

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

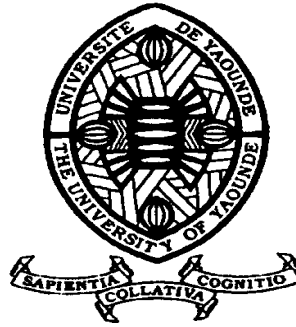
*Paix – Travail – Patrie*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITE DE YAOUNDE I  
FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

\*\*\*\*\*

CENTRE DE RECHERCHE ET DE  
FORMATION DOCTORALE EN  
SCIENCES DE LA VIE, SANTÉ ET  
ENVIRONNEMENT  
LABORATOIRE DES SCIENCES  
ALIMENTAIRES ET MÉTABOLISME



REPUBLIC OF CAMEROUN

*Peace – Work – Fatherland*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITY OF YAOUNDE I  
FACULTY OF SCIENCE  
DEPARTMENT OF  
BIOCHEMISTRY

\*\*\*\*\*

POSTGRADUATE SCHOOL  
FOR  
LIFE SCIENCES, HEALTH AND  
ENVIRONMENT  
LABORATORY OF FOOD  
SCIENCE AND METABOLISM

**Étude de quelques propriétés  
nutritionnelles de trois insectes consommés  
au Cameroun en vue de leur valorisation  
alimentaire : *Rhynchophorus phoenicis*,  
*Imbrasia truncata* et *I. epimethea***

THÈSE

« Présentée et soutenue en vue de l'obtention du diplôme de  
Doctorat/Ph.D en Biochimie »

Par : FOGANG MBA Aymar Rodrigue  
Master en Biochimie

Sous la direction de  
KANSCI Germain  
Maître de Conférences Université de Yaoundé I

Année Académique : 2017 – 2018



REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix—Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

B.P. 812 Yaoundé

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace—Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

P.O. Box 812 Yaounde

DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

## ATTESTATION DE CORRECTION DE THESE DE DOCTORAT/PhD.

Nous soussignés, **Pr ETOA François Xavier** (Professeur, Université de Yaoundé I) ; **Pr FOKOU Elie** (Maître de Conférences, Université de Yaoundé I) et **Pr NGONDI Judith Laure** (Maître de Conférences, Université de Yaoundé I), respectivement Président et Membres du jury de la soutenance de thèse de Doctorat/Ph.D en Biochimie intitulée "**Étude de quelques propriétés nutritionnelles de trois insectes consommés au Cameroun en vue de leur valorisation alimentaire : *Rhynchophorus phoenicis*, *Imbrasia epimethea* et *I. truncata***", de Monsieur **FOGANG MBA Aymar Rodrigue**, Matricule 03T147 ; autorisée par la correspondance N°018\_0649/UJI/VREPDTIC/DAAC/DEPE/SPD/CB-Ebo de Monsieur le Recteur de l'Université de Yaoundé I en date du 16 avril 2018,

Attestons qu'après la soutenance publique de sa Thèse de Doctorat/PhD en date du 15 Mai 2018 à l'Université de Yaoundé I, il a effectué toutes les corrections conformément aux remarques et suggestions des membres du Jury.

En foi de quoi la présente attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Yaoundé le **10 SEPT 2018**

Président de Jury

**ETOA FRANÇOIS - XAVIER**

Professeur

Chef de Département de Biochimie


Membres de Jury

**Dr. Elie Fokou**  
Dr. d'Etat en Biochimie  
Nutrition et Sciences Alimentaires



**Professeur Paul D3C.D. Etat**  
Enzymology-Toxicology

## LISTE PROTOCOLAIRE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTÉ DES SCIENCES

<p><b>UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I</b> <b>FACULTÉ DES SCIENCES</b></p> <p>Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques</p>		<p><b>THE UNIVERSITY OF YAOUNDÉ I</b> <b>FACULTY OF SCIENCE</b></p> <p>Division of Programming and follow-up of Academic Affairs</p>
<b>LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS</b>	<b>LIST OF PERMENENT TEACHING STAFF</b>	

**ANNÉE ACADÉMIQUE 2017/2018**

(Par Département et par Grade)

**DATE D'ACTUALISATION : (15 Novembre 2017)**

### ADMINISTRATION

**DOYEN** : AWONO ONANA, Professeur

**VICE-DOYEN / DPSAA** : DONGO Etienne, Professeur

**VICE-DOYEN / DSSE** : OBEN Julius ENYONG, Professeur

**VICE-DOYEN / DRC** : MBAZE MEVA'A Luc, Maître de Conférences

**Chef Division Affaires Académiques, Scolarité et Recherche** : ABOSSOLO Monique,  
Chargée de cours

**Chef Division Administrative et Financière** : NDOYE FOE Marie C. F., Maître de  
Conférences

<b>1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (40)</b>			
N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BENG née NINTCHOM PENLAP V.	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	MBACHAM Wilfried	Professeur	En poste
4	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<b>Chef de Département</b>
5	OBEN Julius ENYONG	Professeur	<b>Vice-Doyen (DSSE)</b>
6	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
7	BIGOGA DIAGA Jude	Maître de conférences	En poste
8	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
9	EFFA ONOMO Pierre	Maître de conférences	En poste
10	FOKOU Elie	Maître de Conférences	En poste
11	KANSCI Germain	Maître de Conférences	En poste
12	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
13	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
14	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste

15	WAKAM née NANA Louise	Maître de Conférences	En poste
16	BELINGA née NDOYE FOE Marie C. Florentine	Maître de Conférences	<b>Chef DAF / FS</b>
17	ACHU Merci BIH	Chargé de Cours	En poste
18	AZANTSA Boris	Chargé de Cours	En poste
19	DEMMANO Gustave	Chargé de Cours	En poste
20	DJOKAM TAMO Rosine	Chargé de Cours	En poste
21	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Chargé de Cours	En poste
22	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargé de Cours	En poste
23	EVEHE BEBANDOUÉ Marie –Solange	Chargé de Cours	<i>En disponibilité</i>
24	EWANE Cécile Anne	Chargé de Cours	En poste
25	KOTUE TAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
26	MBONG ANGIE MOUGANDE Mary Ann	Chargé de Cours	En poste
27	MOFOR née TEUGWA Clautilde	Chargé de Cours	<i>IA4/MINESUP</i>
28	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
29	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Chargé de Cours	En poste
30	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
31	LUNGA Paul KAILAH	Chargé de Cours	En poste
32	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
33	BEBEE FADIMATOU	Chargé de Cours	En poste
34	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste
35	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
36	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
37	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
38	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargé de Cours	En poste
39	MBOUCHE FANMOE Marcelline Joëlle	Chargé de Cours	En poste
40	TIENTCHEU DJOKAM Léopold	Chargé de Cours	En poste

**2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (B.P.A.) (44)**

1	BILONG BILONG Charles Félix	Professeur	<b>Chef de Département</b>
2	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
3	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
4	KAMTCHOING Pierre	Professeur	En poste
5	MIMPFOUNDI REMY	Professeur	En poste
6	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
7	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
8	NOLA Moïse	Professeur	En poste
9	TAN Paul Vernyuy	Professeur	En poste
10	TCHUEM TCHUENTE Louis	Professeur	<i>Coord. Progr. MINSANTE</i>
11	AJEAGAH Gidéon AGHAINDOUM	Maître de Conférences	<i>Chef Serv. /Diplomation FS</i>
12	DJIETO Lordon Champlain	Maître de Conférences	En poste
13	DZEUFIT DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
14	ESSOMBA née NTSAMA MBALLA	Maître de Conférences	<i>VDRC/Chef dépt FMSB</i>
15	FOTO MENBOHAN Samuel	Maître de Conférences	En poste
16	KAMGANG René	Maître de Conférences	<i>C.E. MINRESI</i>
17	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste

18	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
19	MONY NTONE Ruth	Maître de Conférences	En poste
20	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Maître de Conférences	En poste
20	ALENE Désirée Chantal	Chargé de Cours	<i>Chef Serv. /MINSUP</i>
21	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
22	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
23	BILANDA Danielle Claude	Chargé de Cours	En poste
24	DJIOGUE Séfirin	Chargé de Cours	En poste
25	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargé de Cours	En poste
26	JATSA MEGAPTCHE Hermine	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
27	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
28	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
29	MOUGANG NGAMENI Luciane	Chargé de Cours	En poste
30	LEKEUFACK FOLEFACK Guy Benoît	Chargé de Cours	En poste
31	NGOULATEU KENFACK Omer BEBE	Chargé de Cours	En poste
32	NGUEGUIM TSOFACK Florence	Chargé de Cours	En poste
33	NGUEMBOCK	Chargé de Cours	En poste
34	NJUA Clarisse YAFI	Chargé de Cours	En poste
35	TADU Zéphirin	Chargé de Cours	En poste
36	TOMBI Jeannette	Chargé de Cours	En poste
37	YEDE	Chargé de Cours	En poste
38	ETEME ENAMA Serge	Assistant	En poste
39	KANDEDA KAVAYE Antoine	Assistant	En poste
40	KOGA MANG'Dobara	Assistant	En poste
41	METCHI DONGFACK Mireille Flore	Assistant	En poste
40	NOAH E. O. Vivien	Assistant	En poste
41	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Assistant	En poste
<b>3-DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VEGETALES (B. P. V.) (27)</b>			
1	YOUMBI Emmanuel	Professeur	<b>Chef de Département</b>
2	AMBANG Zachée	Professeur	<i>DAARS / UYII</i>
3	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
4	BELL Joseph Martin	Maître de Conférences	En poste
5	DJOCGOUE Pierre François	Maître de Conférences	En poste
6	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
7	MBOLO Marie.	Maître de Conférences	<i>Coordo. Programme MINFOF</i>
8	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
9	ZAPFACK Louis	Maître de Conférences	En poste
10	ANGONI Hyacinthe	Chargé de Cours	En poste
11	BIYE Elvire Hortense	Chargé de Cours	En poste
12	MAHBOU SOMO TOUKAM Gabriel	Chargé de Cours	En poste
13	MALLA Armand William	Chargé de Cours	En poste
14	MBARGA BINDZI Marie Alain.	Chargé de Cours	<i>Inspecteur académ. N°1 MINESUP</i>
15	NGALLE Hermine BILLE	Chargé de Cours	En poste

16	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Chargé de Cours	En poste
17	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy Léonard	Chargé de Cours	En poste
18	NGOOU Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
19	NSOM ZAMO Annie Claude ép. Pial	Chargé de Cours	<i>Expert national./UNESCO</i>
20	ONANA Jean Michel	Chargé de Cours	En poste
21	TONFACK Libert Brice	Chargé de Cours	En poste
22	TSOATA Esaïe	Chargé de Cours	En poste
23	DJEUANI Astride Carole	Assistant	En poste
24	GONMADGE Christelle	Assistant	En poste
25	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Assistant	En poste
26	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Assistant	En poste
27	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Assistant	En poste

#### 4-DEPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (C.I.) (35)

1	KETCHA MBADCAM Joseph	Professeur	<b>Chef de Département</b>
2	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
3	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>Doyen/ UD</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Directeur Cabinet PM</i>
5	LAMINSI Samuel	Professeur	En poste
6	MELO née CHINJE Uphie F.	Professeur	<i>Recteur/UN</i>
7	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Vice-Recteur/ Ubda</i>
8	NANSEU Charles Péguy	Professeur	En poste
9	NENWA Justin	Professeur	En poste
10	BABALE DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	En poste
11	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
12	ELIMBI Antoine	Maître de Conférences	En poste
13	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
14	NDIKONTAR Maurice KOR	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen/Ubda</i>
15	NGOMO Horace MANGA	Maître de Conférences	<i>Recteur /UB</i>
16	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste
17	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
18	CHEUMANI YONA Arnaud	Chargé de Cours	En poste
19	EMADACK Alphonse	Chargé de Cours	En poste
20	GWET Simon – Pierre	Chargé de Cours	En poste
21	KAMGANG YOUNBI Georges	Chargé de Cours	En poste
22	KEUMEGNE MBOUGUEM Jean Claude	Chargé de Cours	En poste
23	KENNE DEDZO Gustave	Chargé de Cours	En poste
24	MBEY Jean Aimé	Chargé de Cours	En poste
25	NDI Julius NSAMI	Chargé de Cours	En poste
26	NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargé de Cours	En poste
27	NJIOMOU Chantale épouse DJANGANG	Chargé de Cours	En poste
28	NJOYA Dayirou	Chargé de Cours	En poste
29	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargé de Cours	En poste
30	PABOUDAM GBAMBIE Awaou	Chargé de Cours	En poste
31	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste

32	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Assistant	En poste
33	KOUOTOU DAOUDA	Assistant	En poste
34	MAKON Thomas Beauregar	Assistant	En poste
35	NCHIMI NONO Katia	Assistant	En poste

### 5-DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (C.O.) (33)

1	DONGO Etienne	Professeur	<b>Vice-Doyen/ DPSSA</b>
2	GHOGOMU TIH ROBERT RALPH	Professeur	<i>Directeur I.B.A. Fouban</i>
3	MBAFOR Joseph	Professeur	En poste
4	NGADJUI TCHALEU B.	Professeur	<i>Chef de dépt FMBS</i>
5	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de dépt. UDs</i>
6	NKENGFACK Augustin Ephrem	Professeur	<b>Chef de Département</b>
7	NYASSE Barthélemy	Professeur	<i>Directeur /UN</i>
8	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur au MINESUP</i>
9	WANDJI Jean	Professeur	En poste
10	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>DEPE/ UYI</i>
11	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
15	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
16	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Vice-Recteur/ UYII</i>
17	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
18	TCHUENDEM KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
19	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
20	AMBASSA Pantaleon	Chargé de Cours	En poste
21	EYONG Kenneth OBEN	Chargé de Cours	En poste
22	FOTSO WABO Ghislain	Chargé de Cours	En poste
23	KAMTO Eutrophe Ledoux	Chargé de Cours	En poste
24	MKOUNGA Pierre	Chargé de Cours	En poste
25	NGO MBING Joséphine	Chargé de Cours	En poste
26	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Chargé de Cours	Chef Cell/ MINRESI
27	NOTE LOUGBOT Olivier	Chargé de Cours	CEA/MINESUP
28	OUAHOUE WACHE Blandine Marlyse	Chargé de Cours	En poste
29	TABOPDA KUATE Turibio	Chargé de Cours	En poste
30	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
31	ZONDEGOUMBA Ernestine	Chargé de Cours	En poste
32	NGINTEDO Dominique	Assistant	En poste
33	NGOMO Orléans	Assistant	En poste

### 6-DEPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (30)

1	FOUDA NDJODO Marcel	Professeur	<i>IGA-MINESUP/Chef Dpt ENS</i>
2	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<b>Chef de Département</b> <i>Chef Division MINESUP</i>
3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste

4	CHEDOM FOTSO Donatien	Chargé de Cours	En poste
5	DJAM Xaviera Youth KIMBI	Chargé de Cours	En poste
6	KOUOKAM KOUOKAM Etienne Appolin	Chargé de Cours	En poste
7	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
8	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
9	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
10	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
11	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
12	ABESSOLO ALO'O Gislain	Assistant	En poste
13	AMINOUE Halilou	Assistant	En poste
14	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
15	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
16	EBELE Serge	Assistant	En poste
17	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
18	KAMDEM KENGNE Christiane	Assistant	En poste
19	KAMGUEU Patrick Olivier	Assistant	En poste
20	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
21	MAKEMBE S. Fritz Oswald	Assistant	En poste
22	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistant	En poste
23	MONTHE DJIADEU Valery Martial	Assistant	En poste
24	NKONDOCK MI BAHANACK Nicolas	Assistant	En poste
25	OLE OLE David Claude	Assistant	En poste
26	TAPAMO KENFACK Hyppolite	Assistant	En poste

**7-DEPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (33)**

1	BEKOLLE David	Professeur	<i>Vice-Recteur UN</i>
2	BITJONG NDOMBOL	Professeur	En poste
3	DOSSA COSSY Marcel	Professeur	En poste
4	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	<b>Chef de Département</b>
5	EMVUDU WONON Yves S.	Maître de Conférences	Dir. MINESUP
6	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
7	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
8	AGHOUEKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	C.E. MINEPAT
9	BOGSO Antoine M	Chargé de Cours	En poste
10	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
11	DOUANLA YONTA Hermann	Chargé de Cours	En poste
12	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
13	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
14	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
15	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
16	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
17	MBEHOU Mohamed	Chargé de Cours	En poste
18	MBELE BEDIMA Martin	Chargé de Cours	En poste
19	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
20	NGUEFACK Bertrand	Chargé de Cours	En poste
21	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste



