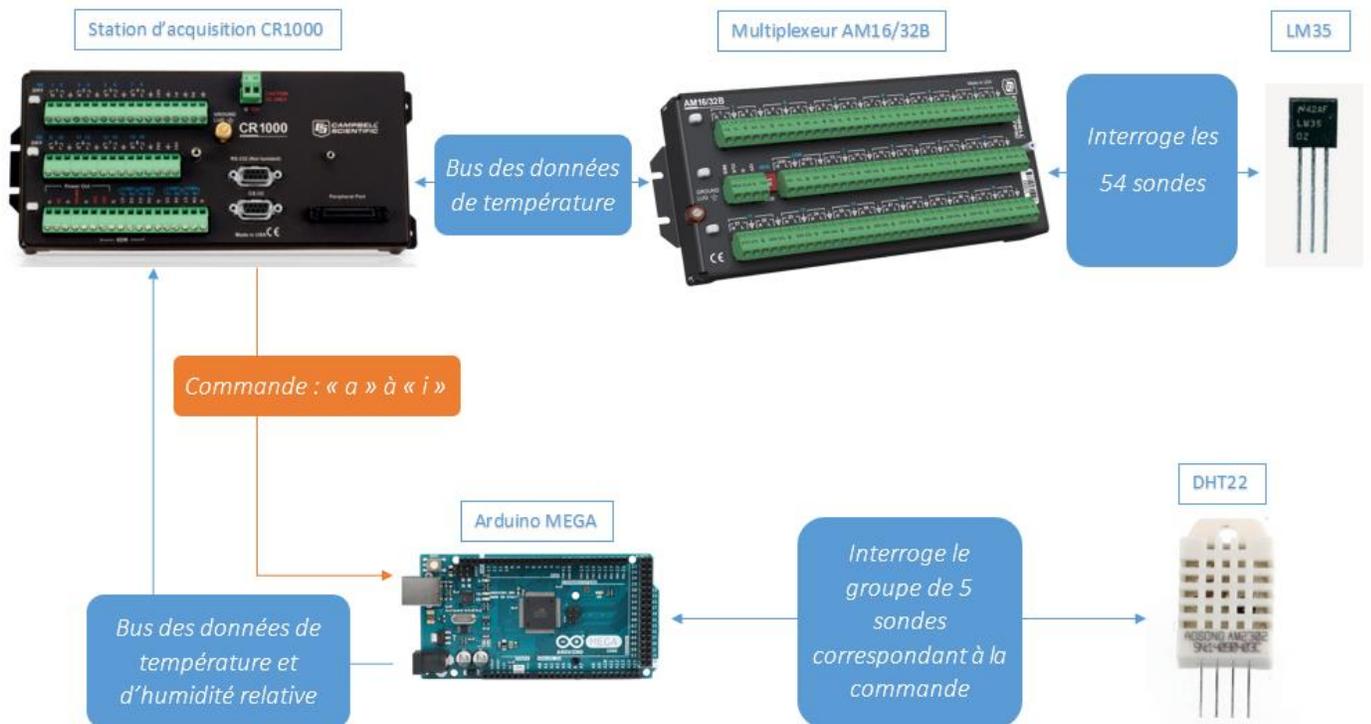


Figure 38 Schéma du système d'acquisition des données de température et d'humidité relatives, (Source : Florent Lowet).

3 Résultats

3.1 Analyses statistiques

L'ensemble des résultats obtenus ont été traités statistiquement à l'aide du logiciel Minitab® (version 17) et sont repris en annexes 4 à 6. Des analyses de la variance à un facteur fixe (AV1) ont été réalisées afin de mettre en évidence l'impact du brassage sur le développement des larves, l'humidité globale et en surface du substrat et sur l'évolution du pH. Un test de Tukey a été réalisé dans le cas où une différence significative ($p < .05$) entre les modalités était observée afin de déterminer entre quelles modalités cette différence a lieu.

3.2 Déroulement de l'expérimentation

Au lancement de l'expérimentation, le mercredi 4 novembre chaque bac s'est vu ajouter 16kg de nourriture et 6700 larves (figure 39). Pendant la nuit du 4 novembre d'importantes fuites d'eau ont eu lieu dans tous les bacs, les fuites ayant lieu au niveau de la jointure des rampes des systèmes de récolte des larves. Ces fuites qui n'ont pu être quantifiées induisent un biais significatif sur l'humidité présente dans les bacs et sur l'impact du brassage étudié.



Figure 39 Ensemencement des 6700 larves dans le substrat d'un bac expérimental, (Source : Florent Lowet).

Au lancement des bacs, les larves ont eu tendance à fuir le substrat (les larves rampent sur les parois figure 40) à cause de l'humidité très élevée du milieu. Ce phénomène est bien connu dans nos élevages et les larves finissent par coloniser le milieu suite à la diminution de l'humidité en surface du substrat après quelques heures. Cependant dans les bacs utilisés certaines larves ont réussi à sortir des bacs en remontant sur les câbles des sondes et en se faufilant entre le bac et la paroi bloquant l'accès des larves à la rampe de récolte, les larves se retrouvant alors prises au piège dans l'eau ayant percolé (figure 41).



Figure 40 Jeunes larves fuyant le substrat directement après l'ensemencement, (Source : Florent Lowet).



Figure 41 Larves prises au piège à l'entrée de la rampe du système de récolte (Source : Florent Lowet).

Le système de brassage a été activé le jeudi 5 novembre à 8h30 afin de laisser le temps aux larves de coloniser leur substrat.

Le lundi 9 novembre, trois vis de brassage étaient cassées et ne permettaient plus le brassage complet de toute la surface des bacs concernés à savoir les bacs B1_1, B2_1 et B2_2. La rupture des vis se produisant toujours au niveau de la jonction collée entre le premier morceau (fixé au moteur) et le second morceau. Le vendredi 13 novembre le nombre de vis opérationnelles ne s'élevait plus qu'à 7 vis sur 18. Tous les bacs brassés avaient au moins une vis manquante, c'est pour cette raison que le système de brassage a définitivement été arrêté le lundi 16 au matin.

La perte de vis vient compromettre l'étude du brassage en induisant différents biais. Par exemple, les bacs ayant perdu la vis centrale (comme le B1_1) se retrouvaient avec le substrat poussé contre la paroi gauche du bac, ceci entraînant des zones hétérogènes dans le bac (zones d'accumulation de substrat à gauche et inondées à droite (figure 42)).



Figure 42 Hétérogénéité de la répartition du substrat du bac 1_1 suite à la rupture de la vis centrale (vis verte). Le substrat s'accumule sur la partie gauche du bac créant des zones de stagnation d'eau sur la partie droite du bac, (Source : Florent Lowet).

Le mercredi 11 novembre, des comportements de fuite des larves induits pendant le brassage ont pu être observés (figure 43). Les larves tentaient de fuir le substrat en escaladant les parois des bacs. Ce phénomène n'était pas présent en dehors des périodes de brassage et dans les bacs témoins.



Figure 43 Comportement de fuite des larves pendant une période de brassage, (Source : Florent Lowet).

Le mardi 17 novembre des pré-pupes commencent à apparaître dans les bacs, la rampe d'accès des bacs au système de récolte a été ouverte pour tous les bacs en fin de journée, le nombre de larves récoltées restait cependant nul au vendredi 20 novembre. Le dimanche 22 novembre un grand nombre de larves ont été retrouvées au sol de la chambre climatique, les systèmes de récolte étaient très peu efficaces, les larves arrivaient à sortir des gouttières de récolte.

Après ce dernier imprévu il a été décidé d'arrêter l'expérimentation prématurément, en effet dans l'impossibilité de récolter les larves et de savoir à quel bac elles appartenaient il était dès lors impossible d'obtenir les deux derniers paramètres à mesurer, à savoir la mortalité et le taux de conversion qui se basent tous les deux sur le nombre de larves récoltées.

3.3 Humidité relative et température

Les valeurs d'humidités relatives et de températures des sondes ont d'abord été traitées afin de supprimer les données des capteurs défectueux. Pour les données de température les critères de correction utilisés étant l'écartement des valeurs supérieures à 30°C ou inférieures à 15°C, et pour l'humidité relative les valeurs supérieures à 100% ou inférieures à 85%.

Les données acquises toutes les cinq minutes par les cinq capteurs DHT22 ont ensuite été moyennées pour obtenir une valeur par heure. Les graphiques repris en figures 44 et 45 montrent l'évolution des données horaires d'humidité relative et température au sein des bacs d'élevages.

Premièrement, il en est ressorti que l'humidité relative a très rapidement augmenté dès le lancement de l'expérimentation jusqu'à atteindre la saturation. L'humidité semble ensuite être restée très proche des 100% tout au long de l'expérimentation.