22	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
23	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
24	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne- Marie	Chargé de Cours	En poste
26	DJIADEU NGAHA Michel	Assistant	En poste
27	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
28	NIMPA PEFOUKEU Romain	Assistant	En poste
29	TANG AHANDA Barnabé	Assistant	<i>Chef Serv. MINPLAMAT</i>
30	TETSADJIO TCHILEPECK Mesmin Erick	Assistant	En poste
<b>8-DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MB) (13)</b>			
1	ETOA François-Xavier	Professeur	<b>Recteur UDO/Chef de Département</b>
2	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
3	ESSIA NGANG Jean Justin	Maître de Conférences	<i>Chef de Division recherche IMPM</i>
4	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste
5	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
6	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
7	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	ENO Anna Arey	Chargé de Cours	En poste
10	ESSONO OBOUGOU Germain Gabriel	Chargé de Cours	En poste
11	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
12	NJIKI BIKOÏ Jacky	Assistant	En poste
13	TCHIKOUA Roger	Assistant	En poste
<b>9-DEPARTEMENT DE PHYSIQUE (PH) (41)</b>			
1	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
2	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
3	NJOMO Donatien	Professeur	En poste
4	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen/Ubda</i>
5	WOAFO Paul	Professeur	En poste
6	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<b>Chef de Département</b>
7	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
8	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
9	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	<i>Dir. Gén. B. MEKIM</i>
10	BEN- BOLIE Germain Hubert	Maître de Conférences	En poste
11	DJUIDJE KENMOE Gemaine épse ALOYEM KAZE	Maître de Conférences	En poste
12	EKOBENA FOUA Henri Paul	Maître de Conférences	<i>Chef Dépt UN</i>
13	EYEBE FOUA Jean Sire	Maître de Conférences	En poste
14	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
15	MBANE BIOUELE	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
16	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste
17	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Maître de Conférences	<i>Chef Serv. MINRESI</i>
18	NOUAYOU Robert	Maître de Conférences	En poste

19	OUMAROU BOUBA	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
20	SAIDOU	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
21	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
22	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste
23	BODO Bernard	Chargé de Cours	En poste
24	ENYEGUE A NYAM Françoise épouse BELINGA	Chargé de Cours	En poste
25	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
26	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINADER</i>
27	HONA Jacques	Chargé de Cours	En poste
28	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En Poste
29	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
30	NDOP Joseph	Chargé de Cours	En poste
31	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	<i>Dir.acad/Univ.Int.Etat Cam-Congo</i>
32	SIMO Elie	Chargé de Cours	En poste
33	TABI Conrad Bertrand	Chargé de Cours	En poste
34	TCHOFFO Fidèle	Chargé de Cours	En poste
35	VONDOU DERBETINI Appolinaire	Chargé de Cours	En Poste
36	WAKATA née BEYA Annie	Chargé de Cours	<i>Chef Serv. MINESUP</i>
37	WOULACHE Rosalie Laure	Chargé de Cours	En poste
38	ABDOURAHIMI	Assistant	En Poste
39	CHAMANI Roméo	Assistant	En Poste
40	MELI'I Jorelle Larissa	Assistant	En Poste
41	MVOGO Alain	Assistant	En Poste

**10- DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (S.T.) (44)**

1	NDJIGUI Paul-Désiré	Professeur	<b>Chef de Département</b>
2	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
3	BITOM Dieudonné Lucien	Professeur	Doyen FASA/ U D
4	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Maître de Conférences	En poste
5	KAMGANG Pierre	Maître de Conférences	En poste
6	MEDJO EKO Robert	Maître de Conférences	Conseiller Technique/UYII
7	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/MINMIDT</i>
8	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Maître de Conférences	En poste
9	NGOS III Simon	Maître de Conférences	<i>D.A.A.C./UM</i>
10	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
11	NKOUMBOU Charles	Maître de Conférences	En poste
12	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
13	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef de Divi/ MINTP</i>
14	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Chargé de Cours	Chef DAASR FS/UYI
15	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
16	BISSO Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Dir.Projet Barage Memve'ele</i>
17	EKOMANE Emile	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
18	ESSONO Jean	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
19	EYONG John TAKEM	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
20	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>Serv D'ETAT /MINMIDT</i>

21	GANNO Sylvestre	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
22	GHOGOMU Richard TANWI	Chargé de Cours	<i>Chef de Dépt IMIP/Maroua</i>
23	LAMILÉN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
24	MBIDA YEM	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
25	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Chef de Dépt IMIP/Maroua</i>
26	MOUAFO Lucas	Chargé de Cours	En poste
27	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargé de Cours	En poste
28	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargé de Cours	En poste
29	NGUEUTCHOUA Gabriel	Chargé de Cours	CEA MINRESI
30	NYECK Bruno	Chargé de Cours	En poste
31	ONANA Vincent	Chargé de Cours	En poste
32	TCHAKOUNTE Jacqueline ép. NUMBEM	Chargé de cours	<i>CEA MINRESI</i>
33	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Chargé de Cours	En poste
34	ZO'O ZAME Philémon	Chargé de Cours	<i>DG ART</i>
35	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
36	ANABA ONANA Achille Basile	Assistant	<i>En Poste</i>
37	BINELI BETSI Thierry Olivier	Assistant	<i>En Poste</i>
38	METANG Victor	Assistant	<i>En poste</i>
39	NOMO NEGUE Emmanuel	Assistant	En poste
40	SABABA Elisé	Assistant	En Poste
41	TCHAPTCHET TCHATO De Pesquidoux I	Assistant	En poste
42	TEHNA Nathanaël	Assistant	En poste

**Répartition chiffrée des enseignants permanents par Département  
(15 Novembre 2017)**

Département	Nombre d'enseignants				
	Pr	MC	CC	ASS	Total
<b>BC</b>	5 (1)	10 (3)	18 (9)	08 (4)	<b>40 (18)</b>
<b>BPA</b>	10 (0)	9 (1)	14 (6)	11 (4)	<b>44 (11)</b>
<b>BPV</b>	03 (0)	13 (4)	12 (3)	05 (5)	<b>33 (9)</b>
<b>C.I.</b>	9 (1)	7 (0)	15 (3)	4 (1)	<b>35 (5)</b>
<b>C.O.</b>	9 (0)	10 (3)	12 (3)	2 (0)	<b>33 (6)</b>
<b>IN</b>	2 (0)	1 (0)	8 (0)	15 (2)	<b>26 (2)</b>
<b>MA</b>	3 (0)	4 (0)	18 (1)	5 (0)	<b>30 (1)</b>
<b>MB</b>	1 (0)	6 (1)	4 (2)	2 (0)	<b>13 (3)</b>
<b>PH</b>	8 (0)	10 (1)	18 (2)	5 (2)	<b>41 (5)</b>
<b>ST</b>	3(0)	10 (1)	22 (4)	7 (0)	<b>44 (5)</b>
<b>Total</b>	<b>59 (2)</b>	<b>80 (14)</b>	<b>139 (33)</b>	<b>67 (18)</b>	<b>345 (67)</b>

Soit un total de : 345 (67) dont

- Professeurs 59 (2)
- Maîtres de Conférences 80 (14)
- Chargés de Cours 139 (33)
- Assistants 67 (18)
- ( ) = Nombre de femmes.

Le Doyen de la Faculté des Sciences

## **DÉDICACE**

À Françoise et François FOGANG, mes parents ;

À Marie KENGNE, ma feue grande mère.

## REMERCIEMENTS

*Ce travail de recherche a été réalisé en collaboration entre le Laboratoire de Sciences des Aliments et de Métabolisme (LabSAM) de l'Université de Yaoundé I et l'équipe Interfaces et Systèmes Dispersés (ISD) de l'Unité de Recherche Biopolymères, Interactions et Assemblages (UR 1268 BIA) de l'INRA de Nantes ; sous la codirection de Monsieur Germain KANSCI (Maître de Conférence à l'Université de Yaoundé I - Cameroun) et Madame Claude GENOT (Directrice de recherche INRA-Nantes-France).*

*Je voudrais en premier lieu remercier mes encadrants de thèse qui depuis Juin 2013 ont dû faire avec mes messages intempestifs, mes bêtises et n'ont cessé de me conseiller et orienter les différents travaux de cette thèse. Durant ces années, je crois, j'espère avoir copié chez vous le sens de la rigueur scientifique et du travail bien fait. Cela a été un vrai plaisir de travailler avec vous pendant ces quatre années.*

*Ce travail a bénéficié du soutien de l'ambassade de France à Yaoundé à travers la bourse d'étude que m'a octroyé le Service de Coopération et d'Action Culturelle (SCAC) pour le financement de mes différents séjours au centre de recherche INRA de Nantes.*

*Je remercie Monsieur Paul FEWOU MOUNDIPA, Professeur, Chef de Département de Biochimie, Chef du Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie (LPT) à la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I de m'avoir accueilli dans son laboratoire où j'ai passé mes premières années d'initiation à la recherche. A lui, j'associe tout le personnel enseignant du Département de Biochimie.*

*Je remercie également Monsieur FOKOU Elie, Maître de Conférences, Chef du Laboratoire des Sciences Alimentaires et Métabolisme pour l'accueil dans son laboratoire. Je n'oublie pas tous les enseignant-chercheurs du LabSAM, mes aînés de laboratoire pour les conseils reçus lors des échanges et animations scientifiques.*

*Merci à Monsieur Henri SEEGERS, Président du centre INRA Angers-Nantes ; Monsieur Marc ANTON, Directeur de l'UR 1268 BIA de m'avoir accueilli au sein du laboratoire. Un merci particulier à Alain RIAUBLANC, Chargé de Recherche INRA, responsable de l'équipe Interfaces et Systèmes Dispersés (ISD) pour tous les échanges que nous avons eu et les conseils que j'ai reçu pour l'étude des propriétés fonctionnelles des protéines d'insectes.*

*J'adresse des remerciements à Messieurs DEMMANO Gustave (HDR), NJAYOU Frédéric (Ph.D), PENCHANGOU Sylvain (Ph.D), tous les enseignants et chercheurs du LPT pour m'avoir soutenu, conseillé et encouragé durant ma thèse.*

*À mesdames Isabelle SERVENTON et Sylvaine BIZON, je dis merci pour toutes les dispositions administratives prises pour me permettre de passer un agréable séjour à Nantes.*

*Un très grand merci à Mme Michèle VIAU, Ingénieure de Recherche à l'INRA avec qui j'ai passé pas mal de temps pour l'analyse des lipides. Michèle « tu pourrais identifier un acide gras à l'œil nu ». J'ai essayé de puiser autant que je pouvais, prendre des connaissances auprès de toi. Merci pour ta disponibilité, tes conseils, ta bonne humeur, tes petites histoires et ton sourire.*

*Merci tout particulier à Mme Anne MEYNIER, Chargée de Recherche à l'INRA, pour l'initiation à l'analyse des données obtenues par spectrométrie de masse. Merci également pour l'aide que tu m'as apporté de la préparation à la publication de mon premier article.*

*À Lucie RIBOURG, je dis merci pour la disponibilité et l'aide apportée pour les dosages des tocophérols et du carotène sur les extraits lipidiques d'insectes.*

*J'adresse un très grand merci à Élisabeth DAVID BRIAND qui s'est toujours inquiétée de savoir si j'allais bien aussi bien sur le plan personnel que dans mon travail de recherche. Merci pour tout le temps que tu as passé à m'apprendre les consignes de sécurité, l'électrophorèse, la granulométrie laser, la microscopie des émulsions. Merci aussi pour cette belle balade à la découverte de la ville de Vannes.*

*À tous les membres de l'équipe Interface Systèmes Dispersés de l'UR 1268 BIA, j'adresse des remerciements pour les discussions scientifiques dont j'ai pu bénéficier, pour l'attention que chacun d'eux a pu m'accorder dans mon travail de thèse.*

*Je tiens également à remercier mes camarades et mes cadets de laboratoire, membres du LabSAM ; du LPT pour la collaboration l'esprit de convivialité dans le travail.*

*Merci à mes amis Abbé Hervé TANG TSAGUE, CHAKOKAM Raoul, NGOUNGOURE Florence, NGOUNGOURE Viviane, NCHOUWET Moïse pour tous les encouragements reçus durant ma thèse.*

*Un merci bien grand à mes amis de Nantes, particulièrement Hernan Brice KENMOGNE, Yannick AGNANGMA pour m'avoir accueilli chez eux durant mes séjours,*

*pour les sorties découvertes de la ville de Nantes, pour les soirées ou j'ai appris à faire mes premiers pas de Kizomba.*

*À M. Philippe LE GALL de l'IRD et M. FOGOHO John MUAFOR du Living Forest Trust, pour la mise en contact avec les éleveurs de *Rhynchophorus phoenicis* du village Elendé et pour les échantillons de larves d'élevages fournis, je tiens à adresser mes remerciements.*

*Je tiens également à remercier tous mes frères et sœurs, mes oncles et mes tantes, les fils et filles des grandes familles MBAH TAGNE, KENGNE Marie, SIKADIE Jean; DJOUELA, PENGOU Léon, MBA MAGOUA ; DJOUMESSI David; KAKABI Blaise ; MADOUM Honorine ; MAKOUGA Jeanne, pour leur soutien de tous les temps durant mon parcours académique et plus particulièrement lors de cette thèse qui a eu du mal à démarrer, mais qui fort heureusement se termine en ce jour.*

*Merci à maman Caroline PENGOU pour ses encouragements de tous les jours.*

*Tout spécialement merci à ma princesse, MAFEUGANG Nadine Sidoine pour tout le soutien durant mes années de thèse.*

*À tous ceux qui de près ou de loin ont contribué pour l'aboutissement de ce travail, mais dont les noms ne figurent pas ici, je dis de façon très sincère et du plus profond de mon cœur merci.*

*Pour terminer, je rends grâce au Seigneur, qui est essence de toute œuvre se réalisant dans ma vie.*



# SOMMAIRE

LISTE PROTOCOLAIRE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTÉ DES SCIENCES .....	i
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS.....	i
DÉDICACE.....	xi
REMERCIEMENTS .....	xii
SOMMAIRE .....	xv
RÉSUMÉ.....	xxi
ABSTRACT .....	xxii
LISTE DES ABRÉVIATIONS .....	xxiii
LISTE DES FIGURES .....	xxv
LISTE DES TABLEAUX.....	xxviii
INTRODUCTION.....	1
HYPOTHÈSE DE RECHERCHE .....	5
OBJECTIFS DE LA RECHERCHE .....	5
OBJECTIF GÉNÉRAL .....	5
OBJECTIFS SPÉCIFIQUES.....	5
CHAPITRE 1 : REVUE DE LA LITTÉRATURE .....	6
I.1.    INSECTES COMESTIBLES .....	6
I.1.1.    Généralités sur les insectes .....	6
I.1.2.    Entomophagie .....	7
I.1.3.    Intérêts de l'utilisation des insectes .....	8
I.2.    VALEURS ALIMENTAIRES DES INSECTES COMESTIBLES .....	10
I.2.1.    Teneur en protéines et composition en acides aminés des insectes .....	10

I.2.2.	Lipides des insectes.....	14
I.2.3.	Teneurs et composition en d'autres nutriments .....	21
I.3.	ÉTAT DES CONNAISSANCES SUR TROIS INSECTES COMESTIBLES DU CAMEROUN : LES LARVES DE <i>RHYNCHOPHORUS PHOENICIS</i> , ET LES CHENILLES D' <i>IMBRASIA TRUNCATA</i> ET D' <i>IMBRASIA EPIMETHEA</i> .....	21
I.3.1.	Connaissances sur <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	21
I.3.2.	Connaissances sur les chenilles <i>Imbrasia truncata</i> et <i>Imbrasia epimethea</i> .....	29
I.4.	PROPRIETES FONCTIONNELLES DES FARINES ET PROTÉINES D'INSECTES	33
I.4.1.	Généralités sur les propriétés fonctionnelles des protéines .....	33
I.4.2.	Propriétés fonctionnelles des farines et de protéines d'insectes .....	39
I.4.3.	Fonctionnalités alimentaires des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	47
I.5.	ANALYSE DE LA BIBLIOGRAPHIE.....	49
	CHAPITRE 2 : MATÉRIEL ET MÉTHODES .....	51
II.1.	TRAITEMENT DU MATÉRIEL BIOLOGIQUE.....	51
II.1.1.	Collecte des insectes .....	52
II.1.2.	Identification des insectes .....	54
II.1.3.	Conservation des insectes .....	54
II.1.4.	Caractérisation des insectes .....	55
II.2.	PRÉPARATION DES FARINES DES INSECTES.....	56
II.3.	PRÉPARATION DES EXTRAITS AQUEUX ET DU CONCENTRAT DE PROTÉINES D'INSECTES .....	56
II.3.1.	Préparation des extraits aqueux de protéines de larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	56
II.3.2.	Préparation du concentrat de protéines de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	57
II.4.	MÉTHODES D'ANALYSES DE LA COMPOSITION CENTÉSIMALE .....	58