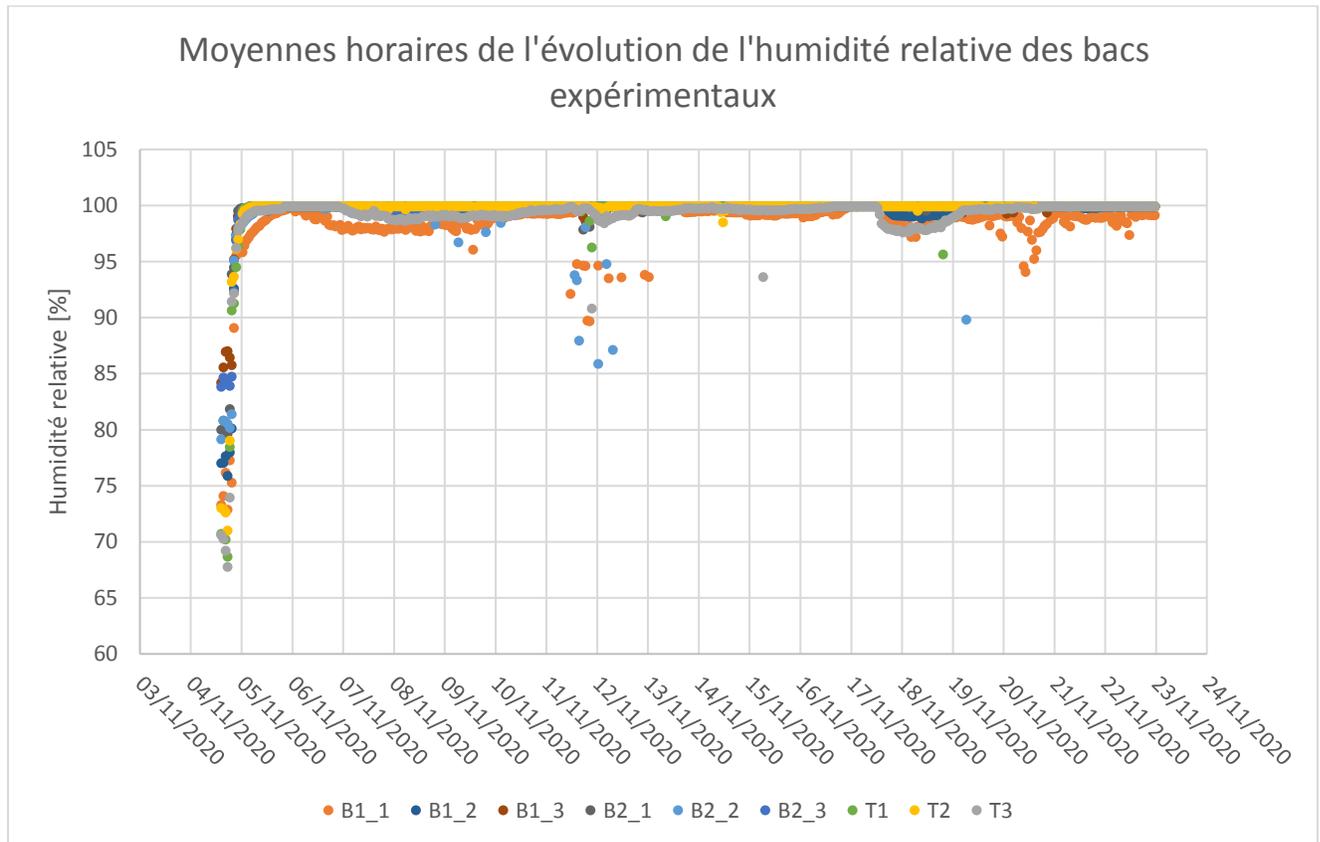


Figure 44 Moyennes de l'humidité relative des bacs, (Source : Florent Lowet).

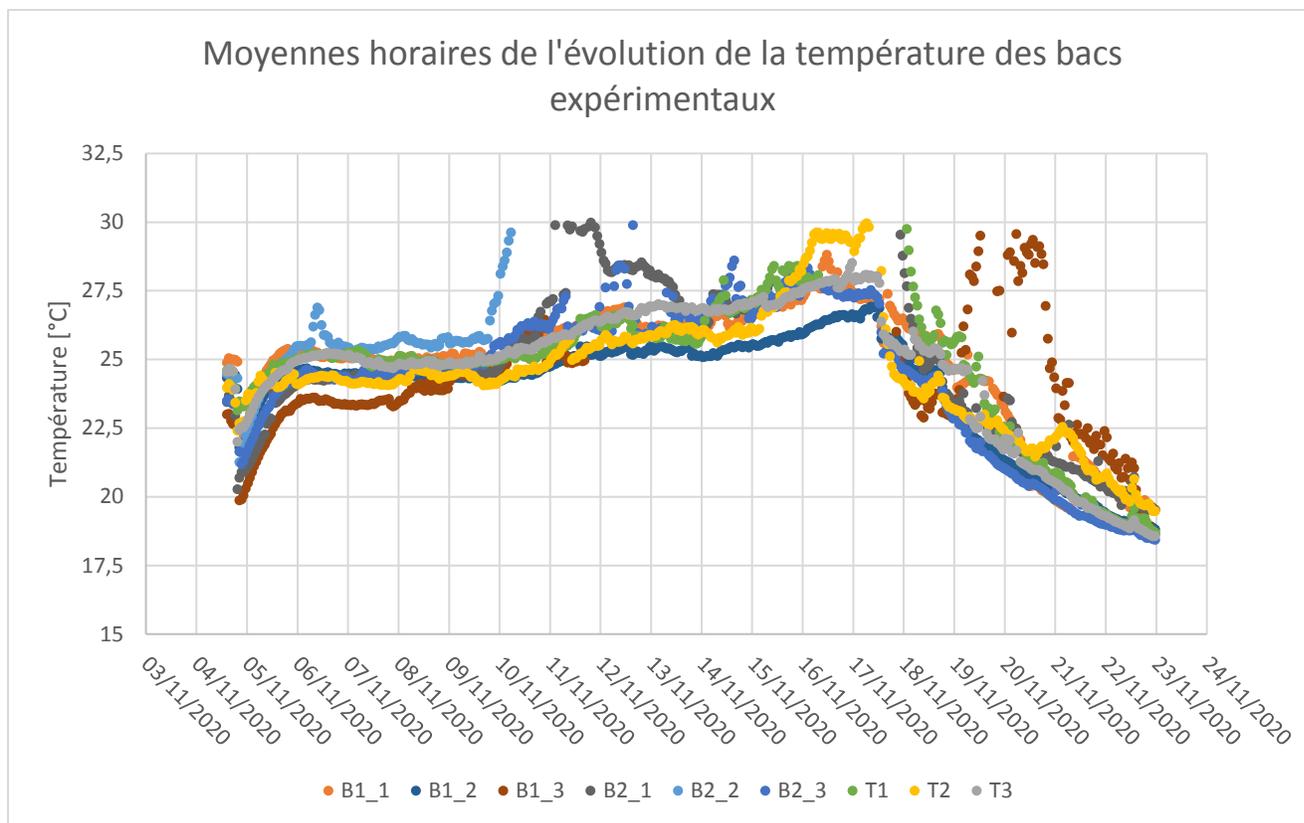


Figure 45 Données moyennes de température des bacs, (Source : Florent Lowet).

En ce qui concerne l'évolution de la température des bacs, une tendance générale peut être observée au sein des différents bacs. En moyenne, la température s'est très rapidement stabilisée à 24°C dès le lancement de l'expérience et a ensuite graduellement augmenté jusqu'à atteindre 27,5°C au bout de douze jours (17 novembre). Les bacs expérimentaux ont ensuite connu une chute globale de température jusqu'à atteindre 19°C en date du 23 novembre.

Malgré le traitement des données certains pics de température probablement dû au dysfonctionnement des capteurs apparaissent encore sur le graphique notamment le 19 novembre dans le bac 1_3.

3.4 Poids moyen et croissance des larves

L'évolution du poids moyen d'une larve est repris figure 46, la croissance des larves est lente dans les premiers stades larvaires et s'accélère à partir du 9 novembre jusqu'à la fin de l'expérimentation. Les différences du poids des larves entre les modalités ne sont pas significatives sauf pour le 17/11 où le poids des larves B1 est significativement différent du poids des larves T ($p < 0.05$). Ce dernier est supérieur au poids des larves dans les bacs témoins.