II.4.1.	Détermination des conditions de mesure de la teneur en eau par analyse thermogravimétrique .....	58
II.4.2.	Détermination de la teneur en eau .....	58
II.4.3.	Détermination de la teneur en cendres.....	59
II.4.4.	Extraction des lipides et détermination de la teneur en lipides totaux.....	60
II.4.5.	Détermination de la teneur en protéines .....	62
II.5.	ANALYSE DE LA COMPOSITION EN ACIDES AMINÉS .....	66
II.5.1.	Principe .....	66
II.5.2.	Mode opératoire .....	66
II.5.3.	Calcul et expression des résultats .....	67
II.6.	ANALYSE DES LIPIDES.....	67
II.6.1.	Dosage des tocophérols.....	67
II.6.2.	Dosage des caroténoïdes .....	68
II.6.3.	Fractionnement des lipides totaux en lipides neutres, glycolipides et phospholipides.....	69
II.6.4.	Analyse des classes de lipides neutres, glycolipides et phospholipides .....	71
II.6.5.	Analyse des espèces moléculaires de triglycérides.....	73
II.6.6.	Détermination de la composition en acides gras des fractions lipidiques. ....	75
II.6.7.	Calorimétrie différentielle à balayage des extraits lipidiques.....	76
II.7.	ANALYSE DES MINÉRAUX.....	78
II.7.1.	Principe .....	78
II.7.2.	Mode opératoire .....	78
II.7.3.	Calcul et expression des résultats .....	79
II.8.	ACTIVITÉ DE L'EAU ET ISOTHERMES D'ADSORPTION DES FARINES D'INSECTES.....	79
II.8.1.	Mesure de l'activité de l'eau des farines d'insectes.....	79

II.8.2.	Mesure des isothermes de sorption.....	80
II.8.3.	Modélisation des isothermes d'adsorption.....	82
II.8.4.	Détermination de la chaleur isostérique de sorption.....	83
II.9.	SOLUBILITÉ EN PHASE AQUEUSE ET PROPRIÉTÉS ÉMULSIFIANTES DE <i>RHYNCHOPHORUS PHOENICIS</i> .....	84
II.9.1.	Étude de la solubilité des protéines des broyats de larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	85
II.9.2.	Caractérisation des lipides des extraits aqueux de protéines .....	86
II.9.3.	Évaluation des Propriétés émulsifiantes des extraits aqueux d'insectes et des concentrats de protéines des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> . .....	87
II.10.	ANALYSE STATISTIQUE DES RÉSULTATS.....	91
CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION .....		92
III.1.	COMPOSITION CHIMIQUE DES LARVES DES INSECTES .....	92
III.1.1.	Résultats.....	92
III.1.2.	Discussion.....	114
III.1.3.	Conclusion partielle .....	125
III.2.	INFLUENCE DES CONDITIONS DE CROISSANCE ET DU MORPHOTYPE DE LARVES DE <i>RHYNCHOPHORUS PHOENICIS</i> SUR CERTAINS DE LEURS PARAMETRES MORPHOLOGIQUES ET NUTRITIONNELS.....	126
III.2.1.	Résultats.....	126
III.2.2.	Discussion.....	141
III.2.3.	Conclusion partielle .....	146
III.3.	APTITUDE AU STOCKAGE ET À LA CONSERVATION DES INSECTES.....	147
III.3.1.	Résultats.....	148
III.3.2.	Discussion.....	162
III.3.3.	Conclusion partielle .....	164

### III.4. SOLUBILITÉ EN PHASE AQUEUSE, EXTRACTION DE PROTÉINES ET PROPRIÉTÉS ÉMULSIFIANTES DES PROTÉINES DE *RHYNCHOPHORUS PHOENICIS*

165	
III.4.1. Résultats.....	165
III.4.2. Discussion.....	179
III.4.3. Conclusion partielle.....	183
CONCLUSION GÉNÉRALE, RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES.....	184
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	184
RECOMMANDATIONS.....	185
PERSPECTIVES.....	186
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	187
ANNEXES.....	a
Annexe 1. Produits chimiques utilisés.....	a
Annexe 2. Préparation des solutions tampons.....	b
Annexe 3. Calcul de la teneur en eau des insectes.....	b
Annexe 4. Courbes d'étalonnages.....	d
Annexe 5. Bilan azote et acide aminés des farines d'insectes.....	a
Annexe 6. Masse des ions moléculaires des triglycérides.....	a
Annexe 7. Chromatogramme des classes de lipides neutres des chenilles de <i>Imbrasia trunctata</i> et <i>Imbrasia epimethea</i> après différents traitements.....	b
Annexe 8. Compositions en acides aminés des protéines et en acides gras des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	c
Annexe 9. Teneurs en eau à l'équilibre des farines d'insectes.....	f
Annexe 10. Ajustement des modèles aux isothermes d'adsorption des farines d'insectes pour les températures de 20 et 40°C.....	g
Annexe 11. Activité de l'eau et chaleur isostérique des farines d'insectes.....	m

Annexe 12. Teneur en protéines extraites par concentration en broyat.....	n
Annexe 13. Classes de lipides et d'acides gras des extraits aqueux de larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	o
Annexe 14. Fréquence des diamètres en volume des émulsions à base de concentrat de protéines de des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> en fonction du pH. ....	p
LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS.....	q
TIRÉS À PART DES PUBLICATIONS .....	s

## RÉSUMÉ

La consommation des insectes peut permettre de répondre aux besoins alimentaires de certaines populations. Pour valoriser ces ressources, de nombreuses études sont menées afin d'obtenir des données fiables sur leur valeur nutritionnelle. Ce travail évalue la composition nutritionnelle de trois espèces d'insectes consommés au Cameroun (deux morphotypes de larves de *Rhynchophorus phoenicis* (Rp jaunes vs Rp blancs) et les chenilles d'*Imbrasia truncata* et *I. epimethea*); étudie l'aptitude au stockage de la farine de chacun des trois insectes et caractérise les propriétés émulsifiantes des extraits protéiques de Rp. Sur ces trois insectes, les lipides totaux extraits à froid ont été fractionnés par chromatographie d'adsorption. La composition en classe des fractions a été effectuée par chromatographie liquide haute performance, suivie d'une identification de la composition en acide gras par chromatographie en phase gazeuse. Les protéines ont été quantifiées par la méthode de Dumas et la composition en acides aminés déterminée par chromatographie d'échange d'ions. Sur les farines des trois insectes, les teneurs en eau de stabilité microbiologique, enzymatiques et chimiques ont été déterminées par la mesure des isothermes d'adsorption. Sur les protéines de Rp, les propriétés émulsifiantes ont été évaluées par granulométrie laser et microscopie. Les résultats obtenus montrent que les larves de Rp sont riches en lipides dont les différentes classes et les espèces moléculaires ont été identifiées et en protéines de bonne qualité nutritionnelle (haute teneur en acides aminés indispensables). Elles sont un bon complément énergétique. La teneur en lipides (lipides totaux, tocophérols, caroténoïdes, acides gras (AG)) des larves de Rp varie cependant selon le morphotype (jaune vs blanche) et les conditions de croissance des larves (élevage vs sauvage). Les chenilles sont riches en protéines de haute qualité indiquant leur importance en cas de sous alimentation protéique. Leurs lipides sont riches en acides gras polyinsaturés, principalement l'acide linoléique. Les teneurs en eau maximales permettant la stabilité microbiologique des farines pour des températures de stockage comprises entre 20 et 40°C se situent entre 2 et 5,6 g/100 g de farine. Les protéines des larves de Rp extraites à pH basiques présentent d'excellentes propriétés émulsifiantes. Pour conclure, les insectes étudiés ont un fort potentiel nutritionnel, et présentent des aptitudes pour être utilisées dans des émulsions alimentaires.

**Mots clés :** Insectes comestibles, valeur nutritionnelle, protéines, lipides, isotherme d'adsorption, émulsions.

## ABSTRACT

Insect consumption is one of the solutions used to meet food needs. In order to valorize these resources, numerous studies are being conducted to obtain reliable data on the nutritional value and functional properties. This work evaluates the nutritional composition of three insects consumed in Cameroon: two morphotypes of *Rhynchophorus phoenicis* larvae (Rp; white vs yellow)) and the larvae of *Imbrasia truncata* and *I. epimethea*; and studies the storage capacity of the flour of each of the three insects and the emulsifying properties of the Rp protein extracts. On these insects, the total lipids were cold-extracted by the Folch method, followed by an identification of their fatty acid composition with gas chromatography. Their proteins were quantified by the Dumas method and the amino acid composition determined by ion exchange chromatography. On the flour of each of the three insects, the water contents which ensure microbiological, enzymatic and chemical stability of were determined by the measurement of the adsorption isotherms. On the Rp proteins, the emulsifying properties were evaluated by laser granulometry and microscopy. The results obtained show that the Rp larvae are rich in lipids (whose different classes and molecular species have been identified) and proteins of good nutritional quality (high content of essential amino acids). They are a good energy supplement. The lipid content (total lipids, tocopherols, carotenoids, fatty acids (FA)) of Rp larvae varies according to the morphotype (yellow vs white) and the growth conditions of the larvae (breeding vs wild). The caterpillars are rich in high quality proteins indicating their importance in case of protein undernourishment. Their lipids are rich in polyunsaturated fatty acids, mainly linolenic acid. The maximum moisture content for microbiological stability of insect flours at storage temperatures between 20 and 40 ° C was determined by adsorption isotherms. Proteins of Rp larvae extracted at basic pH have excellent emulsifying properties. To conclude, *Rhynchophorus phoenicis* larvae, *I. truncata* and *I. epimethea* caterpillars have a high nutritional potential and aptitudes for various food applications.

**Keys words:** edible insects, nutritional value, proteins, lipids, adsorption isotherm; emulsions.



## LISTE DES ABRÉVIATIONS

AA :	acides aminés
AAI :	acides aminés indispensables
AANI :	acides aminés non indispensables
AG:	acides gras
AGI:	acides gras insaturés
AGL:	acides gras libres
AGMI:	acides gras mono-insaturés
AGPI:	acides gras polyinsaturés
AGPI LC:	acides gras polyinsaturés à longue chaîne
AGS:	acides gras saturés
ALA:	<i>α-linolenic acid</i> = acide $\alpha$ -linoléique: 18:3 n-3
BSA :	sérum albumine bovine
$d_{3,2}$ :	diamètre moyen pondéré en surface
$d_{4,3}$ :	diamètre moyen pondéré en volume
DG:	diacylglycérol/diglycéride
DHA:	<i>docosahexaenoic acid</i> = acide docosahexaénoïque: 22: 6 n-3
E/H:	émulsion eau dans huile
ELSD :	<i>Evaporative Light Scattering Detector</i> = détecteur évaporatif à diffusion de lumière (DEDL)
EPA:	<i>eicosapentaenoic acid</i> = acide eicosapentaénoïque: 20: 5 n-3
HPLC:	<i>high performance liquid chromatography</i>
LA:	<i>linoleic acid</i> = acide linoléique: 18:2 n-6
LPC:	lysophosphatidylcholine
LPE:	lysophosphatidyléthanolamine
MG:	monoacylglycérol/monoglycéride
MALDI TOF :	<i>Matrix-assisted laser desorption/ionization-Time of Flight</i> = Désorption-ionisation laser assistée par matrice – Temps de vol
PC:	phosphatidylcholine
PE:	phosphatidyléthanolamine

PS:	phosphatidylsérine
PI:	phosphatidylinositol
RAA:	résidus d'acides aminés
SDS :	dodécyl sulfate de sodium
SPH:	sphingomyeline
SPE :	<i>solid phase extraction</i> = extraction en phase solide
SSp :	surface spécifique
TAG :	triacylglycérol/triglycéride
UHPLC:	<i>Ultra-High Performance Liquid Chromatography</i>

## LISTE DES FIGURES

Figure 1: Différentes étapes de développement chez les insectes.....	7
Figure 2: Structure chimique des principaux phospholipides .....	17
Figure 3: Structure chimique du glycérol et des différents glycérides.....	18
Figure 4 : Principaux acides gras polyinsaturés n-3 et n-6 rencontrés chez les insectes .....	20
Figure 5: Cycle de développement des larves de <i>Rhynchophorus</i> .....	22
Figure 6: Vitesse de modification des aliments en fonction de l'activité de l'eau. ....	35
Figure 7: Différents mécanismes de déstabilisation des émulsions .....	38
Figure 8: Larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	51
Figure 9: Chenilles d' <i>Imbrasia epimethea</i> .....	51
Figure 10: Chenilles d' <i>Imbrasia truncata</i> .....	52
Figure 11: différents types de larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> (A : Larves blanches Sauvages ; B : Larves Jaunes Sauvages).....	53
Figure 12: Schéma expérimental pour la caractérisation nutritonnelle des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> et des chenilles d' <i>Imbrasia epimethea</i> et d' <i>Imbrasia truncata</i> .....	55
Figure 13: Schéma de préparation des extraits aqueux de protéines.....	57
Figure 14: Dispositif expérimental de la méthode de mesures des isothermes d'adsorption avec des solutions salines.....	81
Figure 15: Cinétique de diminution en masse de la farine d' <i>Imbrasia epimethea</i> aux températures de 80, 103, 110 et 130 °C (n=3). ....	92
Figure 16: Chromatogramme des lipides neutres de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	97
Figure 17: Chromatogramme composition en classe de phospholipides des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	98
Figure 18: Spectre de masse de triglycérides de l'extrait lipidique des larves <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	100
Figure 19: Courbe de cristallisation et de fusion de l'extrait lipidique des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	101
Figure 20: Spectre UV-Visible des extraits lipidiques des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> jaune sauvage, blanche sauvage et blanche élevage .....	132

Figure 21: Représentation de certaines variables (composants nutritionnels majeurs et paramètres morphologiques) et les individus (lots de larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> ) sur le premier plan de l'analyse en composante principale.....	141
Figure 22: Isothermes d'adsorption de la poudre de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> aux températures de 20, 30 et 40 °C (n=5) .....	149
Figure 23: Isothermes d'adsorption de la poudre d' <i>Imbrasia truncata</i> aux températures de 20, 30 et 40 °C (n=5).....	150
Figure 24: Isotherme d'adsorption de la poudre d' <i>Imbrasia epimethea</i> aux températures de 20, 30 et 40 °C (n=5).....	150
Figure 25: Isotherme d'adsorption de la farine des larves d' <i>Rhynchophorus phoenicis</i> ajusté aux modèles de GAB, BET, SMITH, OSWIN, PELEG et HASLEY (T= 30 °C).....	152
Figure 26 : Isotherme d'adsorption de la farine des chenilles d' <i>Imbrasia truncata</i> ajusté aux modèles de GAB, BET, SMITH, OSWIN, PELEG et HASLEY (T= 30°C) .....	153
Figure 27: Isotherme d'adsorption de la farine des larves d' <i>Imbrasia epimethea</i> ajusté aux modèles de GAB, BET, SMITH, OSWIN, PELEG et HASLEY (T= 30 °C) .....	154
Figure 28: Isostères d'adsorption de la farine des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	159
Figure 29: Isostères d'adsorption de la farine des chenilles d' <i>Imbrasia truncata</i> .....	159
Figure 30: Isostères d'adsorption de la farine des chenilles d' <i>Imbrasia epimethea</i> .....	160
Figure 31: Chaleur isostérique nette d'adsorption des farines des insectes <i>Rhynchophorus phoenicis</i> en fonction de la teneur en eau .....	160
Figure 32: Chaleur isostérique nette d'adsorption des farines des chenilles <i>Imbrasia truncata</i> en fonction de la teneur en eau.....	161
Figure 33: Chaleur isostérique nette d'adsorption des farines des chenilles d' <i>Imbrasia epimethea</i> en fonction de la teneur en eau à l'équilibre.....	161
Figure 34: Teneur en protéines extraites en fonction de la concentration en broyat .....	165
Figure 35: Teneur en protéines des extraits aqueux de protéines en fonction du pH (Les valeurs des histogrammes surmontés de lettres différentes sont statistiquement différentes (p<0,05 ; a> b>c>d)) .....	166
Figure 36: Pourcentage de solubilité des protéines dans les extraits aqueux de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> en fonction du pH.....	167

Figure 37: Electrophorègrammes des protéines des extraits aqueux de larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> préparés à différents pH (kDa: kilo Daltons; MW: standard de protéines de différents poids moléculaire connus (Molecular Weight) .....	168
Figure 38: Teneur en lipides des extraits aqueux des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> à différents pH.....	169
Figure 39: Teneur en TAG et AGL des extraits aqueux de larves <i>Rhynchophorus phoenicis</i> préparés à différents pH .....	170
Figure 40: Teneur en acides gras des extraits aqueux de larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> préparés à différents pH (n=3) .....	171
Figure 41: Variation des diamètres pondérés en surface des gouttelettes en fonction des du pH (émulsion 90/10 : eau/huile : p/p ; concentration en protéines de la phase aqueuse : 1mg/mL ; n=3) .....	172
Figure 42: Variation de la surface spécifique (SSp ; cm <sup>2</sup> /mL) des gouttelettes de l'émulsion en fonction du pH (émulsion 90/10 : eau/huile : p/p ; concentration en protéines de la phase aqueuse 1mg/mL ; n = 3).....	173
Figure 43: Microstructure des émulsions préparés avec les extraits aqueux de larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> à différents pHs (pH5,0 -10,0).....	174
Figure 44: Pourcentage de solubilité du concentrat de protéines de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> en fonction du pH (3,0 – 10,0 ; n =3).....	175
Figure 45: Electrophorègrammes du concentrat de protéines des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> préparés à différents pHs (kDa: kiloDaltons; MW: standard de protéines de différents poids moléculaire connus (Molecular Weight).....	176
Figure 46: Distribution de la taille des émulsions stabilisés par le concentrat de protéines des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> à différents pH (3,0 ; 5,0 ; 7,0 ; 9,0) en présence et en absence de SDS .....	177

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Répartition des classes de lipides chez quelques insectes .....	17
Tableau II: Teneurs en classes de lipides neutres chez certains insectes (g/100g lipides neutres).....	18
Tableau III: Composition moyenne en classes d'acides gras dans les lipides totaux de différents ordres d'insectes.....	20
Tableau IV: Diversité de la composition proximale des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> publiée dans la littérature (g/ 100 g matière sèche (MS) ou matière humide (MH). ....	25
Tableau V : Variation de la composition en acides aminés des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	26
Tableau VI: Variation de la composition en acides aminés des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	27
Tableau VII : Valeurs d'activité de l'eau de certains aliments et activités microbienne associées .....	36
Tableau IX: Composition centésimale des farines d'insectes et propriétés fonctionnelles étudiées.....	41
Tableau X: Activités de l'eau $a_w$ des sels saturés utilisés pour la détermination des courbes de sorption.....	81
Tableau XI: Modèles de description des isothermes de sorption.....	82
Tableau XI : facteur de conversion azote protéine et azote non protéique et protéique des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> . ....	94
Tableau XII: Composition proximale des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	94
Tableau XIV: Composition en acides aminés des protéines des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> comparé à la protéine de référence .....	95
Tableau XIV: Teneurs en potassium, calcium et magnésium des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> comparé aux apports journaliers recommandés .....	96
Tableau XV: Composition en tocophérols des lipides des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	96
Tableau XVI: Composition en fractions des lipides des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	97
Tableau XVII: Composition en classes de phospholipides des lipides des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	99

Tableau XVIII: Composition en triglycérides des lipides neutres des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> après détermination par HPLC-DEDL et MALDI TOF.....	100
Tableau XIX: Composition en acides gras des fractions des lipides des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	102
Tableau XX : facteur de conversion azote protéine et azote non protéique des chenilles d' <i>Imbrasia truncata</i> et <i>Imbrasia epimethea</i> .....	104
Tableau XXI: Composition proximale des chenilles <i>Imbrasia epimethea</i> et <i>Imbrasia truncata</i> .....	104
Tableau XXII: Composition en acides aminés des chenilles <i>Imbrasia epimethea</i> et <i>Imbrasia truncata</i> .....	106
Tableau XXIII : Teneurs en potassium, calcium et magnésium des chenilles d' <i>Imbrasia truncata</i> et d' <i>Imbrasia epimethea</i> (n=2) comparé aux apports journaliers recommandés.....	107
Tableau XXIV: Composition en tocophérols des lipides des chenilles <i>Imbrasia truncata</i> and <i>Imbrasia epimethea</i> .....	108
Tableau XXV: Fraction des lipides des chenilles de <i>Imbrasia truncata</i> et <i>Imbrasia epimethea</i> .....	109
Tableau XXVI: Composition en phospholipides d' <i>Imbrasia truncata</i> et d' <i>Imbrasia epimethea</i> (g/100 g de phospholipide).....	110
Tableau XXVII: Composition en acide gras de fractions lipidiques d' <i>Imbrasia truncata</i> et d' <i>Imbrasia epimethea</i> .....	112
Tableau XXVIII: Paramètres morphologiques des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	126
Tableau XXIX: Facteur de conversion de chaque type de larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	128
Tableau XXX: Composition nutritionnelles des différentes variétés des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	129
Tableau XXXI: Composition en tocophérols des différentes variétés des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	131
Tableau XXXII: Composition en caroténoïdes des différentes variétés de larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	133
Tableau XXXIII: composition en acides gras des différents groupes de larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> (g/100 g matière humide).....	136

Tableau XXXIV : Concentration en résidus d'acides aminés des différents groupes de larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> (mg/100 g MH) .....	138
Tableau XXXV: Matrice de corrélation de Pearson des paramètres morphologiques et composants nutritionnels des larves des <i>Rhynchophorus phoenicis</i> .....	140
Tableau XXXVI: Teneur en eau, lipides et protéines des farines d'insectes lyophilisées (g/100 g MS) (n=3).....	148
Tableau XXXVII: Activité de l'eau des farines d'insectes (n = 3) .....	149
Tableau XXXVIII: Teneur en eau permettant la stabilité microbiologique, chimique et enzymatique des farines d'insectes à 20, 30 et 40 °C .....	151
Tableau XXXIX: Valeurs des paramètres et des coefficients statistiques des isothermes d'adsorption des farines des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> ajustés aux modèles.....	155
Tableau XL: Valeurs des paramètres et des coefficients statistiques des isothermes d'adsorption des farines des des chenilles d' <i>Imbrasia truncata</i> ajustés aux modèles.....	156
Tableau XLI: Valeurs des paramètres et des coefficients statistiques des isothermes d'adsorption des farines des des chenilles d' <i>Imbrasia epimethea</i> ajustés aux modèles.....	157
Tableau XLII: Teneurs en eau de la couche monomoléculaire (g/100 g MS) des farines insectes aux températures de 20 à 40 °C.....	158
Tableau XLIII: Diamètre moyen pondéré en volume et indice de floculation des émulsions à base de concentrat de protéines de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> préparées à différents pH .....	178
Tableau XLIV: Diamètre moyen pondéré en surface, surface spécifique et indice de coalescence des émulsions à base du concentrat de protéines des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> préparées à différents pHs.....	179



# INTRODUCTION GENERALE

---

## INTRODUCTION

La consommation des insectes par les hommes est très répandue dans le monde et cela depuis les origines de l'humanité (Ekpo, 2011; Van Huis *et al.*, 2013). Aujourd'hui, plus de 2500 espèces sont traditionnellement consommées dans 113 pays dont plus de 500 en Afrique (Jongema, 2015; Rumpold & Schlüter, 2013). Ces insectes complètent les régimes alimentaires d'environ 2 milliards de personnes dans le monde se trouvant pour la plupart en Afrique, en Asie et en Amérique du Sud. En Afrique, l'entomophagie est un moyen traditionnel et culturel par lequel certaines populations plus pauvres équilibrent leur alimentation en protéines (Ekpo, 2011). Cette pratique est encouragée depuis quelques décennies par de nombreux auteurs qui estiment que consommer des insectes est une des solutions possibles pour lutter contre la faim et la malnutrition dans le monde (Bodenheimer, 1951; DeFoliart, 1992; Meyer-rochow, 1975; Van Huis, 2013). En effet, dans un contexte où la population mondiale ne cesse de croître (estimée à 11 milliards en 2050), où les protéines animales se font de plus en plus rares et chères, où l'insécurité alimentaire et la malnutrition sévissent dans plusieurs pays du monde et particulièrement dans ceux en voie de développement, l'utilisation des insectes pour l'alimentation humaine ou animale pourrait participer à la réponse à ces problèmes cruciaux. Selon Omotoso (2006), une augmentation de 10% de la fourniture mondiale en protéines animales à travers la production massive des insectes pourrait largement contribuer à l'élimination du problème de famine et de malnutrition dans le monde. La production des insectes présente en effet de nombreux avantages sur le plan environnemental, économique et sanitaire. L'élevage des insectes pourrait être plus facile et moins coûteux que celui du bétail conventionnel. Les insectes se développent sur les déchets organiques; utilisent beaucoup moins d'eau et d'espace que le bétail conventionnel; ils produisent beaucoup moins de gaz à effet de serre et possèdent un taux de conversion alimentaire élevé (Van Huis *et al.*, 2013). Sur le plan nutritionnel, les insectes sont en général d'excellentes sources de protéines avec une teneur moyenne de 60 g/100g de matières sèches (Rumpold & Schlüter, 2013). Cette teneur est comparable ou même plus élevée que celle de certains aliments d'origine animale (poisson, porc) et végétale (haricot, maïs) (Alamu *et al.*, 2013; Barroso *et al.*, 2014). De plus la portion corporelle comestible chez les insectes (80% de la masse totale) est plus élevée que celle du poulet et du porc (55%) et du bœuf (40%) (Van Huis *et al.*, 2013). Chez la plupart d'insectes, cette teneur en protéines est couplée à une richesse en acides aminés essentiels dont la teneur est

supérieure à celle de la protéine de référence de la FAO (Womeni *et al.*, 2012; Zielińska *et al.*, 2015). Les protéines des insectes ont également une excellente digestibilité (Osasona & Olaofe, 2010). Les insectes comestibles sont donc une source alternative de protéines à exploiter pour l'alimentation humaine ou pour l'alimentation animale. Les insectes sont également riches en lipides, en minéraux, en fibres et en vitamines (Rumpold & Schlüter, 2013). Les teneurs en lipides sont très variables chez les insectes et liées à leur stade de développement. A l'état larvaire, leur teneur pourrait atteindre les 60 g/100 g de la matière sèche chez certains insectes tels que le coléoptère *Rhynchophorus phoenicis* (Omotoso & Adedire, 2007; Womeni *et al.*, 2012). Certains insectes ont également la particularité d'être riches en acides gras essentiels, principalement des acides gras polyinsaturés de la série n-3. Ces acides gras jouent un rôle important dans la prévention de nombreuses maladies métaboliques (Sihamala *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2006). La consommation d'insecte peut participer à une alimentation saine, et être utilisée en nutrition préventive ou en cas de disette car ils sont riches en énergie et en protéines de bonne qualité.

Au Cameroun, quelques travaux ont été effectués pour valoriser les insectes comestibles. Ces travaux ont portés sur l'identification des espèces consommées, les techniques de récolte, le circuit de distribution et de commercialisation, l'étude des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles et les méthodes de domestications (Balinga *et al.*, 2004, Womeni *et al.*, 2009 ; Womeni *et al.*, 2012, Muafor *et al.*, 2012 ; Tiencheu *et al.*, 2013 ; Muafor *et al.*, 2014). Ces travaux montrent que les larves de *Rhynchophorus phoenicis*, vulgairement connue sous le nom de « Mbé » en pays Bamiléké ; « Phoos » dans les régions du centre ou « Tumbu » dans les régions anglophones du Cameroun, sont des insectes très appréciées par les populations. Elles sont disponibles toute l'année, sont consommées par les populations de 7 des 10 régions du Cameroun et constituent de véritables sources de revenus pour les populations qui les commercialisent. Ces larves sont riches en lipides et constituent des sources de protéines. Elles contiennent également des glucides, des Vitamines (A, B2 et C) et des minéraux (Rumpold and Schlüter, 2013). Les travaux de Womeni *et al.* (2009) ont montré que les larves de *Rhynchophorus phoenicis* ont des teneurs élevés en acides gras polyinsaturés indispensables (50, 9 g/100 g AG), principalement l'acide linoléique. Ces observations contrastent avec celles de nombreux auteurs qui ont obtenus des teneurs plus faibles se situant à moins de 10 g/100g AG (Rumpold and Schlüter, 2013). Lors du

fractionnement des lipides totaux des larves *R. phoenicis*, Ekpo *et al.* (2009) ont obtenu majoritairement les lipides neutres (88 g/100 g lipides), les lipides polaires étant faiblement représentés (11 g/100 g lipides). À notre connaissance, il n'existerait pas d'information sur la composition détaillée des fractions lipidiques de cet insecte, telle que leur composition en acide gras. Ces données sont pourtant intéressantes parce que la teneur et la composition en lipides influencent non seulement leurs propriétés nutritionnelles et fonctionnelles, mais aussi celle de l'aliment tout entier. Par exemple, les espèces moléculaires de triglycérides, ainsi que la distribution régiospécifique des acides gras sur la molécule de triacylglycérol, peuvent affecter la biodisponibilité et le métabolisme des acides gras (Michalski *et al.*, 2013). À notre connaissance, ces espèces moléculaires de triacylglycérol n'ont pas encore identifiées chez *R. phoenicis*, contrairement à *R. ferrugineus* chez qui la trioléine et la dipalmitoleyl-oléoyl glycérol ont été identifiées. La teneur en différents isomères de la vitamine E ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  et  $\gamma$  tocophérol) de ces larves demeure inconnue, de même que leur propriétés thermiques de leur lipide. Ces observations montrent qu'il existe des données manquantes sur la composition détaillée des lipides des larves de *R. phoenicis*. En ce qui concerne les protéines, bien qu'elles soient riches en acides aminés indispensables, les teneurs en cystéine et en tryptophane ne sont pas souvent évaluées. Les chenilles du genre *Imbrasia* (encore appelée minkoo, minfings dans les régions du centre) sont également très appréciées par les populations des zones forestières du Cameroun. Ces insectes sont consommés très souvent comme friandises ou permettent de compléter les régimes pauvres en viandes de certaines populations. Elles ne sont pas disponibles pendant certaines périodes de l'année. Ces chenilles sont particulièrement riches en protéines (environ 60 g/100 g MS), en acides aminés indispensables et acides gras essentiels (Kokondi *et al.*, 1987). Toutefois, il existe comme chez *Rhynchophorus phoenicis*, des données manquantes sur leur composition nutritionnelle détaillée. Il est par conséquent important d'apporter un complément d'informations sur les lipides et les protéines de ces trois insectes si l'on veut valoriser ces ressources.

Parmi les trois insectes, les larves de *Rhynchophorus phoenicis*, inféodés aux palmiers, se développent au Cameroun sur 4 types de palmier (*Elaeis guineensis*, *Raphia hookeri*, *Raphia monbuttorum* et *Raphia mambillensis*). Elles existent également sous deux morphotypes: les larves de couleur jaunes qui se développent sur *Raphia monbuttorum* et les larves de couleur blanches se développent sur *Raphia hookeri*. Ces larves blanches

contrairement aux larves jaunes font aujourd'hui l'objet d'élevage au Cameroun (Muafor *et al.*, 2015). Ces observations soulèvent bien évidemment des questions. La première est celle de savoir s'il existe des différences sur le plan morphométrique et nutritionnel entre les larves de couleur blanche et celles de couleur jaune. La seconde est celle de savoir si l'élevage des larves de couleur blanche peut permettre d'optimiser leur paramètre nutritionnel et morphométrique. Dans la littérature, on observe une grande variabilité des données sur la composition nutritionnelle des larves de *Rhynchophorus phoenicis*: une teneur en eau qui varie entre 8,4 et 64,70 g/100 g MH; une teneur en protéines qui varie entre 8,42 et 32 g/100 g MH et une teneur en lipides variant entre 17 et 57 g/100 g MH. Ces variations sont énormes et pourraient avoir par plusieurs explications parmi lesquelles l'échantillonnage ou encore les techniques analytiques utilisées. Il serait cependant intéressant d'avoir des données de composition nutritionnelle fiables pour les larves de *Rhynchophorus phoenicis*, issues d'un échantillonnage raisonné *et* qui soient utilisables dans les bases de données alimentaires.