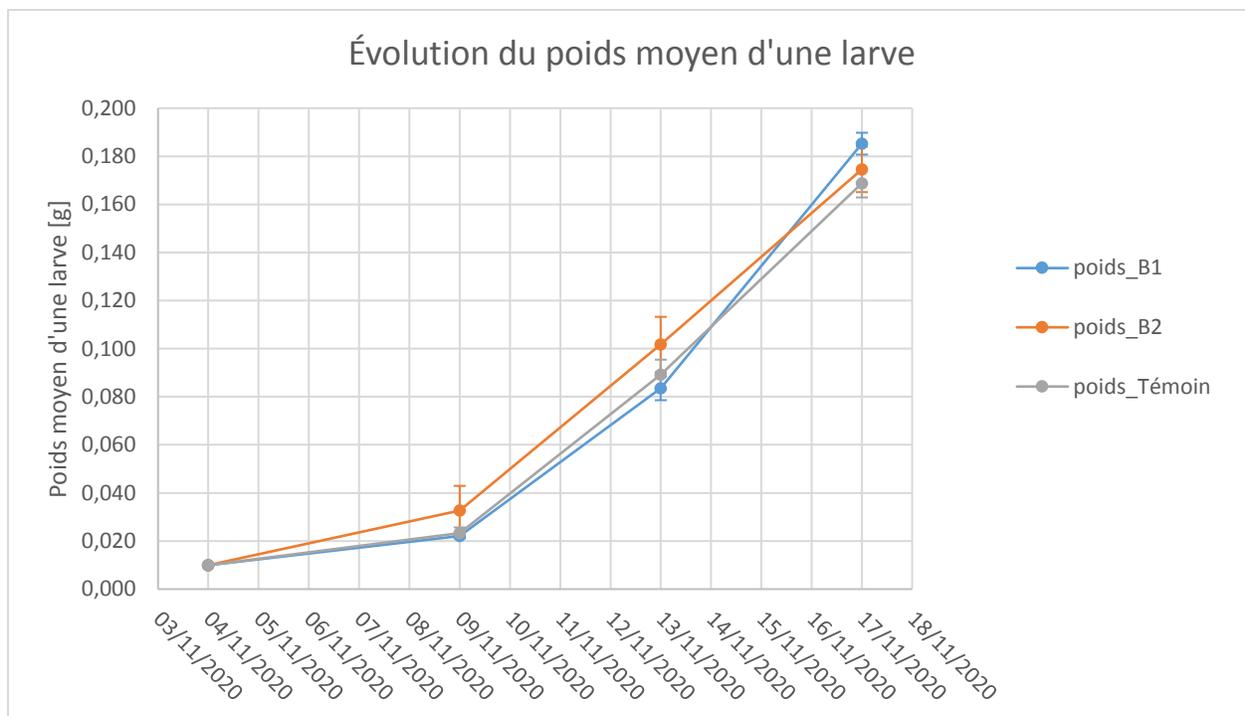


Figure 46 Évolution du poids moyen d'une larve pour chaque modalité de brassage (B1 = 3h/j ; B2 : 1h/J et T : témoin), (Source : Florent Lowet).

On observe une diminution de la pente du poids des larves dans les bacs B2 entre le 13/11 et le 17/11 ce qui témoigne d'un ralentissement de la croissance des larves.

Les larves récoltées dans et hors des systèmes de récolte le dimanche 22 novembre étaient presque toutes toujours blanches c'est-à-dire au sixième stade larvaire avant d'avoir achevé leur transformation en prépuces. Cette observation indique que les larves sont sorties prématurément des bacs, poussées par des conditions défavorables à fuir leur milieu avant la fin de leur développement. De plus, en étudiant les traces laissées par le passage des larves il a pu être déterminé que seuls les trois bacs témoins ainsi que les bacs B2.2, B2.3 et B1.3 ont vu des larves sortir de leur substrat.

3.5 pH

Les coproduits brassicoles ont des valeurs de pH assez acides (compris entre 4.3 et 4.5) en début d'expérience. Ces valeurs tendent à diminuer légèrement dans tous les bacs durant les premiers jours pour atteindre des valeurs de 4.2 le 09 novembre. On constate une légère augmentation le 13 novembre dans les bacs B2 et T qui n'est cependant pas significative par rapport aux bacs B1. Cette augmentation du pH dans les bacs B2 et T se poursuit pour atteindre des valeurs de pH de 5.6 ± 0.5 (B2) et 5.7 ± 0.3 (T) contre 4.5 ± 0.1 dans les bacs B1. Cette différence entre le brassage 1 et les deux autres modalités est cette fois-ci bien significative ($p < .01$).

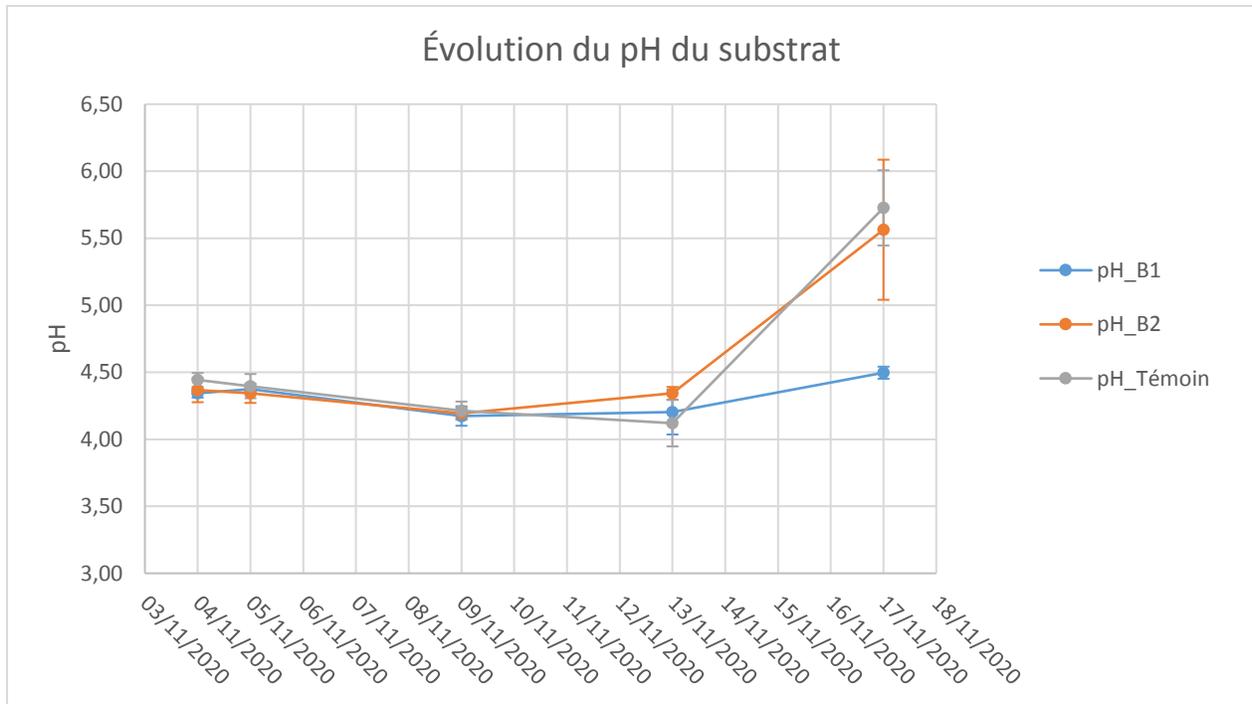


Figure 47 Évolution du pH du substrat pour chaque modalité de brassage (B1 = 3h/j ; B2 : 1h/J et T : témoin), (Source : Florent Lowet).

Lors d'un prélèvement de substrat le 17 novembre du bac B1.3 pour déterminer son humidité à l'étuve (figure 48), il a été constaté une différence de couleur entre le substrat en surface (dans les deux premiers centimètres) et le substrat plus en profondeur. Le substrat en surface était brunâtre et il était impossible de distinguer des morceaux de carottes tandis que dans le reste du prélèvement la couleur verte du houblon était inchangée et la présence de morceaux de carottes clairement visible.



Figure 48 Différence de transformation du substrat d'une carotte réalisée à la cuillère sur toute la hauteur du substrat, substrat foncé en surface et substrat intact en profondeur, (Source : Florent Lowet).

Suite à ce constat, l'initiative a été prise d'également mesurer le pH en surface du substrat (à 1cm de profondeur) afin de comparer ces valeurs par rapport à celles obtenues dans le substrat (à 4 cm de profondeur), ces résultats sont repris figure 49.

Les tests d'analyse de la variance sur les résultats de pH obtenus en surface montrent une différence entre les bacs B1 et les bacs B2 ($p < .01$).

Lorsque les résultats de pH obtenus en surface sont comparés à ceux obtenus dans le substrat, une différence significative est observée pour les trois modalités (les seuils des *p-valeurs* sont repris table 2). Les valeurs de pH en surface sont plus élevées que dans le substrat.