Dans les marchés de Yaoundé et environ, les larves de *Rhynchophorus phoenicis* et les chenilles d'*Imbrasia* sont vendus parfois frais ou partiellement déshydraté, avec comme risques diverses altérations de nature chimique, microbiologique ou enzymatique. Lorsqu'elles sont vendues totalement déshydratées, il ya bien évidemment le risque de perte de qualité organoleptique. Il serait intéressant de définir les conditions de conservation de ces insectes, notamment en déterminant les teneurs en eau limite de séchage si on veut les conserver à des températures données.

L'entomophagie est une pratique difficile pour certaines personnes (Caparros Megido *et al.*, 2014). Pour faciliter l'utilisation des insectes en alimentation, ces derniers ou certaines de leurs fractions peuvent être utilisées comme ingrédients dans la fabrication de certains produits alimentaires tels que les biscuits et les sauces alimentaires (Idolo, 2010; Ojinnaka *et al.*, 2015) où ils peuvent participer à la formation des gels alimentaires, la formation et la stabilisation des émulsions et mousses alimentaires. C'est le cas des protéines de certains insectes qui présentent d'excellentes propriétés fonctionnelles (Bußler *et al.*, 2016; Omotoso, 2006; Osasona & Olaofe, 2010; Womeni *et al.*, 2012; Yi *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2016). Les protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* possédant une excellente composition en acides aminés indispensables, il serait intéressant de voir si à coté de cette qualité nutritive,

elles peuvent être utilisées comme ingrédients fonctionnel, notamment dans un modèle alimentaire comme les émulsions.

Toutes ces observations ont conduit à formuler l'hypothèse de travail suivante :

## **HYPOTHÈSE DE RECHERCHE**

Les larves de *Rhynchophorus phoenicis* (récoltées en milieu sauvage ou élevées), les chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*I. epimethea* sont des sources de lipides et protéines d'excellente qualité nutritionnelle ; leurs farines peuvent être stable durant le stockage et leurs protéines peuvent être utilisées comme ingrédients fonctionnels.

## **OBJECTIFS DE LA RECHERCHE**

### **OBJECTIF GÉNÉRAL**

L'objectif général de cette thèse a été de caractériser les propriétés nutritionnelles, fonctionnelles et l'aptitude au stockage de trois insectes consommés au Cameroun (les larves de *Rhynchophorus phoenicis*, les chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*I. epimethea*).

### **OBJECTIFS SPÉCIFIQUES**

De façon plus spécifique, il a été question au cours de cette thèse de :

- Déterminer la composition détaillée en acides aminés et en lipides (composition en acide gras des lipides totaux et des fractions lipidiques, classes lipidiques, espèces moléculaires de triacylglycérol, teneur en isomères de tocophérols) des larves de *Rhynchophorus phoenicis* et des chenilles *Imbrasia epimethea* et *Imbrasia truncata* ; et des propriétés thermiques de leurs lipides.
- Étudier l'influence des conditions de croissance (larves sauvages ou issues d'un système d'élevage) et du morphotype de la larve (larves jaunes et larves blanches) sur quelques paramètres morphométriques et nutritionnels de cette dernière.
- Déterminer les conditions de stockage et conservation des farines des trois insectes (*Rhynchophorus phoenicis*, *Imbrasia epimethea* et *Imbrasia truncata*) par étude des propriétés de sorption d'eau des farines.
- Étudier la solubilité en phase aqueuse et caractériser les propriétés émulsifiantes des protéines extraites de larves de *Rhynchophorus phoenicis*, espèce élevée au Cameroun.

**CHAPITRE 1 :**  
**REVUE DE LA LITTÉRATURE**

---

## CHAPITRE 1 : REVUE DE LA LITTÉRATURE

### I.1. INSECTES COMESTIBLES

#### I.1.1. Généralités sur les insectes

##### I.1.1.1. Classification des insectes

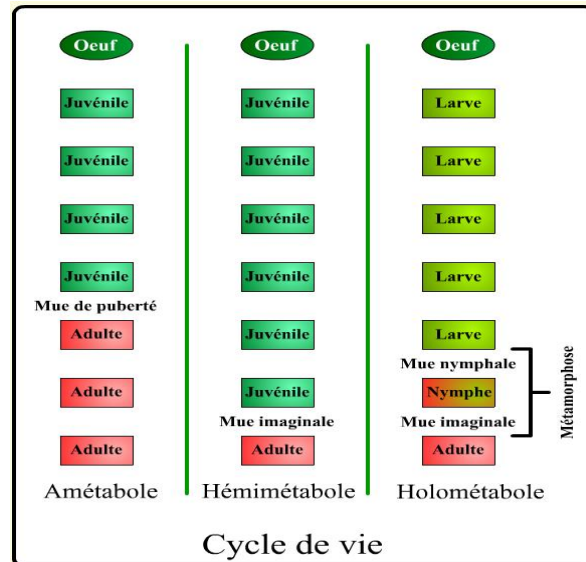
Au sein du règne animal, les insectes sont des invertébrés de l'embranchement des arthropodes qui présentent la particularité d'avoir un corps composé de segments articulés et protégés par un squelette externe (cuticule)(Albouy, 2010). D'autres animaux font également partie des arthropodes : il s'agit des arachnides (araignées, scorpions, arachnides...), des myriapodes (mille-pattes...) et des crustacés (crabes, crevettes...). A l'état adulte, les insectes possèdent un corps composé de trois parties (tête, thorax et abdomen), une paire d'antennes, trois paires de pattes et le plus souvent des ailes. Leur répartition en ordre se fait en plus en fonction de leur mode de vie. Le nom des ordres se termine le plus souvent par une terminaison « *ptera* », mot latin qui veut dire ailes. On distingue plusieurs ordres d'insectes dont les principaux sont les coléoptères, les lépidoptères, les hyménoptères, les diptères, les orthoptères, les hémiptères, les isoptères et les odonatoptères (Albouy, 2010; Delvare & Aberlenc, 1989). En fonction des ordres auxquels ils appartiennent, les insectes possèdent des cycles de développement variés.

##### I.1.1.2. Physiologie et développement

Le cycle de vie chez les insectes est très différent de celui des mammifères. Les étapes sont très complexes. Contrairement aux mammifères qui grandissent sans métamorphose, les insectes subissent des transformations internes et externes très impressionnantes. Chez les insectes il existe trois modes de développement qui correspondent à une évolution et une complexification du développement : amétabole, hémimétabole et holométabole (Figure 1). Les insectes amétaboles n'ont pas de stades larvaires, mais plutôt des stades juvéniles (immature sexuellement) séparés de l'état adulte (reproducteur) par une mue de puberté. Les insectes hémimétaboles sont des insectes ptérygotes (présence des ailes). Leur état juvénile ressemble à leur état adulte. Les insectes holométaboles ont un développement très complexe.



Leur état juvénile est très éloigné de leur état adulte aussi bien sur le plan morphologique que physiologique. Le passage de l'état larvaire à l'état adulte s'effectue de manière brusque grâce à une phase appelée "stade nymphal"(Delvare & Aberlenc, 1989, Labrie, 2006).



**Figure 1:** Différentes étapes de développement chez les insectes  
<http://www.insecte.org/spip.php?article31>

## I.1.2. Entomophagie

### I.1.2.1. Définition et historique de l'entomophagie

L'entomophagie est la consommation des insectes par les humains. Depuis des siècles, elle est pratiquée dans de nombreux pays du monde entier (Ekpo, 2011). La consommation des insectes est par exemple évoquée dans la Bible: « ...voici donc celle que vous pouvez manger : les différentes espèces de sauterelles, criquets, grillons et locustes » (livre du lévitique, chapitre 11, verset 22) ; « Jean le Baptiste se nourrissait de sauterelles et de miel sauvage » (Évangile de Marc, Chapitre 1, verset 7). Selon Mignon (2002), la Torah et le Coran en feraient également mention. Toujours selon Mignon (2002), en Europe les Romains consommaient des larves de longicornes alors que les Grecs appréciaient les cigales et diverses chenilles. L'entomophagie est donc une pratique ancestrale.

### **I.1.2.2. Répartition mondiale des insectes comestibles**

Actuellement, les insectes entrent dans le régime alimentaire d'environ 2 milliards de personnes dans le monde. Plusieurs espèces sont consommées dans le monde, cependant il est difficile de donner le nombre exact d'espèces comestibles à cause de la diversité des peuples qui en consomment. L'entomophagie est pratiquée majoritairement par des populations indigènes qui n'identifient les insectes que par des noms vernaculaires. Une même espèce peut donc être connue sous des noms différents et inversement plusieurs espèces peuvent être connues sous une dénomination commune. Toutefois, plus de 2500 espèces seraient actuellement consommées dans 113 pays dans le monde, parmi lesquelles 500 espèces en Afrique (Jongema, 2015; Kinyuru *et al.*, 2015). D'après les données disponibles, les ordres les plus consommés sont les coléoptères (scarabées) (31%), les lépidoptères (chenilles) (18 %), les hyménoptères (abeilles, guêpes et fourmis) (14 %), les orthoptères (sauterelles, criquets et grillons) (13 %), les hémiptères (cigales, chrysomèles, cicadelles, cochenilles) (10 %), les isoptères (termites) (3 %), les odonates (libellules) (3 %) et les diptères (mouches) (2 %) (Van Huis *et al.*, 2013). Les inventaires montrent que l'Amérique abrite le plus grand nombre d'insectes comestibles soit 39 %, l'Afrique vient en deuxième position avec 30 % et l'Asie en troisième position avec 20 % d'insectes comestibles (Ramos-Elorduy, 2009). Cet inventaire reste cependant incomplet dans certaines régions du monde. De plus, le problème d'harmonisation entre la classification scientifique de nombreux insectes et le nom vernaculaire demeure. Il y a risque d'utiliser un nom vernaculaire pour désigner plusieurs espèces. Il est donc important de considérer avec prudence les données.

### **I.1.3. Intérêts de l'utilisation des insectes**

La consommation des insectes est bénéfique pour la santé, l'environnement et l'économie.

#### **I.1.3.1. Taux de conversion alimentaire**

Le taux de conversion alimentaire est une donnée qui permet d'estimer la quantité d'aliment nécessaire à un animal pour produire un kilogramme de masse corporelle. Ce taux varie selon les animaux. Il est de 2,5 kg chez le poulet, 5 kg chez le porc et 10 kg chez le bœuf (Van Huis, 2013). Chez les insectes, ce taux est en général beaucoup plus bas. Un insecte doit consommer en moyenne 1,7 kg d'aliment pour produire 1 kg de masse corporelle (Van Huis,

2013). Ce taux varie selon l'espèce d'insecte et dépend également de son alimentation (Ooninx *et al.*, 2015; van Broekhoven *et al.*, 2015). Le faible taux de conversion alimentaire des insectes s'expliquerait par le fait que les insectes sont des animaux poïkilothermes (Ooninx *et al.*, 2015; Van Huis *et al.*, 2013).

### **I.1.3.2. Apports écologiques et environnementaux de l'élevage d'insectes**

L'élevage des animaux est associé à d'énormes problèmes environnementaux. Il produit d'énormes déchets organiques dont la gestion et le stockage posent des problèmes tels que la pollution du sol et de l'air, la limitation spatiale (Ooninx, 2015). En se développant sur les déchets organiques, les insectes permettent de réduire leur volume et de limiter ainsi la pollution (FAO, 2010). Des mouches ont été par exemple utilisées pour transformer le fumier en engrais et protéines consommables (Van Huis *et al.*, 2013). L'élevage des insectes utilise beaucoup moins d'eau que l'élevage du bétail conventionnel. Il est moins dépendant du sol que l'élevage conventionnel et produit moins de gaz à effet de serre (Ooninx, 2015; Van Huis *et al.*, 2013).

### **I.1.3.3. Marché des insectes**

Les insectes comestibles sont une importante source de revenus pour les populations démunies d'Asie, d'Amérique et d'Afrique. Au Mexique où environ 100 tonnes de l'insecte comestible *Sphenarium purpurascens* sont collectées par an, on estime à plus de 3000 dollars (1 500 000 FCFA) le revenu moyen annuel qu'il rapporte à chaque famille (Premalatha *et al.*, 2011). En Chine, les ventes annuelles d'aliments à base de fourmis atteignent 100 millions de dollars (Premalatha *et al.*, 2011). Aux États Unis, le marché annuel des insectes et produits à base d'insectes s'élève à plus de 57 milliards de dollars US (FAO, 2010). Les insectes sont également vendus dans divers marchés des pays Africains (Afrique du Sud, Zimbabwe, Nigéria, République Centrafricaine, Cameroun). Leur commercialisation permet aux familles d'augmenter leur revenu mensuel (Alamu *et al.*, 2013; Muafor *et al.*, 2015). En RCA, la vente des chenilles permet aux vendeurs de faire des bénéfices d'environ 117000 FCA par mois ; tandis qu'au Cameroun, la vente des larves de charançons du palmier permet de faire des bénéfices de 120 000 FCFA à 150 000 FCFA par mois (Balinga *et al.*, 2004). Des échanges commerciaux frontaliers et internationaux des insectes existent entre de nombreux pays Africain et entre pays Africains et Européens. La France et la Belgique importeraient respectivement 5 et 3 tonnes d'*Imbrasia sp* sec de la République Démocratique du Congo

(leur prix moyen s'élevant à 18,3 dollars US par kg (Vantomme, 2010). Ces insectes sont destinés principalement aux membres de la diaspora. La récolte et l'élevage des insectes fournissent des opportunités commerciales dans les économies développées, en transition et en développement.

#### **I.1.3.4. Propriétés médicales et pharmaceutique des insectes**

De nombreux insectes comestibles présentent un possible potentiel pharmaceutique lié à la présence de molécules bioactives dans leurs extraits huileux (Ekpo *et al.*, 2009). Certains sont d'ailleurs utilisés en médecine traditionnelle pour le traitement de diverses affections telles que le rhumatisme, les crampes, le lumbago, les boutons cutanés, la varicelle, etc. (Tamesse *et al.*, 2016). L'abeille et ses produits présentent de nombreux bénéfices pour la santé. Le miel est utilisé contre l'infection microbienne et le traitement des blessures ; la propolis est utilisée dans le traitement des désordres gastro-intestinaux, des allergies, des problèmes gynécologiques, oraux et dermatologiques; la gelée royale est reconnue pour ses effets en santé reproductive, dans le traitement des maladies neurodégénératives et le vieillissement (Eshraghi & Seifollahi, 2003; Pasupuleti *et al.*, 2017).

## **I.2. VALEURS ALIMENTAIRES DES INSECTES COMESTIBLES**

### **I.2.1. Teneur en protéines et composition en acides aminés des insectes**

#### **I.2.1.1. Généralités sur les protéines**

Les protéines sont des macromolécules essentielles pour la vie. Elles sont constituées de polymères d'acides aminés (Belitz *et al.*, 2009; Cozzone, 2002). Elles sont importantes en alimentaire. Lors de la digestion, les protéines alimentaires sont hydrolysées en acides aminés qui sont ensuite absorbés et utilisés pour synthétiser de nouvelles protéines. Les protéines jouent un rôle dans la croissance et le développement des organismes vivants, dans la formation et la réparation des tissus, dans le fonctionnement du système nerveux et du système immunitaire, dans le transport des nutriments et de l'oxygène dans le corps, dans la réabsorption du calcium, la prévention des maladies et dans toutes les fonctions liées aux enzymes. Enfin les protéines sont sources d'énergie et ont un rôle hormonal (Nehete *et al.*, 2013). Les protéines jouent également un rôle sensoriel dans les aliments. Elles contribuent

directement à la flaveur des aliments et sont précurseurs de composés aromatiques et de couleurs observées lors des réactions thermiques et enzymatiques qui ont lieu pendant la production, la transformation et le stockage des aliments. Les protéines peuvent également contribuer de façon significative aux propriétés physiques des aliments à travers leur aptitude à former et à stabiliser les gels, les mousses et les émulsions (Belitz *et al.*, 2009). La viande, les produits laitiers, les œufs et les légumineuses sont d'importantes sources de protéines alimentaires.