Table 2 Résultat des analyses de la variance à un facteur fixe entre les valeurs de pH du substrat et en surface du substrat

	Seuil de signification de la <i>p</i> -valeur
Modalité de brassage 3h/j (B1)	< .05
Modalité de brassage 1h/j (B2)	< .01
Témoin (T)	< .05

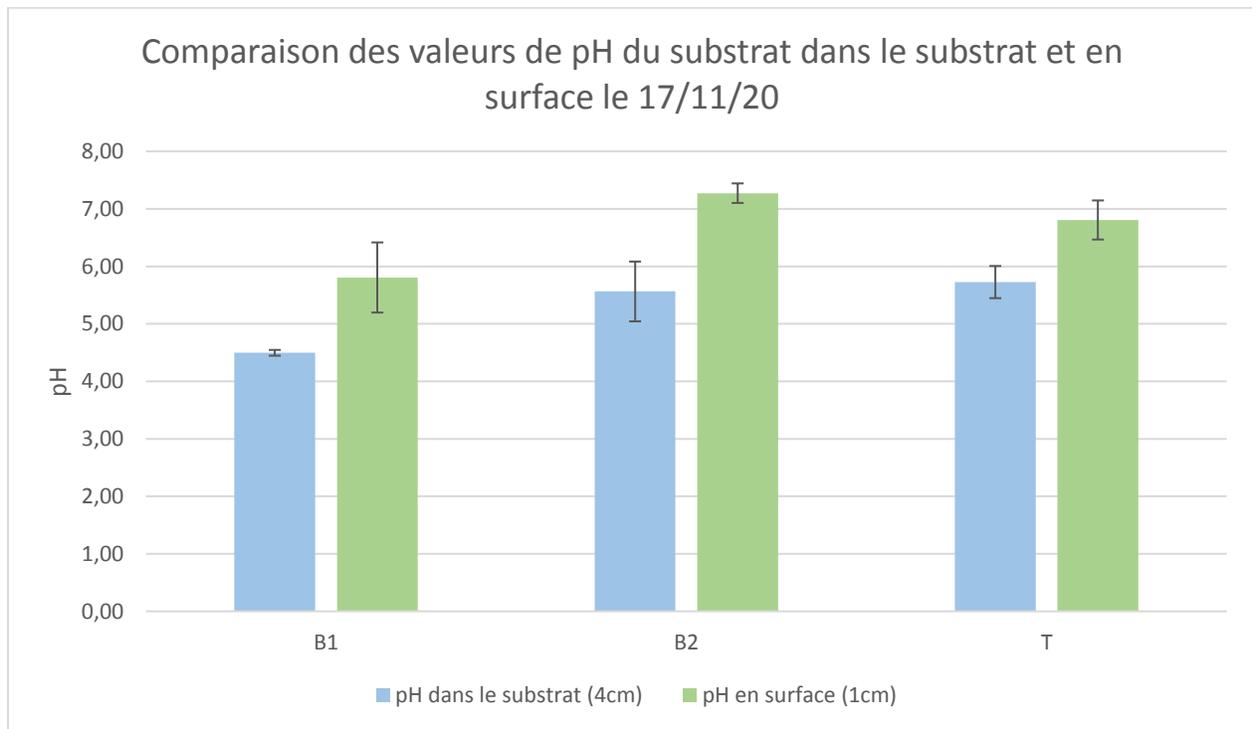


Figure 49 Comparaison de l'acidité en surface (vert) et dans le fond (bleu) du substrat pour chaque modalité le 17 novembre, (Source : Florent Lowet).

3.6 Humidité du substrat

Les valeurs de pourcentage d'humidité massique obtenues suite au passage à l'étuve sont reprises en figure 50. Les valeurs d'humidité (globale et en surface) sont regroupées par date de prélèvements et par modalité. Au lancement de l'expérimentation (le 04 novembre) le substrat a été homogénéisé manuellement c'est pourquoi un seul prélèvement de substrat a été réalisé pour chaque modalité en considérant les conditions globales du substrat et en surface identiques.

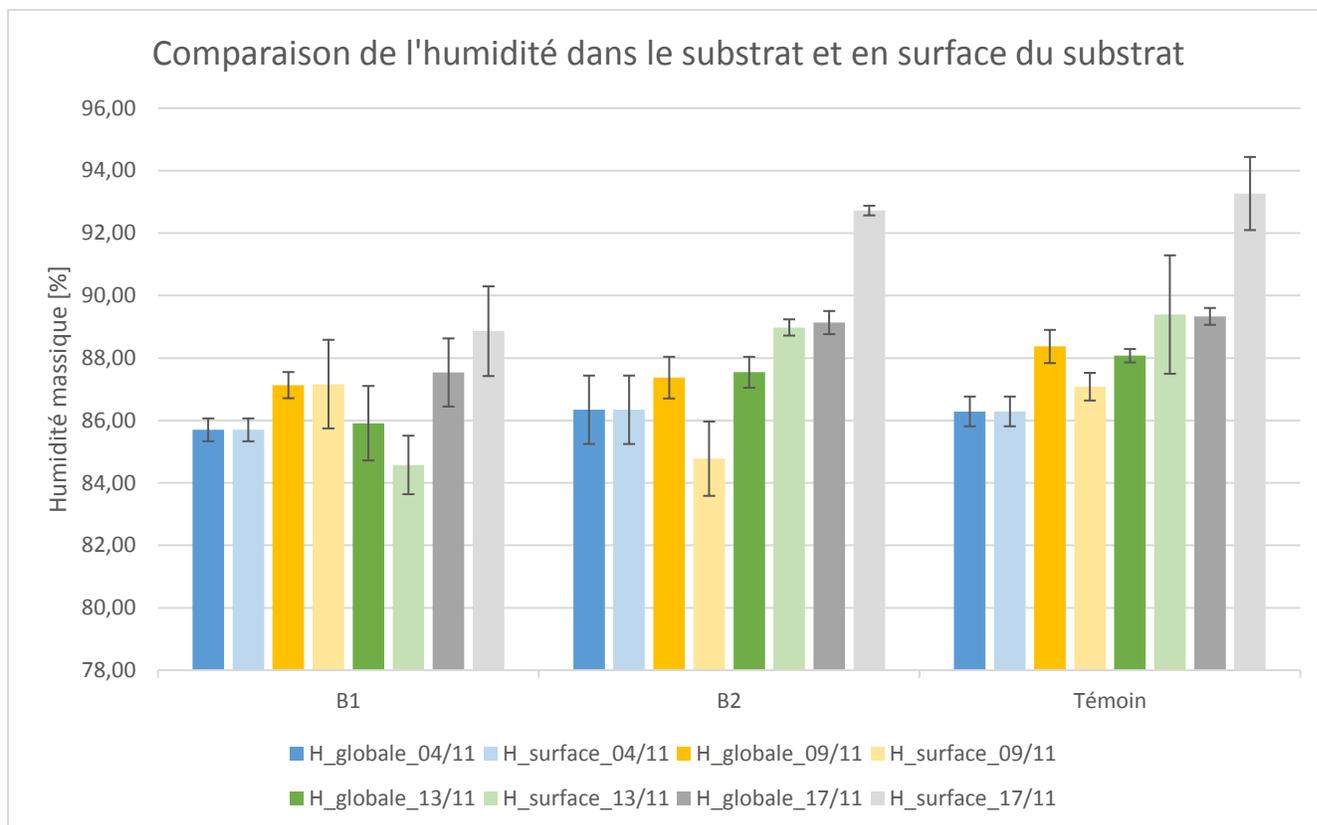


Figure 50 Comparaison de l'humidité dans le substrat et en surface du substrat, (Source : Florent Lowet).

3.6.1 Comparaison de l'humidité au sein de chaque modalité de brassage

3.6.1.1 Modalité de brassage B1

Si l'on se concentre sur les données d'humidités mesurées pour la première modalité de brassage, aucune différence significative entre les teneurs en humidité en surface et dans le substrat n'a été démontré pour toutes les dates de prélèvements.

Table 3 Résultat des analyses de la variance à un facteur fixe entre les valeurs d'humidité du substrat et en surface du substrat de la modalité B1

Différence entre l'humidité en surface et dans le substrat	Seuil de signification de la <i>p</i> -valeur
9 novembre	Non significatif (ns)
13 novembre	ns
17 novembre	ns

3.6.1.2 Modalité de brassage B2

Au sein de la modalité B2, il y a une différence significative entre l'humidité en surface et dans le substrat pour toutes les dates de prélèvements. Le 09 novembre l'humidité en surface ($84,8 \pm 1.2$ %) est plus faible que l'humidité dans le substrat ($87,4 \pm 0.7$ %), puis la tendance s'inverse à partir du 13 novembre où

l'humidité en surface du substrat ($89.0 \pm 0.3 \%$) est supérieure à celle du substrat global ($87,5 \pm 0.5 \%$). Le 17 novembre l'humidité en surface atteignant $92.7 \pm 0.2 \%$ contre $89,1 \pm 0.4\%$ dans le fond du substrat.

Table 4 Résultat des analyses de la variance à un facteur fixe entre les valeurs d'humidité du substrat et en surface du substrat de la modalité B2

Différence entre l'humidité en surface et dans le substrat	Seuil de signification de la <i>p</i> -valeur
9 novembre	< .05
13 novembre	< .05
17 novembre	< .001

3.6.1.3 Modalité de brassage T

Au sein des bacs témoins, une différence significative entre l'humidité en surface et dans le substrat a été observée en date des 9 et 17 novembre. Mis à part le 13 novembre où il n'y a aucune différence d'humidité entre la surface et le fond du bac, l'évolution de l'humidité suit la même tendance que la modalité B2. A savoir un substrat moins humide en surface ($87.1 \pm 0.4 \%$) que dans le substrat ($88,4 \pm 0.5 \%$) au 9 novembre et une tendance inverse au 17 novembre ($89,3 \pm 0.3 \%$ d'humidité dans le substrat contre $93,3 \pm 1.2 \%$ en surface).

Table 5 Résultat des analyses de la variance à un facteur fixe entre les valeurs d'humidité du substrat et en surface du substrat de la modalité T

Différence entre l'humidité en surface et dans le substrat	Seuil de signification de la <i>p</i> -valeur
9 novembre	< .05
13 novembre	ns
17 novembre	< .01

3.6.2 Comparaison de l'humidité entre les modalités de brassage

3.6.2.1 Humidité globale du substrat

Le 9 novembre aucune différence significative de la teneur en humidité n'est observée entre les modalités, tandis que pour les 13 et 17 novembre des différences significatives ($p < .05$ le 13/11, $p < .05$ le 17/11) sont observées entre la modalité B1 et la modalité T, B1 affichant des humidités moins élevées.

3.6.2.2 Humidité en surface du substrat

Le 9 novembre aucune différence significative de la teneur en humidité n'est observée entre les modalités. Tandis que pour les 13 et 17 novembre des différences significatives ($p < .01$ le 13/11, $p < 0.01$ le 17/11) sont observées entre la modalité B1 et les modalités T et B2 pour les deux jours de prélèvements. A nouveau la modalité B1 présente des humidités moins élevées.

Dans toutes les modalités on observe une tendance à l'augmentation de l'humidité du substrat en fin d'expérimentation (17/11), particulièrement en surface du substrat.

3.7 Température du substrat

L'évolution de la température des sondes enfouies dans le substrat est reprise sur la figure 52 et la position des six sondes dans le fond du bac figure 51. Seuls les résultats obtenus pour le Bac1_1 sont présentés dans ce travail.

Au départ de l'expérimentation le 4 novembre une chute de température brutale est observée après l'apport du substrat. Cette température augmente pour atteindre un plateau entre 25 et 26°C en fin de journée du 5 novembre jusqu'au 9 novembre. Ensuite des pics de températures apparaissent et permettent de suivre le déplacement des larves. On observe des pics plus fréquents pour les sondes LM1, LM2 et LM4 ce qui indique une préférence de la population des larves pour le côté gauche du bac. Les pics se poursuivent jusqu'à la clôture de l'expérimentation mais la chute de température induite par l'arrêt du système de chauffage rend la visibilité des pics moins aisée.

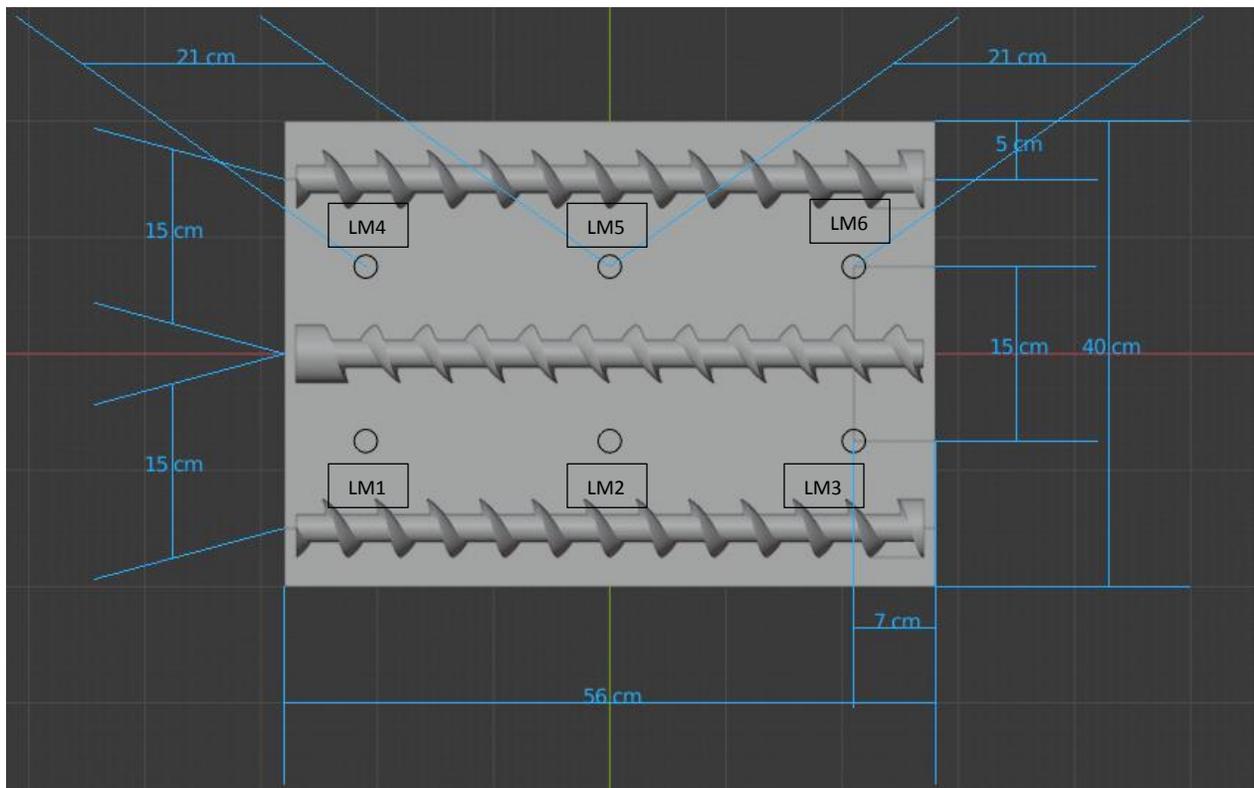


Figure 51 Vue du dessus du fond du bac et position des 6 sondes LM35 dans le fond du bac B1_1, (Source : Florent Lowet).