### **I.2.1.2. Protéines des insectes**

#### **I.2.1.2.1. Mesure de la teneur en protéines chez les insectes**

Deux méthodes sont très souvent utilisées pour mesurer la teneur en protéines chez les insectes. Certains auteurs utilisent la méthode de Kjeldahl (Bosch *et al.*, 2014; Niaba Koffi *et al.*, 2011). Dans cette méthode, l'azote organique est tout d'abord converti en azote minéral ( $\text{NH}_4^+$ , ion ammonium) par hydrolyse de la matière première par l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur, avant d'être repris par de la chaux sodée (mélange d'hydroxyde de sodium, d'oxyde et d'hydroxyde de calcium) pour obtenir une solution ammoniacale. On termine par un entraînement à la vapeur d'eau pour déplacer l'ammoniac formé, volatil, qui est dosé par acidimétrie. Une teneur en azote protéique est obtenue et un facteur de conversion azote  $\rightarrow$  protéines est utilisé pour déterminer la teneur en protéines. D'autres auteurs utilisent la méthode de Dumas (Yi *et al.*, 2013). Elle mesure l'azote total sous la forme d'azote gazeux, après une calcination complète de l'aliment. Elle consiste à une combustion à haute température de l'échantillon. Les différents atomes de l'échantillon (C, H, O, N) se retrouvent alors sous forme gazeuse ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NO}_x$ ,  $\text{SO}_2$ , Halogène et  $\text{O}_2$  en excès). Différents pièges ainsi que des catalyseurs d'oxydation et de réduction permettent de ne conserver que le  $\text{N}_2$  qui est par la suite dosé grâce à un détecteur calorimétrique. Ces deux méthodes utilisent, pour des produits animaux, un facteur de conversion azote  $\rightarrow$  protéines de 6,25. Cependant, ce facteur de conversion semble surestimer la teneur en protéines dans les insectes (Jonas-levi & Martinez, 2017). En effet, les insectes contiennent également de l'azote non protéique présent dans la chitine. Certains auteurs ont ainsi proposé de déterminer la teneur en protéines à partir de la somme totale des acides aminés, tandis que d'autres ont déterminé un facteur de conversion azote  $\rightarrow$  protéines de 4,76 (Janssen *et al.*, 2017).

### I.2.1.2.2. Teneurs en protéines des insectes

Les protéines sont en général les composants majeurs chez les insectes. Une compilation des compositions nutritionnelles de 236 espèces d'insectes comestibles montre que leur teneur varie entre 8,9 et 71,1 g/100 g de matière sèche, ce qui est généralement supérieur au contenu protéique de certaines viandes (Rumpold & Schlüter, 2013). Cette variation dépend de plusieurs facteurs et paramètres. Les teneurs en protéines varient en fonction de l'ordre et de l'espèce d'insecte. L'ordre des orthoptères contiendrait les insectes les plus riches en protéines (61 g/100 g MS) tandis que celui des isoptères serait celui chez qui les protéines sont moins abondantes (35 g/100 g MS) (Rumpold & Schlüter, 2013). Cette teneur dépend aussi de l'espèce d'insecte. Certains insectes ont des fortes teneurs en protéines tandis que d'autres ont des teneurs moins élevées. Chez la punaise comestible, *Encosternum delegorguei Spinola* (Hétéroptère), consommée dans la province de Limpopo en Afrique du Sud, la teneur en protéines est de 35,2 g/100 g MS (Teffo *et al.*, 2007). Les fourmis noires de la Région du Lac Victoria au Kenya possèdent une teneur en protéines comprise entre 39,8 et 44,6 g/100 g MS (Ayieko *et al.*, 2012). Chez le bousier (*Copris nevinsoni Waterhouse*), la teneur en protéines atteint 54 g/100 g MS (Raksakantong *et al.*, 2010). Chez *Cirina forda* (Westwood) (Lepidoptera: Saturniidae), insecte très consommé dans le sud du Nigeria, la teneur en protéines est de 55,5 g/100 g MS (Omotoso, 2006). Chez *Oedaleus abruptus* (Thunberg), une sauterelle, (orthoptère: Acrididae), la teneur en protéines est d'environ 60% de la matière sèche (Ganguly *et al.*, 2013). Chez la guêpe *Polybia Sp* consommée au Mexique, la teneur en protéines est de 82 g/100 g MS (Ramos-Elorduy *et al.*, 1997). La teneur en protéines dépend du stade de développement de l'insecte. Chez *Rhynchophorus phoenicis* par exemple, la teneur en protéines est de 10,5 g/100 g MS à l'état larvaire et 8,4 g/100 g MS à l'état adulte (Omotoso & Adedire, 2007). Chez l'abeille *Apis mellifera ligustica*, cette teneur augmente avec le stade de développement. Elle est de 35,3 g/100 g MS chez la larve, 45,9 g/100 g MS chez la pupa et 51 g/100 g chez l'adulte (Ghosh *et al.*, 2016). La teneur en protéines dépend également du type d'alimentation de l'insecte. Quelques travaux de la littérature montrent qu'une alimentation riche en protéine contribue très souvent à augmenter la teneur en protéines des insectes tels que les vers de farine (*Tenebrio molitor*, *Zophobas atratus*, *Alphitobius diaperinus*), le criquet domestique, le cafard argentin et la mouche soldat noire (Oonincx *et al.*, 2015; van Broekhoven *et al.*, 2015). Les insectes sont en général riches

en protéines et constituent ainsi une source alternative de protéines pour l'alimentation mondiale.

### **I.2.1.3. Composition en acides aminés des insectes**

L'un des éléments clés pour évaluer la qualité d'une protéine est sa teneur et sa composition en acides aminés. Les protéines des insectes sont très souvent estimées d'être d'une excellente qualité parce qu'elles contiennent la totalité des acides aminés indispensables (Rumpold & Schlüter, 2013). Ce sont des acides aminés qui ne sont pas synthétisés ou ne peuvent pas être synthétisés par le corps humain à un rythme suffisant pour favoriser une croissance normale. Ils doivent donc être apportés par l'alimentation. Les acides aminés indispensables sont présents chez la plupart des insectes avec des teneurs élevées comparées à celles présentes dans d'autres produits animaux tels que l'œuf, du poisson, du porc, du poulet ou simplement à celle de la protéine de référence qui est de 269 mg/g de protéines (WHO/FAO/UNU, 2007). De nombreux travaux de la littérature concluent que la composition en acides aminés des insectes est d'excellente qualité (Chakravorty *et al.*, 2014; Chakravorty *et al.*, 2016; Ghosh *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2005; Womeni *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2014). Il existe toutefois des acides aminés souvent limitant chez les insectes. Selon Rumpold & Schlüter (2013), les protéines des insectes ont des teneurs faibles en méthionine et cystéine.

### **I.2.1.4. Digestibilité des protéines des insectes et facteurs antinutritionnels**

La qualité d'une protéine, et par conséquent sa valeur nutritionnelle ne dépend pas uniquement de sa composition en acides aminés, mais aussi de la digestibilité de la fraction protéique de l'aliment (Belluco *et al.*, 2013). La mesure de la digestibilité des protéines permet de prédire la quantité d'azote ou d'acides aminés absorbés par l'organisme suite à une consommation de protéines (EFSA, 2012). Une faible digestibilité des protéines affecte ainsi leur qualité alimentaire (Srinivasan Damodaran, 1996). Les protéines des insectes sont en général hautement digestibles. Chez 78 espèces d'insectes comestibles du Mexique, la digestibilité *in vitro* varie de 76 à 98 % (Ramos-Elorduy *et al.*, 1997) ; elle est de 88 % chez le criquet domestique et 91,5 % chez le ver de farine jaune (Bosch *et al.*, 2014), de 78 % chez coléoptère *Holotrichia parallela* (Yang *et al.*, 2014). *In vivo*, la digestibilité est de 87 % chez le ver à soie (*Samia ricinii*) (Longvah *et al.*, 2011). Chez certains insectes tel que *Orytes monoceros*, la digestibilité *in vitro* est moins élevée, soit de 58 % (Ifie & Emeruwa, 2011). En général, la digestibilité des protéines des insectes est élevée chez les insectes ne possédant pas

d'exosquelette ou possédant un exosquelette très réduit. Elle est moins élevée chez les insectes possédant un exosquelette important. En effet l'exosquelette des insectes contient des molécules de chitine liée aux protéines, rendant ces protéines très peu digestibles. Il suffirait simplement donc d'éliminer la chitine pour rendre les protéines plus digestibles (Belluco *et al.*, 2013; Osasona & Olaofe, 2010). Toutefois, les humains seraient capables de digérer la chitine, car deux chitinases catalytiquement actives, l'AMCase et la chitotriosidase, toutes deux appartenant à la famille des glycosylhydrolases, ont été découvertes (Belluco *et al.*, 2013). Des facteurs antinutritionnels sont retrouvés chez les insectes ; ce sont les tannins, l'oxalate, l'acide phytique, l'inhibiteur de trypsine, et la saponine (Ekpo, 2010; Ganguly *et al.*, 2013; Ojinnaka *et al.*, 2016). Ces facteurs antinutritionnels sont très souvent fixés aux protéines et contribuent à baisser leur digestibilité. Toutefois, ils sont très souvent en deçà de la limite maximale autorisée pour la consommation.

## **I.2.2. Lipides des insectes**

### **I.2.2.1. Généralités sur les lipides**

Comme les protéines, les lipides sont également des molécules essentielles à la vie. Ils sont majoritairement constitués de triglycérides, mais aussi de phospholipides, glycolipides, sphingolipides, de cholestérol et autres composés mineurs (Akoh & Min, 2008). Les lipides jouent un rôle fondamental à différents niveaux. Les triglycérides sont la principale source d'acides gras saturés (AGS), mono-insaturés (AGMI) et polyinsaturés (AGPI) qui seront utilisés pour produire de l'énergie via la bêta oxydation, pour l'édification des membranes des cellulaires, pour le stockage énergétique et pour la synthèse des métabolites (éicosanoïdes, docosanoïdes,...). Ils jouent également un rôle clé dans le processus inflammatoire et son contrôle (résolvines), la neuroprotection, l'agrégation plaquettaire, l'hémodynamique, la réponse immunitaire, la prolifération cellulaire et l'expression des gènes. Les phospholipides apportent aussi des acides gras, notamment polyinsaturés, et des constituants spécifiques en fonction de la nature de leur tête polaire (choline, inositol, éthanolamine, sérine). Le cholestérol est utile pour l'édification des membranes cellulaires, la synthèse de la vitamine D, des hormones et des sels biliaires (Akoh & Min, 2008). Enfin divers composants lipidiques mineurs d'un point de vue quantitatif, comme les caroténoïdes, les tocophérols, etc..., exercent des fonctions biologiques variées (vitamines liposolubles, antioxydants, ...).



Chez les insectes, outre les fonctions communes à tous les organismes, telles que le stockage de l'énergie et la structuration des biomembranes, les lipides jouent également le rôle de précurseurs dans la biosynthèse de la cire et des phéromones. Ils constituent des réserves énergétiques pour la reproduction, la croissance larvaire, la métamorphose et le développement des ailes (Sushchik *et al.*, 2013).

### **I.2.2.2. Besoins et intérêts nutritionnels des lipides et des acides gras**

L'intérêt nutritionnel des lipides est largement déterminé par leur composition en acides gras. On distingue les acides gras saturés et les acides gras insaturés. Dans ce dernier groupe, certains acides gras ne peuvent pas être synthétisés par l'Homme, ils doivent donc être apportés par l'alimentation. Ce sont les acides gras indispensables tels que l'acide linoléique (LA, C18 :2n-6), l'acide  $\alpha$ -linoléique (ALA, C18 :3n-3). Ces derniers sont précurseurs des acides gras polyinsaturés essentiels à longue chaîne tels que l'acide eicosapentaénoïque (EPA, C20 :5n-3) et l'acide docosahexaénoïque (DHA, C22 :6n-3). Ces acides gras essentiels jouent des rôles importants dans l'organisme. Ils participent à la régulation de la pression sanguine, aident à synthétiser et à réparer les composants cellulaires vitaux (Rustan & Drevon, 2001; Sihamala *et al.*, 2010). La consommation des acides gras polyinsaturés spécialement les acides gras polyinsaturés de la série n-3 (oméga 3), est bénéfique pour la santé humaine à travers la réduction du risque du diabète par la réduction de l'intolérance au glucose, la prévention de la résistance à l'insuline, la réduction de la pression sanguine, l'abaissement du taux de cholestérol, et la prévention de certaines maladies telles que la thrombose, l'hypertension, les maladies inflammatoires, l'arythmie et les maladies coronariennes (Siriamornpun & Thammapat, 2008). Les acides gras polyinsaturés à longue chaîne tels que l'EPA (C20:5n-3) et le DHA (C22:6n-3) participent à prévenir les cancers, les activités inflammatoires et réduire le risque de maladies cardiovasculaire (Sihamala *et al.*, 2010).

### **I.2.2.3. Teneur en lipides des insectes**

Après les protéines, les lipides sont les seconds composants majoritairement représentés chez les insectes (Bukkens, 1997; Ramos-Elorduy *et al.*, 1997; Rumpold & Schlüter, 2013). Leur teneur varie de 4,2 g/100 g MS à 77,2 g/100 g MS (Ramos-Elorduy *et al.*, 1997). Elle dépend de l'ordre de l'insecte considéré. Elle est en moyenne de 13,4 g/100 g chez les orthoptères (sauterelles, crickets, locustes) et 33,4 g/100 g MS chez les coléoptères

(scarabées, vers de farine) (Rumpold & Schlüter, 2013) (Tableau 2). Au sein même d'un ordre, la teneur en lipides varie selon les espèces (Rumpold & Schlüter, 2013) et selon le stade de développement. Elle est généralement plus élevée à l'état larvaire qu'à l'état adulte (Ghosh *et al.*, 2016; Omotoso & Adedire, 2007). Au sein d'une même espèce et pour des stades de développement équivalents, on observe également des teneurs variables. Les fourmis noires de la région du Lac Victoria du Kenya ont par exemple des teneurs en lipides variant entre 42 et 50 g/100 g MS (Ayieko *et al.*, 2012). La teneur en lipides dépend également du substrat sur lequel se développe l'insecte (Cito *et al.*, 2017). Elle augmente avec la richesse en lipides de l'alimentation (Ooninx *et al.*, 2015). En plus du stade de développement, et de l'alimentation, la teneur en lipides des insectes pourrait être influencée par d'autres facteurs tels que l'habitat et le sexe (Sihamala *et al.*, 2010). Enfin, il est à souligner certaines techniques d'extraction des lipides utilisées dans la littérature (extraction aqueuse, soxhlet) ne permettent pas d'extraire l'intégralité des lipides présents dans les matières premières, les teneurs en lipides obtenues par ces techniques étant probablement sous estimées. Différentes méthodes d'extraction telles que l'extraction aqueuse, la méthode de Folch et le Soxhlet permettent en effet d'obtenir différentes teneurs en lipides chez des insectes tels que *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, *Acheta domesticus* et *Blaptica dubia* (Tzompa-Sosa *et al.*, 2014). Ensuite, le mode d'extraction va affecter la composition en classe, les lipides polaires étant difficilement extraits avec un soxhlet.