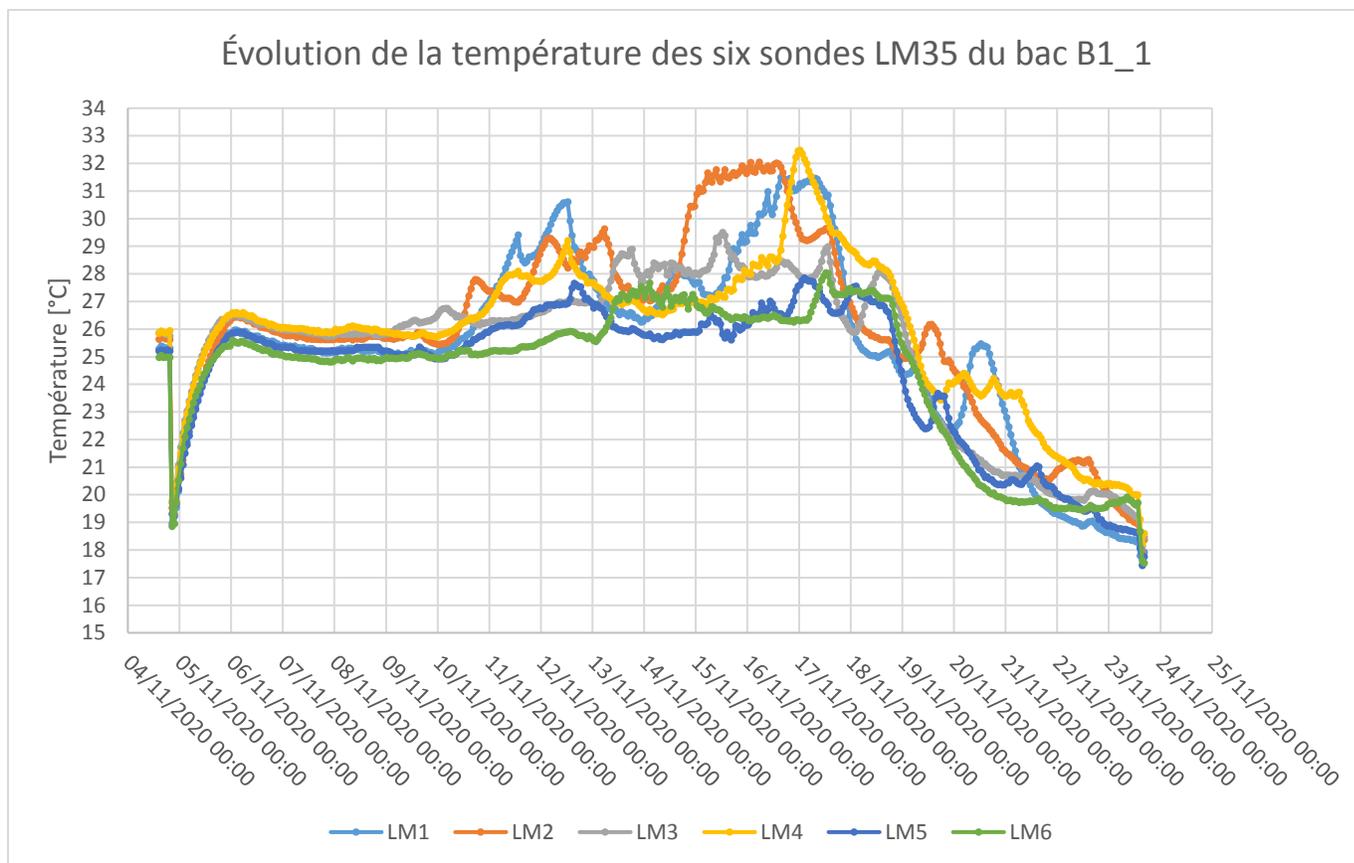


Figure 52 Évolution de la température des six sondes dans le fond du bac, (Source : Florent Lowet).

4 Discussion

4.1 Température et humidité relative

Les conditions en humidité relative des bacs sont restées à saturation pendant la totalité de l'expérimentation. L'humidité extrême de l'air des bacs n'est pas un réel problème pour les larves qui ont pu se développer- ce qui est également retrouvé dans la littérature scientifique (Barragan et al., 2017).

Cependant ce phénomène induit d'autres effets indésirables tels que la possibilité pour les larves de se déplacer sur les parois et le couvercle du bac ou encore la perturbation des sondes DHT22. En effet, les teneurs très élevées en HR ont engendré de la condensation qui a perturbé le fonctionnement des capteurs et explique l'apparition de données aberrantes voire à la mise hors d'usage de plusieurs capteurs.

Les conditions en température des bacs sont restées dans la gamme des optimums des larves entre 25 et 27°C, jusqu'à une défaillance du système de chauffage le 17/11 en fin de journée qui a alors engendré une chute de la température graduelle pour atteindre 19°C le 22/11. Cette chute de température n'a donc pas eu d'incidence sur les données récoltées étant donné que les derniers relevés ont eu lieu le 17 novembre dans la matinée.

4.2 Croissance des larves

Les courbes de croissance ne sont pas complètement obtenues lors de l'expérimentation. En effet, on observe normalement un plateau voire une diminution du poids des larves lorsque celles-ci deviennent des pré-pupes (7^{ème} stade) car elles consomment une partie de leur réserve. On peut voir une courbe de croissance classique tiré de l'expérimentation de Gligorescu et al. (2020) avec un plateau apparaissant 15 jours après l'éclosion des larves sur la figure 53.

Cette expérimentation étudiant le développement des larves élevées par groupe de 500 sur des substrats à base de farines (« Gainesville diet ») dont la composition est de 50% de blé, 30% de luzerne et 20% de maïs broyé. Les larves évoluent dans des boîtes de 17 cm de long sur 14 cm de large et 11 cm de haut à une humidité du substrat de 70% et à des températures de $26.4^{\circ}\text{C} \pm 0.7^{\circ}\text{C}$.

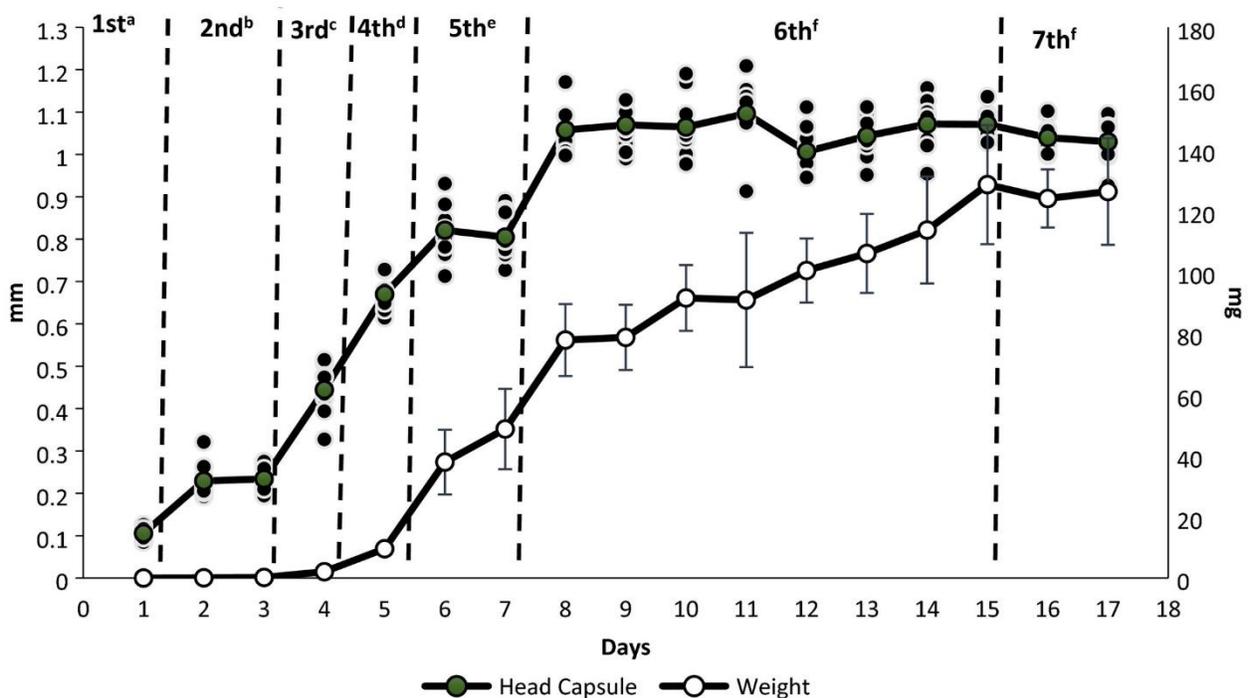


Figure 53 Évolution du poids frais d'une larve et de la taille de la capsule céphalique utilisée pour déterminer le stade larvaires (Source : Gligorescu et al., 2020)

Dans cette étude le poids moyen d'une larve s'élève à 0.13 g en fin d'expérimentation et les larves achèvent leur développement en 17 jours (Gligorescu et al., 2020). Dans notre expérimentation, les larves n'ont pas achevé leur développement après 23 jours de développement (18 jours de grossissement et 5 jours de pré-grossissement) mais ont un poids moyen compris entre 0.169 ± 0.006 g et 0.185 ± 0.005 g.

Les temps de développement des larves obtenus dans notre expérience se rapprochent des valeurs mesurées pour les larves élevées sur des substrats à teneur en humidité élevée comme les effluents d'élevages et humains pour lesquels le développement des larves est de 27.5 jours (Barragan et al., 2017). Cependant, le temps de développement des larves est également dépendant de la richesse en nutriments du substrat pour laquelle aucune mesure n'est réalisée dans notre étude.

L'information obtenue le dimanche 22 novembre lors de la récolte indique une provenance majoritaire de larves des modalités peu ou non brassées (B2 et T) peut laisser supposer d'un retard de développement des larves des bacs à brassage plus intensif (B1) bien qu'il ne soit pas possible de l'affirmer avec certitude au regard des tests statistiques et des différents biais ayant eu lieu pendant l'expérience. Il est cependant possible que les résultats de poids des bacs B1 soient sujets à un biais du survivant, c'est-à-dire qu'une mortalité plus importante des petites larves plus sensibles viendrait augmenter le poids moyen de la population. Cette hypothèse pourrait expliquer pourquoi ce retard n'est pas visible lorsque le poids moyen d'une larve est comparé entre les modalités. D'autant plus que cette tendance à un retard des larves B1 semble être confirmée au regard d'autres paramètres suivis comme le pH.

4.3 pH

Les larves préfèrent des teneurs en pH neutre à basique et ont la capacité de modifier ces valeurs. Les coproduits brassicoles utilisés sont acides et ont des teneurs de pH avoisinant les 4.4 en début d'expérience mais qui atteignent ensuite des valeurs dans le substrat de 5.6 ± 0.5 et 5.7 ± 0.3 des modalités B2 et T tandis que ces valeurs restent autour de 4.5 ± 0.1 pour la modalité B1 en fin d'expérience. Le brassage plus fréquent de la modalité B1 a probablement perturbé la basification du milieu induite par les larves.

4.4 Humidité massique du substrat

Le suivi de l'humidité du substrat et la distinction entre l'humidité globale par rapport à celle en surface du substrat avait pour but initial de montrer une potentielle différence entre ces deux modalités, notre hypothèse de départ étant que le brassage permet de garder une humidité de surface plus importante que dans les bacs sans brassage où l'eau percole dans le fond du bac. Les résultats obtenus souffrent de deux biais majeurs à savoir des pertes en eau non uniformes dans tous les bacs et l'impact de la défaillance des systèmes de brassage entraînant de zones très humides ou plus sèches.

Cependant, au regard des résultats obtenus, le premier constat est l'absence d'une réduction de l'humidité du substrat pendant l'expérimentation qui reste supérieure à 86% d'humidité dans tous les bacs, voire même une tendance à l'augmentation de l'humidité du substrat. Cette augmentation est un phénomène curieux étant donné l'absence d'ajout d'eau pendant l'expérience. Cependant l'action des larves a transformé le substrat en surface et une texture de plus en plus fine qui retient mieux l'eau a été observé, cette hypothèse pourrait confirmer pourquoi dans les modalités T et B2 le substrat en surface est plus sec en début d'expérience et que la tendance s'inverse en fin d'expérience. La modalité B1 semble également montrer une humidité plus élevée en surface du substrat en fin d'expérimentation bien que cette différence ne soit pas significative.

La modalité B1 est la seule modalité n'ayant aucune différence entre l'humidité globale et l'humidité en surface ce qui témoigne d'une meilleure homogénéité du substrat induite par le brassage.

4.5 Déplacement des larves

La préférence des larves pour le côté gauche du bac n'est pas due au hasard, en effet le bac B1_1 a subi une différence de répartition de substrat (figure 42, section 3.2) suite à la perte de sa vis centrale. Les larves préfèrent rester dans la zone d'accumulation du substrat plus sèche, ce qui explique la présence de pics de température plus fréquents dans cette partie du bac.

4.6 Améliorations

4.6.1 Vis

L'utilisation du PLA comme matériau des vis semble être un choix adéquat pour cette application, le matériau a très bien réagi au substrat pendant toute la durée de l'expérience. En revanche l'utilisation de colle pour assembler les différents morceaux de vis n'est pas une solution efficace. Pour réaliser la fixation, plusieurs pistes sont possibles comme l'utilisation d'une résine bi-composant qui a prouvé une très bonne imperméabilité pour les sondes LM35. Il est également possible de combiner la résine avec une tige parcourant l'axe vertical de la vis afin d'assurer une meilleure solidité.

4.6.2 Fuites d'eau

Une fois les bacs lavés et séchés, les fuites d'eau au niveau des jointures de la rampe de récolte peuvent être colmatées grâce à l'utilisation de silicone ou de colle chaude.

4.6.3 Système de récolte

Les larves lorsqu'elles sont humides deviennent capables de se déplacer verticalement même sur les surfaces lisses. Il est dès lors important de concevoir un système de récolte clos afin de ne permettre qu'une seule issue pour les larves. Le système de gouttière utilisé dans les bacs de l'élevage de masse est à ce titre plus efficace bien que certaines larves parviennent toujours à contourner le système de récolte.

4.6.4 Condensation et sondes d'humidité relative

L'humidité très élevée du substrat a induit une condensation très importante sur les parois et les sondes suspendues au couvercle des bacs. Or, ce phénomène facilite les fuites de larves et parasite les mesures effectuées par les sondes. Bien que les indications du constructeur spécifient une gamme de fonctionnement des sondes DHT22 de 0 à 100% d'humidité relative, il est également notifié l'importance de les maintenir à l'abri de toute condensation. Néanmoins, le capteur ne peut être imperméabilisé puisqu'il doit rester au contact de l'air. Il est dès lors important de permettre une meilleure aération des bacs en augmentant le nombre de trous dans le couvercle voire d'effectuer le brassage sans paroi au niveau de la rampe de récolte bien que ce dernier point puisse diminuer l'efficacité du brassage. Une autre alternative consiste à créer un petit boîtier équipé d'un ventilateur afin d'accueillir le capteur, ce dernier sera alors protégé de la condensation.

Le recours à une déshumidification préalable des substrats dont l'humidité est supérieure à 80% est parfois réalisée (Dortmans et al., 2017), cette technique efficace est justifiée dans le cas du traitement d'une grande quantité de coproduits ce qui n'est pas le cas de notre élevage. Néanmoins, il est possible d'installer des petits robinets dans le bas de nos tonneaux de stockages afin d'éliminer une partie de l'eau en surplus des coproduits suite à la percolation de cette eau.

Face aux humidités élevées des coproduits brassicoles, il semble plus judicieux de combiner tout ou partie de ces améliorations afin de limiter l'impact de ce paramètre à l'avenir.

4.6.5 Déplacement des larves

Remplacer les graphiques reprenant les six sondes de température dans le fond du substrat par une cartographie de l'évolution de la température du fond du bac permettrait de tirer plus facilement l'information de la localisation des larves dans les bacs.

5 Conclusion

A cause du grand nombre de biais issus des problèmes rencontrés au cours de l'expérimentation, le présent travail ne permet pas de conclure avec certitude quant aux effets du brassage sur les conditions du milieu des larves et leur développement. Nous pouvons toutefois tirer des résultats obtenus que lorsque la modalité de brassage la plus élevée (3h/j), le brassage exerce un effet mesurable sur les conditions du milieu comme le démontrent l'absence de différence entre l'humidité globale du substrat par rapport à la surface du substrat ou encore le retardement de la modification du pH du substrat par les larves.

Le nombre conséquent de biais apparus pendant l'expérience témoigne de l'ampleur du projet et de la difficulté à pouvoir anticiper le fonctionnement d'un tel système. Cependant cette expérience a permis de mettre en lumière un certain nombre de défauts ce qui nous permet de penser un système plus efficace qui s'affranchit des défauts de conception que nous avons rencontré.

Les perspectives ouvertes par ce travail sont multiples, tout d'abord parce qu'un tel système d'optimisation implémenté directement pendant l'élevage des larves n'a jamais été testé et même si les effets obtenus dans cette expérience laissent sous-entendre un effet négatif il n'est pas certain que dans de meilleures conditions ces effets soient toujours négatifs. Ensuite parce que ce travail ouvre la porte à de futurs travaux dans la continuité de l'optimisation des élevages d'*H. illucens* ou dans l'étude comportementale des larves. Le système élaboré permet également un suivi des conditions des élevages pouvant apporter des interprétations plus fines des résultats dans d'autres travaux. Le système présent pourra également servir de base à l'implémentation d'autres capteurs pour suivre par exemple, les émissions de gaz des élevages afin de quantifier l'impact environnemental des élevages d'*H. illucens*.

6 Bibliographie

Akhoundi, B. and Behraves, A. H. (2019) 'Effect of Filling Pattern on the Tensile and Flexural Mechanical Properties of FDM 3D Printed Products', *Experimental Mechanics*, 59(6), pp. 883–897. doi: 10.1007/s11340-018-00467-y.

Alexandratos, N. and Bruinsma, J. (2012) 'The 2012 Revision', *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, pp. 3–6. doi: 10.1002/jso.2930300113.

Ameur, H., Kamla, Y. and Sahel, D. (2018) 'Performance of Helical Ribbon and Screw Impellers for Mixing Viscous Fluids in Cylindrical Reactors', *ChemEngineering*, 2(2), p. 26. doi: 10.3390/chemengineering2020026.

Alattar, Manar Arica. (2012) 'Biological treatment of leachates of microaerobic fermentation', *Dissertations and Theses*, p. 78.

Azagoh, C., Hubert, A. and Mezdoor, S. (2015) 'Insect biorefinery in Europe: "DESIGNING the Insect bioRefinery to contribute to a more sustainABLE agro-food industry"', *Journal of Insects as Food and Feed*, 1(2), pp. 159–168. doi: 10.3920/JIFF2014.0009.

Banks, I. J. (2014) 'To assess the impact of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae on faecal reduction in pit latrines', *Dissertations and Theses*, (2014), pp. 1–231. doi: 10.17037/PUBS.01917781.

Barragan-Fonseca, K. B., Dicke, M. and van Loon, J. J. A. (2017) 'Nutritional value of the black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) and its suitability as animal feed - a review', *Journal of Insects as Food and Feed*, 3(2), pp. 105–120. doi: 10.3920/JIFF2016.0055.

Barros, L. M. *et al.* (2019) 'Morphological description of the immature stages of *Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Stratiomyidae)', *Microscopy Research and Technique*, 82(3), pp. 178–189. doi: 10.1002/jemt.23127.

Bosch, G. *et al.* (2020) 'Standardisation of quantitative resource conversion studies with black soldier fly larvae', *Journal of Insects as Food and Feed*, 6(2), pp. 95–109. doi: 10.3920/jiff2019.0004.