#### **I.2.2.3.1. Répartition en classe de lipides des insectes**

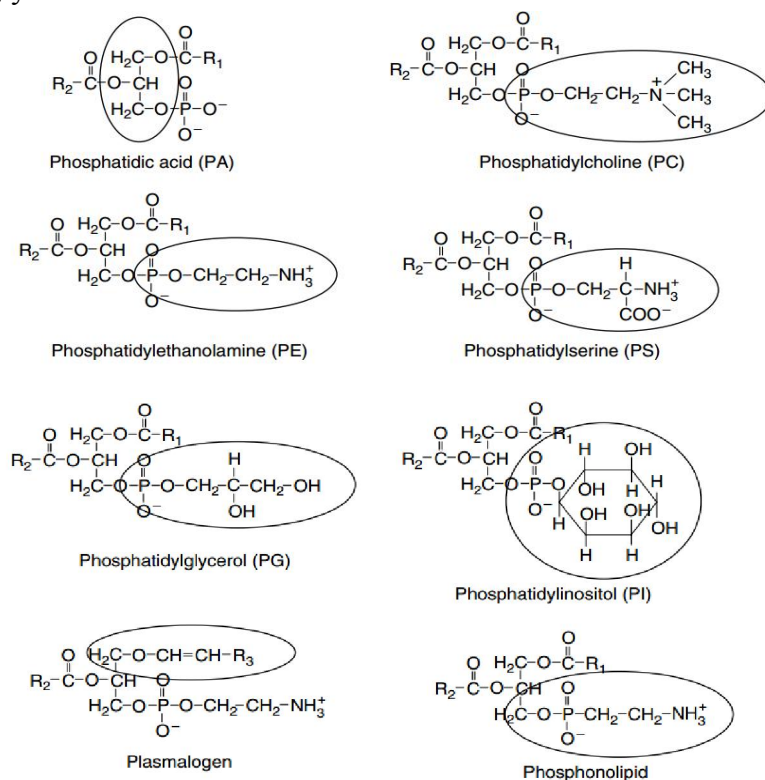
On retrouve chez les insectes les différentes classes de lipides (Tableau 1) : lipides neutres (LN), phospholipides (PL) (Figure 2) et glycolipides (GL). Les lipides neutres sont majoritaires chez les insectes mais la proportion de chaque classe dépend de l'espèce et du stade de développement. Chez la sauterelle *Ruspolia differens* (vert), les LN représentent  $89,4 \pm 1,0$  g/100 g de lipides totaux (LT) ; les PL  $7,4 \pm 0,7$  g/100 g LT et les GL  $3,2 \pm 0,3$  g/100 g LT. Chez *Ruspolia differens* (marron), les LN représentent  $84,3 \pm 0,2$  g/100 g LT; les PL  $9,3 \pm 0,9$  g/100 g LT et les GL  $6,4 \pm 0,4$  g/100 g de LT (Kinyuru *et al.*, 2007). Les teneurs en LN, PL et GL sont respectivement de 69,87 ; 19,1 et 10,81 g/100 g LT chez *Macrotermes bellicosus* ; de 85,10; 9,87 et 4,16 g/100 g LT chez les larves d'*Imbrasia sp* ; de 83,6 ; 9,48 et 6,81 g/100 g LT chez les larves d'*Oryctes rhinoceros* et de 88,4; 8,20; 2,60 g/100 g LT chez les larves de *Rhynchophorus phoenicis* (Ekpo *et al.*, 2009).

**Tableau I:** Répartition des classes de lipides chez quelques insectes (g/100g de lipides totaux)

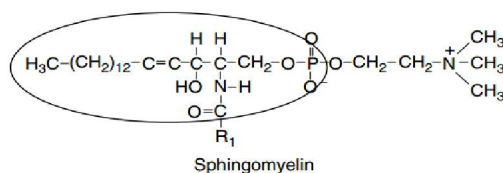
	LN	PL	Glycolipides	IS	Auteurs
<i>Ruspolia differens</i> (vert)	89,4	7,4	3,2	/	(Kinyuru <i>et al.</i> , 2007)
<i>Ruspolia differens</i> (marron)	84,3	9,3	6,4	/	
<i>Rhynchophorus palmarum</i>	98,00	<2,00		0,95	Gbogouri <i>et al.</i> , 2013)
<i>Macrotermes bellicosus</i>	69,87	19,14	10,81	12,4	
<i>Imbrasia sp</i> (larves)	85,10	9,87	4,16	8,11	Ekpo, Onigbinde, &
<i>Oryctes rhinoceros</i> (larves)	83,60	9,48	6,81	8,91	Asia, 2009
<i>Rhynchophorus phoenicis</i> (larves)	88,40	8,20	2,60	8,6	

LN : Lipides Neutres ; PL : Phospholipides ; IS : Insaponifiables ; NB : PL+Glycolipide  $\approx$  Lipides Polaires ; / : non déterminé

A. Squelette glycérol



B. Squelette sphingosyl



**Figure 2:** Structure chimique des principaux phospholipides (Akoh & Min, 2008)

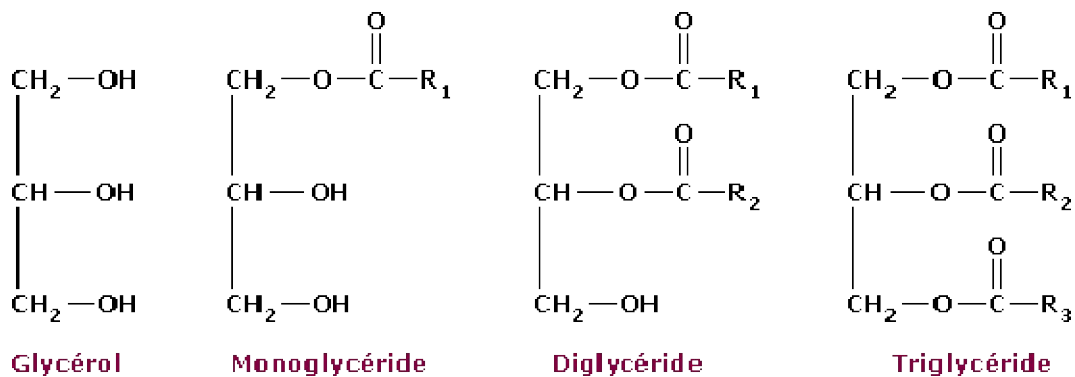
Les structures latérales encadrées montrent les particularités de chaque type de phospholipides

Les lipides neutres sont composés à majorité de triglycérides et en faible quantités de diglycérides (DG), monoglycérides (MG), d'acides gras libres (AGL). Les glycérides sont des esters d'acides gras et de glycérol (Figure 3). Le tableau II présente les compositions en classes des LN chez certains insectes. Les stérols sont les composés minoritaires des lipides d'insectes avec des teneurs inférieures à 0,8 g/100 g de lipides.

**Tableau II:** Teneurs en classes de lipides neutres chez certains insectes (g/100g lipides neutres)

Insectes	AGL	TG	DG	EC	Stérols	Auteur
<i>Polyrhachis vicina Roger (1)</i>	1,8	79,4	6,1	4,9	0,5	
<i>Polyrhachis vicina Roger (2)</i>	2,9	73,4	10,3	6,6	0,8	(Sihamala <i>et al.</i> ,
<i>Oecophylla smaragdina Fabricius</i>	2,8	43,4	18,1	13,5	0,7	2010)

AG : Acides Gras libres TG : Triglycérides ; DG : Diglycérides ; EC : Esters de Cholestérols.



**Figure 3:** Structure chimique du glycérol et des différents glycérides (Akoh & Min, 2008)

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> et R<sub>3</sub> représentent les numéros des différents radicaux d'acides gras qui sont liés aux atomes de carbones présents le glycérol

#### I.2.2.4. Composition et teneurs en acides gras des lipides d'insectes

La composition en acides gras des insectes est très variable. Elle varie d'un ordre à l'autre, d'une espèce à l'autre (Rumpold and Schlüter, 2013).

Au sein de la même espèce, cette teneur peut également varier en fonction des stades de développement et des conditions de croissance. Chez huit espèces d'insectes consommés en Thaïlande les AGPI sont prédominants, suivi des AGS et des AGMI. La concentration en AGPI variait de 213 à 1514 mg/100 g d'insectes secs respectivement chez la cigale (*Meimuna opalifera* Walker) et chez le bousier (*Copris nevinsoni* Waterhouse). La concentration en AGS variait quant-à-elle de 234 à 733 mg/100 g d'insectes secs respectivement chez la termite et chez le boursier (Raksakantong *et al.*, 2010). L'acide linoléique (C18 :2n-6) n'a pas

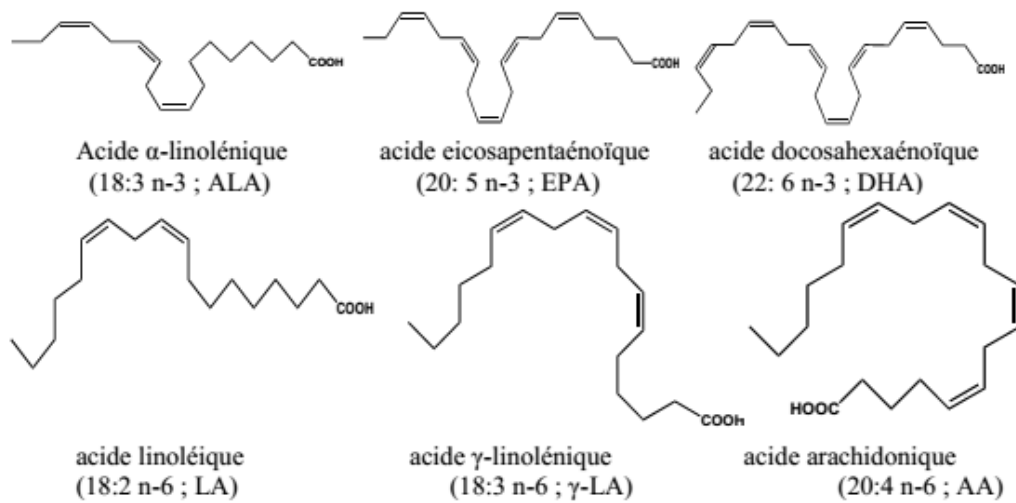
été détecté chez ces insectes, cependant ils ont noté une teneur importante ( $12,9 \pm 0,1$  g/100 g AG) en EPA (C20 :5n-3) chez *Copris nevinsoni* (Waterhouse) et une teneur en DHA de  $3,4 \pm 0,1$  chez *Holotrichia sp* (Raksakantong *et al.*, 2010). Dans leur étude sur les lipides de certains insectes comestibles, Sihamala *et al.* (2010) ont conclu que les fourmis noires de Chine et rouges de Thaïlande étaient de bonnes sources d'acides gras insaturés. Ils ont identifié chez ces fourmis des acides gras mono insaturés en l'occurrence l'acide oléique (C18 :1 n-9), des acides gras polyinsaturés tels que l'acide linoléique (C18 :2n-6) et l'acide alpha linoléique (C18 :3n-3) ; des acides gras polyinsaturés à longues chaînes (AGPI-LC) n-3 tels que l'EPA(C20:5n-3) et le DHA (C22:6n-3) (Sihamala *et al.*, 2010).

Le tableau III repris des travaux de Rumpold & Schlüter (2013) donne les teneurs en classes d'acides gras chez les insectes. En général, la teneur en acides gras saturés des lipides totaux chez les insectes comestibles varie de 31 % chez les hyménoptères à 42 % chez les isoptères. Comme chez beaucoup d'organismes animaux et végétaux, les acides gras saturés les plus abondants sont l'acide palmitique (C16:0) et l'acide stéarique (C18:0). Pour ce qui est des acides gras mono insaturés, les plus rencontrés chez les insectes sont l'acide palmitoléique (C16:1n-7) et l'acide oléique (C18:1n-9). Chez certains insectes tels que *Gryllotalpa africana* Beauvois, *Macrotermes nigeriensis*, *Polyrhachis vicina* Roger, *Carebara vidua*, *Aspongubus viduatus*, *Onthophagus mouhot*, l'acide gras majoritaire est l'acide oléique (Rumpold & Schlüter, 2013). La teneur moyenne en AGI varie de 22 g/100 g AG chez les Isoptères à 48,60 g/100 g AG chez les Hyménoptères. La teneur en AGPI varie entre 16 g/100 g AG chez les diptères et environ 40 g/100 g AG chez les lépidoptères. L'acide  $\alpha$ -linoléique est l'acide gras majoritaire chez certains insectes tels que la puppe d'*Antheraea pernyi*, la puppe de *Bombyx mori*, les larves de *Cirina forda*, les larves d'*Imbrasia epimethea* et d'*I. truncata*, les larves de *Samia ricinii*, *Nudaurelia oyemensis* et *Chondracis roseapbrunner* Uvarovd (Rumpold & Schlüter, 2013). De nombreux autres AGPI sont rencontrés, mais parfois en très faible quantité ou à l'état de trace : c'est le cas de l'EPA (C20:5n-3), le DHA (C22:6n-3), l'acide  $\gamma$ -linoléique (C18 :3n-6,  $\gamma$ -LA) et l'acide arachidonique (C20:4n-6, AA) (Figure 4).

**Tableau III:** Composition moyenne en classes d'acides gras dans les lipides totaux de différents ordres d'insectes (g/100g AG totaux)(Rumpold & Schlüter, (2013)).

	Coléoptères	Diptères	Hémiptères	Hyménoptères	Isoptères	Lépidoptères	Orthoptères
AGS	38,5	33,0	43,9	29,9	42,0	37,0	32,1
AGMI	35,7	47,2	32,4	48,8	22,0	23,4	29,4
AGPI	27,1	16,0	22,9	21,2	36,0	39,8	37,1

AGS : acide gras saturé ; AGMI : acide gras monoinsaturé, AGPI : acide gras polyinsaturé



**Figure 4 :** Principaux acides gras polyinsaturés n-3 et n-6 rencontrés chez les insectes (Akoh & Min, 2008)

De nombreux autres acides gras sont retrouvés chez les insectes, mais en de faibles proportions. C'est le cas des acides butanoïque (C4 :0), acide hexanoïque (C6:0), acide octanoïque ou caprylique (C8:0), acide décanoïque ou caprique (C10:0), acide undécanoïque (C11 :0), acide dodécanoïque ou laurique (C12:0), acide tridécanoïque (C13 :0), acide nonadécanoïque (C19 :0), acide eicosanoïque ou arachidique (C20 :0), acide docosanoïque (C22 :0), acide tricosanoïque (C23 :0), acide pentadécanoïque (C15 :0), acide éicosatétraénoïque ou arachidonique (C20:4 n-6) qui sont par exemple retrouvés chez *Cirina forda* dans des proportions inférieures ou égales à 0,1% (Akinnawo & Ketiku, 2000).

Comme les protéines, les lipides abondent dans les insectes, leurs teneurs varient selon les espèces, du stade de développement et de l'alimentation.

### **I.2.3. Teneurs et composition en d'autres nutriments**

Les insectes contiennent également d'autres nutriments et micronutriments de type glucides, minéraux et vitamines. Cependant ces composés constituent les éléments mineurs dans la composition des insectes. Les travaux de Rumpold & Schlüter, (2013) en font une description détaillée.