Caruso, D. *et al.* (2014) *Technical handbook of domestication and production of diptera Black Soldier Fly (BSF)*.

Cheng, J. Y. K., Chiu, S. L. H. and Lo, I. M. C. (2017) 'Effects of moisture content of food waste on residue separation, larval growth and larval survival in black soldier fly bioconversion', *Waste Management*. Elsevier Ltd, 67, pp. 315–323. doi: 10.1016/j.wasman.2017.05.046.

Diener, S. *et al.* (2011) 'Biological treatment of municipal organic waste using black soldier fly larvae', *Waste and Biomass Valorization*, 2(4), pp. 357–363. doi: 10.1007/s12649-011-9079-1.

Dortmans, B. *et al.* (2017) *Black Soldier Fly Biowaste Processing*. Food and Agriculture Organization of the United Nations (2013) *Edible insects. Future prospects for food and feed security*, Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Gahukar, R. T. (2016) *Edible Insects Farming: Efficiency and Impact on Family Livelihood, Food Security, and Environment Compared With Livestock and Crops*, *Insects as Sustainable Food Ingredients*. Elsevier Inc. doi: 10.1016/b978-0-12-802856-8.00004-1.

- Gligorescu, A. *et al.* (2020) 'Production and optimization of hermetia illucens (L.) larvae reared on food waste and utilized as feed ingredient', *Sustainability (Switzerland)*, 12(23), pp. 1–14. doi: 10.3390/su12239864.
- Gold, M. *et al.* (2018) 'Decomposition of biowaste macronutrients, microbes, and chemicals in black soldier fly larval treatment: A review', *Waste Management*. The Authors, 82, pp. 302–318. doi: 10.1016/j.wasman.2018.10.022.
- Gujarathi Gayatri, Pejaver Madhuri (2013) 'Occurrence of Black Soldier Fly *Hermetia illucens* (Diptera : Stratiomyidae) in Biocompost', *Research Journal of Recent Sciences*, 2(4), pp. 65–66.
- Hoc, B. *et al.* (2019) 'Optimization of black soldier fly (*Hermetia illucens*) artificial reproduction', *PLoS ONE*, 14(4), pp. 1–13. doi: 10.1371/journal.pone.0216160.
- Holmes, L. (2010) 'Role of Abiotic Factors on the Development and Life History of the Black Soldier Fly, *Hermetia illucens*(L.)(Diptera: Stratiomyidae)', *Masters Abstracts International*, pp. 1–168. Available at: <http://scholar.uwindsor.ca/cgi/viewcontent.cgi?article=1284&context=etd>.
- Hua Li and Hongwei Li. (2020) 'Approaching Sustainable Concentrated Animal Feeding Operations Using a Triad Microcirculation Farm Model' *Environmental Engineering Science*. Apr 2020.295-302. <http://doi.org/10.1089/ees.2019.0401>
- Joosten, L. *et al.* (2020) 'Review of insect pathogen risks for the black soldier fly (*Hermetia illucens*) and guidelines for reliable production', *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 168(6–7), pp. 432–447. doi: 10.1111/eea.12916.
- Józefiak, A. *et al.* (2019) 'The Utilization of Full-Fat Insect Meal in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Nutrition: The Effects on Growth Performance, Intestinal Microbiota and Gastrointestinal Tract Histomorphology', *Annals of Animal Science*, 19(3), pp. 747–765. doi: 10.2478/aoas-2019-0020.
- Lalander, C. *et al.* (2020) 'Process efficiency and ventilation requirement in black soldier fly larvae composting of substrates with high water content', *Science of the Total Environment*. The Authors, 729, p. 138968. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138968.
- Makkar, H. P. S. *et al.* (2014) 'State-of-the-art on use of insects as animal feed', *Animal Feed Science and Technology*, 197, pp. 1–33. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008.
- Meneguz, M., Gasco, L. and Tomberlin, J. K. (2018) '4A Impact of pH and feeding system on BSF larval development', *PLoS ONE*, 13(8), pp. 1–15.
- Miglietta, P. P. *et al.* (2015) 'Mealworms for food: A water footprint perspective', *Water (Switzerland)*, 7(11), pp. 6190–6203. doi: 10.3390/w7116190.
- Moula, N. and Detilleux, J. (2019) 'A meta-analysis of the effects of insects in feed on poultry growth performances', *Animals*, 9(5), pp. 1–13. doi: 10.3390/ani9050201.
- Oonincx, D. G. A. B., van Huis, A. and van Loon, J. J. A. (2015) 'Nutrient utilisation by black soldier flies fed with chicken, pig, or cow manure', *Journal of Insects as Food and Feed*, 1(2), pp. 131–139. doi: 10.3920/jiff2014.0023.

- Oonincx, D. G. A. B. and de Boer, I. J. M. (2012) 'Environmental Impact of the Production of Mealworms as a Protein Source for Humans - A Life Cycle Assessment', *PLoS ONE*, 7(12), pp. 1–5. doi: 10.1371/journal.pone.0051145.
- Oonincx, D. G. A. B. *et al.* (2015) 'Feed conversion, survival and development, and composition of four insect species on diets composed of food by-products', *PLoS ONE*, 10(12), pp. 1–20. doi: 10.1371/journal.pone.0144601.
- Oonincx, D. G. A. B., van Itterbeeck J, Heetkamp MJW, van den Brand H, van Loon JJA, *et al.* (2010) An Exploration on Greenhouse Gas and Ammonia Production by Insect Species Suitable for Animal or Human Consumption. *PLOS ONE* 5(12): e14445. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014445>
- Park, *et al.* (2016), *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), pp. 1689–1699. Vo, V. (2020) 'Development of insect production automation: Automated processes for the production of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*)'.
- Sheppard, D. C. *et al.* (2002) 'Rearing methods for the black soldier fly (diptera: Stratiomyidae)', *Journal of Medical Entomology*, 39(4), pp. 695–698. doi: 10.1603/0022-2585-39.4.695.
- Singh, A. and Kumari, K. (2019) 'An inclusive approach for organic waste treatment and valorisation using Black Soldier Fly larvae: A review', *Journal of Environmental Management*. Elsevier, 251(September), p. 109569. doi: 10.1016/j.jenvman.2019.109569.
- Steinfeld *et al* (2006) 'Livestock's long shadow', *Frontiers in Ecology and the Environment*, 5(1), p. 7. doi: 10.1890/1540-9295(2007)5[4:D]2.0.CO;2.
- Surendra, K. C. *et al.* (2016) 'Bioconversion of organic wastes into biodiesel and animal feed via insect farming', *Renewable Energy*. Elsevier Ltd, 98, pp. 197–202. doi: 10.1016/j.renene.2016.03.022.
- Tomberlin, J. K., Adler, P. H. and Myers, H. M. (2009) 'Development of the Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) in Relation to Temperature: Table 1.', *Environmental Entomology*, 38(3), pp. 930–934. doi: 10.1603/022.038.0347.
- Van Huis, A. (2020) 'Insects as food and feed, a new emerging agricultural sector: A review', *Journal of Insects as Food and Feed*, 6(1), pp. 27–44. doi: 10.3920/JIFF2019.0017.
- Van Huis, A. (2013) 'Potential of insects as food and feed in assuring food security', *Annual Review of Entomology*, 58(September 2012), pp. 563–583. doi: 10.1146/annurev-ento-120811-153704.
- Van Huis, A. and Oonincx, D. G. A. B. (2017) 'The environmental sustainability of insects as food and feed. A review', *Agronomy for Sustainable Development*, 37(5). doi: 10.1007/s13593-017-0452-8.
- Van Huis, A. and Tomberlin, J. K. (eds) (2018) *INSECTS AS FOOD AND FEED : FROM PRODUCTION TO CONSUMPTION*. Wageningen Academic Publishers. doi: 10.3920/978-90-8686-849-0.
- Wang, Y.-S. and Shelomi, M. (2017) 'Review of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as Animal Feed and Human Food', *Foods*, 6(10), p. 91. doi: 10.3390/foods6100091.
- Wang, C. *et al.* (2017) 'Exploring the potential of lipids from black soldier fly: New paradigm for biodiesel production (I)', *Renewable Energy*. Elsevier Ltd, 111, pp. 749–756. doi: 10.1016/j.renene.2017.04.063.

Yu, G. *et al.* (2014) 'Effects of the artificial diet with low water content on the growth and development of the black soldier fly', *Acta Entomologica Sinica*, 57, pp. 943–950.

Zhang, J. *et al.* (2010) 'An artificial light source influences mating and oviposition of black soldier flies, *Hermetia illucens*', *Journal of Insect Science*, 10, pp. 1–7. doi: 10.1673/031.010.20201.

Zhang, J. *et al.* (2020) 'Research and industrialisation of *Hermetia illucens* L. in China', *Journal of Insects as Food and Feed*, 6(1), pp. 5–12. doi: 10.3920/JIFF2019.0020.