## **I.3. ÉTAT DES CONNAISSANCES SUR TROIS INSECTES COMESTIBLES DU CAMEROUN : LES LARVES DE *RHYNCHOPHORUS PHOENICIS*, ET LES CHENILLES D'*IMBRASIA TRUNCATA* ET D'*IMBRASIA EPIMETHEA*.**

### **I.3.1. Connaissances sur *Rhynchophorus phoenicis***

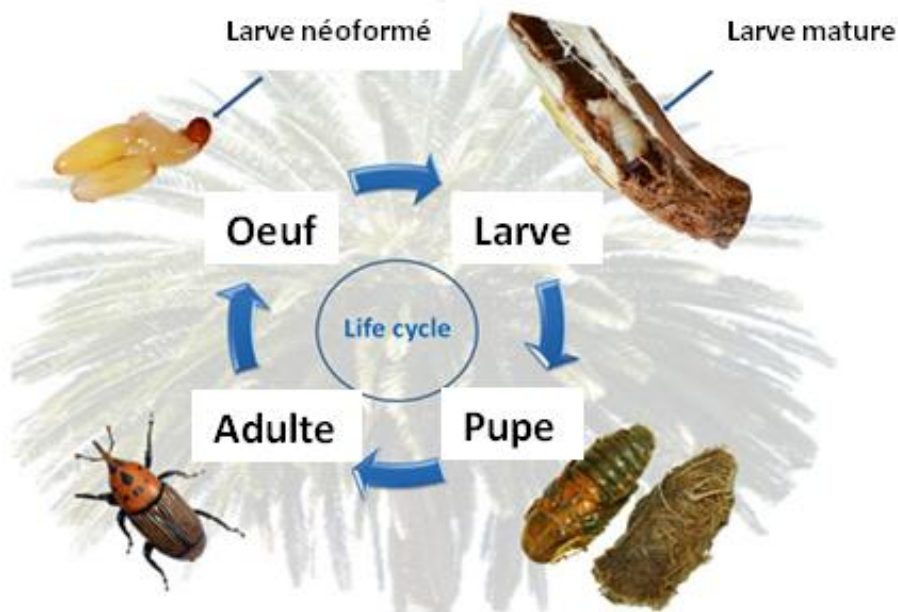
#### **I.3.1.1. Identification et habitat**

Les charançons (curculionidés) sont des insectes rencontrés un peu partout dans le monde. Ceux du genre *Rhynchophorus* comprennent dix espèces dont sept sont des ravageurs des palmiers : *R. ferrugineus*, *R. vulnérants* et *R. billineatus* sont rencontrés en Asie ; *R. palmarum* en Amérique latine ; *R. cruentatus* dans le sud des états unis ; en fin *R. quadrangulus* et surtout *R. phoenicis* en Afrique (Dounias, 2003). *R. phoenicis* (Fabricius, 1801) (Curculionoidea, Dryophthoridae) est encore connu sous le nom de charançon des palmiers africains. Il est retrouvé dans la zone tropicale africaine. Ses plantes hôtes sont majoritairement le palmier à huile (*Elaeis guineensis Jacq*), le palmier dattier (*Phoenix dactylifera L*), le palmier raphia (*Raphia sp*) et le cocotier (*Cocos nucifera L*) (de Laage de Meux, 2017; Tanyi Tambe *et al.*, 2013; Wattanapongsiri, 1966). Ses larves se développent sur des plantes mortes ou en croissance. Elles sont comestibles, mais également destructrices de cultures. Au Cameroun, selon la région du pays où elles sont récoltées, ces larves portent différents noms. Au Centre, elles portent le nom de « phoos » ; dans les régions anglophones du pays, elles portent le nom de « tumbu » ; dans la région de l'Ouest du pays elles sont dénommées « mbé » (Muafor *et al.*, 2014).

#### **I.3.1.2. Biologie du développement de *Rhynchophorus phoenicis***

La larve de *Rhynchophorus phoenicis* est généralement connue sous l'appellation de « foreuse du stipe ». Le cycle de vie de *R. phoenicis* est similaire au cycle de vie des autres

espèces de ce genre *Rhynchophorus* (Figure 5). Il se décompose en quatre étapes : l'œuf, la larve, la nymphe et l'imago ou charançon adulte. La femelle pond ses œufs (environ 30 à 300 œufs) dans une blessure fraîche du stipe, qui peut être issue de l'action d'un autre insecte ou générée par l'homme. *R. phoenicis* parasite donc toujours les palmiers malades ou morts. Cette ponte débute deux à cinq jours après l'envol des imagos et s'échelonne sur un à deux mois. Les œufs éclosent après trois jours, suivi d'un développement larvaire qui s'étale sur plus de deux mois (Dounias, 2003). Les larves de *R. phoenicis* peuvent mesurer jusqu'à 8 cm de long, elles sont de forme ovoïde et pourvues d'une tête marron. Elles sont apodes et se déplacent par vagues de contraction et de relâchement du corps segmenté (reptation et contorsion). Le corps est blanc jaunâtre, a une consistance molle avec les premiers segments recourbés. Dans les tissus végétaux dont elles se nourrissent, les larves produisent un cocon fibreuse, à l'intérieur duquel elles effectuent leur nymphose (Agromisa, 2015; Dounias, 2003; Wattanapongsiri, 1966). La nymphose dure deux semaines environs, mais la maturation de l'imago peut considérablement se prolonger (Dounias, 2003). Tous les stades de développement se rencontrent simultanément à tout moment de l'année, ce qui signifie que les larves de *R. phoenicis* peuvent être récoltées toute l'année. Toutefois, le cycle depuis la ponte jusqu'à l'envol de l'imago varie de trois à six mois selon la saison. Il est plus long en saison des pluies (la ponte est moindre en raison des inondations) et moins long en saison sèche.



**Figure 5:** Cycle de développement des larves de *Rhynchophorus* (Dembilio & Jaques, 2015)



### **I.3.1.3. Collecte et conservation des larves de *Rhynchophorus phoenicis***

La collecte des larves de *Rhynchophorus phoenicis* s'effectue dans les différentes espèces de palmiers dont ces larves sont parasites. Quelques articles décrivent les techniques de collecte des larves de *R. phoenicis* sur leurs plantes hôtes (Agromisa, 2015; Dounias, 2003; Meutchieye, Tsafo, & Niassy, 2016). Les palmiers affaiblis ou tombés au sol servent de site de reproduction à cet insecte et hébergent souvent des centaines de larves (Agromisa, 2015; Dounias, 2003). La récolte est très souvent pratiquée par les hommes et s'effectue en forêt où dans les zones marécageuses. Au Cameroun, on rencontre deux morphotypes de larves de *R. phoenicis* : les morphotypes de couleur jaune ou blanche se développent sur deux espèces différentes de palmiers raphia. Les larves de couleur blanches récoltées dans la nature, se développent sur le palmier *Raphia hookeri*, tandis que celles de couleur jaune se développent sur le palmier *Raphia monbuttorum* (Muafor *et al.*, 2016). L'identification des palmiers infestés est essentielle pour la récolte des larves qui s'effectue différemment selon qu'on est en présence d'un palmier raphia jeune ou adulte. Chez les palmiers raphia jeunes qui se distinguent difficilement des palmiers raphia sains, les collecteurs recherchent la présence d'une galerie creusée par les larves. Lorsque la galerie atteint la couronne du palmier, les feuilles jaunissent. Pendant la saison des pluies, la galerie est remplie d'eau, ce qui provoque le pourrissement du palmier. Les collecteurs notent l'odeur aigre caractéristique émise par les larves. En plaquant leur oreille contre l'arbre, les collecteurs peuvent également écouter le son que produisent les larves en grignotant l'intérieur de l'arbre. Chez les palmiers adultes, les collecteurs recherchent des palmiers maladifs qui sont généralement de couleur grise et n'ont presque plus de feuilles. Ils vérifient ensuite la couronne pour s'assurer de l'infestation de l'arbre, l'abattent et l'éventrent afin de récolter les larves (Agromisa, 2015; Dounias, 2003). Cette récolte se fait avec de nombreux risques tels que les blessures, les piqûres de moustiques et les morsures des serpents, sans oublier que ces derniers abandonnent leurs familles pour de longues périodes (Muafor *et al.*, 2014). Après leur collecte en forêt, les larves peuvent encore vivre une dizaine de jours. Il suffit pour cela de leur donner régulièrement comme aliment le stipe du palmier avec de l'eau.

### **I.3.1.4. Élevage des larves de *Rhynchophorus phoenicis***

De nombreuses études ont été et continuent d'être menées afin de mettre en œuvre et standardiser des techniques de domestication et d'élevage les larves de *Rhynchophorus phoenicis*. De récentes unités expérimentales ont été réalisées au Cameroun par le Living

Forest Trust (LIFT), l' Institut Français de Recherche et Développement (IRD) et le *Center for International Forestry Research* (CIFOR) (Muafor *et al.*, 2015). Des techniques utilisant différents substrats autres que les stipes de raphia ont été utilisées avec efficacité pour le développement des larves de *R. phoenicis* (Atuahene *et al.*, 2017; Ebenebe *et al.*, 2017). Les larves adultes de *R. phoenicis* ont été obtenues après 4 semaines d'élevage sur stipes de palmiers à huile (Atuahene *et al.*, 2017). Les fruits abimés (pastèque, papaye) et les déchets de fruits (ananas, canne à sucre) ont également permis d'élever les larves de *R. phoenicis* (Ebenebe *et al.*, 2017).

#### **I.3.1.5. Consommation des larves de *Rhynchophorus phoenicis***

Les larves charançons du palmier (*Rhynchophorus phoenicis*) sont consommées dans les pays d'Afrique de l'ouest et d'Afrique centrale où elles sont considérées soit comme friandises, soit comme aliments alternatifs en remplacement de la viande par les populations rurales. Les larves de *R. phoenicis* sont consommées sous diverses formes: préparées dans les sauces, frites, grillées, dans des mets de pistaches (graines de cucurbitacées) et tout simplement à l'état crue (Balinga *et al.*, 2004; Ogbalu & Williams, 2015; Tamesse *et al.*, 2016). Ces larves sont consommées dans 7 des 10 régions du Cameroun notamment les régions de l'Est ; du Sud, du Centre, du Littoral, du Sud-ouest, de l'Ouest ; et du Nord-Ouest (Balinga *et al.*, 2004; Muafor *et al.*, 2014).

#### **I.3.1.6. Variation de la composition nutritionnelle des larves de *Rhynchophorus phoenicis***

Les larves de *Rhynchophorus phoenicis* sont des sources de lipides et de protéines (Edijala *et al.*, 2009; Ekpo *et al.*, 2009). D'autres éléments nutritifs (glucides, vitamines, minéraux) sont également présents en faibles proportions. Plusieurs travaux de la littérature présentent la composition nutritive des larves de *R. phoenicis* (Tableau 4). L'analyse de ces travaux montre des variations importantes dans les données relatives à la composition nutritionnelle de cette larve. La teneur en eau varie entre 8,4 et 64,7 g/100 g de matière humide (MH), la teneur en protéines varie de 8,0 à 64,2 g/100g MH et la teneur en lipides varie entre 8,19 et 56,88 g/100g MH (Tableau IV).

**Tableau IV:** Diversité de la composition proximale des larves de *Rhynchophorus phoenicis* publiée dans la littérature (g/ 100 g matière sèche (MS) ou matière humide (MH)).

Sources	Stade larvaire	Pays	Etat	Teneur en eau	Protéines	Lipides totaux	Cendres	Glucides (par différence)	Auteurs
Marché	Non spécifié	Nigeria	MH	64,70 ± 3,0	9,9* 28,1 ± 0,85	21,94* 62,15 ± 0,45	2,19* 6,20 ± 0,45	1,27* 3,56 ± 2,30	(Edijala <i>et al.</i> , 2009)
Marché	Non spécifié	Cameroun	MH MS	61,9 ± 0,2	8,2 ± 0,4 21,1 ± 0,2	25,3 ± 0,2 66,6 ± 0,4	2,1 ± 0,1 5,5 ± 0,2	3,0 ± 0,0 7,6 ± 0,1	(Womani <i>et al.</i> , 2012)
Non spécifié	Non spécifié	Nigeria	MH MS	61,9 ± 0,2	8,42 22,1 ± 0,3	25,38 66,6 ± 0,4	2,21 5,8 ± 0,1	2,1 5,5 ± 0,2	(Ekpo & Onigbinde, 2005)
Non spécifié	Non spécifié	Nigeria	MH MS	61,6 ± 0,2	8,45 22,1 ± 0,3	25,46 66,3 ± 0,4	2,23 5,8 ± 0,1	2,11 5,5 ± 0,2	(Ekpo <i>et al.</i> , 2009)
Marché	Non spécifié	Nigeria	MH MS	60,43	9,96 25,16	25,72 65	1,91 4,82	1,98 5,02	(Idolo, 2010)
Non spécifié	Non spécifié	Nigeria	MH MS	43,4	13,47* 23,8*	37,19 65,7*	1,02* 1,8*	n.e	(Elemo <i>et al.</i> , 2011)
Marché	Dernier stade larvaire-30jrs	Congo	MH MS	28,2	15,22* 21,2	47,17* 65,7	3,73* 5,2	4,16* 5,8	(Lenga <i>et al.</i> , 2012)
Plante hôte	Non spécifié	Cameroun	MH MS	26,72	16,72 22,81*	41,36 56,44*	1,29 1,76*	8,54 11,65*	(Achu Mercy <i>et al.</i> , 2017)
Marché	Premier stade larvaire	Nigeria	MH MS	11,9 ± 0,2	8,02* 9,1 ± 0,0	54,18* 61,5 ± 0,4	2,09* 2,37 ± 0,15	4,32* 4,9 ± 0,0	(Omotoso & Adedire, 2007)
Sauvage	Non spécifié	Nigeria	MH MS	11,3 ± 0,8	31,58 35,6 ± 0,7*	17,30 19,5 ± 1,4*	4,17 4,7 ± 0,5*	35,57 40,1 ± 1,0*	(Onyeike <i>et al.</i> , 2005)
Local government area	Non spécifié	Nigeria	MH MH	9,60 9,35	64,15 63,14	9,20 8,19	38,11 37,34	1,70 1,65	(Banjo, Aina, & Salau, 2013)
Marché	Dernier stade larvaire	Nigeria	MH MS	8,4 ± 0,1 //	9,62* 10,5 ± 0,0	56,88* 62,1 ± 1,8	2,13* 2,33 ± 0,23	7,14* 7,8 ± 0,0	(Omotoso & Adedire, 2007)
Gamme			MH	8,4 – 64,70	8,42 – 64,15	8,19 – 56,88	1,02 – 38,11	1,27 – 35,57	

n.e : non évaluée ; MH : matière humide ; MS : matière sèche ; \* : Les données ont été calculées à partir de la publication originale des auteurs.

La composition en acide aminés des protéines de *Rhynchophorus phoenicis* est également très variable. Des écarts importants pour certains acides aminés sont observés chez différents auteurs (Tableau 5) : histidine (11 - 38,8 mg/g protéine), tyrosine (20 - 60 mg/g protéine), arginine (24 - 79,2 mg/g protéine), acide glutamique (acide aminé majoritaire) (88 - 155,1 mg/g protéine) et proline (21,1 et 102 mg/g protéine). La tyrosine est évaluée par peu d'auteurs. La teneur en acides aminés indispensables totaux est supérieure à celle de la protéine de référence proposée par la FAO (269 mg/g protéine) (Tableau V).

**Tableau V** : Variation de la composition en acides aminés des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Acides aminés	Teneur en acides aminés (mg/g protéine)			
Lysine	39,9	42	44,9	54,84
Histidine	34,4	11	38,8	24
Arginine	50,6	24	79,2	34,4
Aspartate	70,2	66	81,7	104,4
Thréonine	31,0	29	30,5	23,9
Serine	32,7	33	39,0	41,2
Glutamate	129,1	88	154,5	155,1
Proline	21,1	102	50	64
Glycine	29,5	48	47,2	39,7
Alanine	30,5	76	52,5	54,96
Cystéine	22	25	20,2	/
Valine	28	41	35,1	27,6
Méthionine	20,5	21	19,7	23
Isoleucine	34,5	24	39,1	67,3
Leucine	62,2	47	54,2	96,02
Tyrosine	20,2	60	28,9	25,2
Phénylalanine	41,3	65	47,5	31,6
Tryptophane	25,1	/	/	/
<b>AAI totaux</b>	359,1	365	358,9	373,5
<b>AANI totaux</b>	300,5	437	504,1	493,8
Auteurs	(Ekpo et Onigbinde, 2005)	Elemo <i>et al.</i> , 2011	(Okaraonye et Ikewuchi, 2008)	(Womeni <i>et al.</i> , 2012)

/ : non évaluée ; AAI : acides aminés indispensables ; AANI : acides aminés non indispensables

La composition en acide gras des lipides larves de *Rhynchophorus phoenicis* varie également dans la littérature (Tableau VI). Différents acides gras ont été identifiés. Il varie de 2 à 10 acides gras. A notre connaissance, l'acide laurique (C12 :0), l'acide arachidonique (C20 :4) et l'acide C20 :1 ont été identifiés chez un seul auteur. Pour certains acide gras, des écarts importants ont été observés sur les teneurs : acide palmitique (C16 :0) (0,2 - 38,2 g/100 AG), acide stéarique (0,2 - 69,7 g/100 g AG), acide oléique (0,7 - 47,0 g/100 g AG), acide linoléique (3,5 - 45,5 g/100 g AG). Globalement, la teneur en AGS varie entre 3 et 95,8 g/100

g AG, la teneur en AGMI entre 0,7 et 55,1 g/100 g AG et la teneur en AGPI entre 0 et 50,91 g/100 g AG.

**Tableau VI:** Variation de la composition en acides aminés des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Acides gras	Teneur en acides gras (g/100 g acides gras)						
C12:0	/	0,1	/	/	/	/	/
C14:0	0,33	2,5	/	1,23	/	2,93	3,20
C14 :1n-5	0,14	/	/	/	/	/	/
C16:0	26,4	0,2	35,3	36,1	/	38,2	32,4
C16:1n-7	5,13	37,6	/	/	30,3	8,40	3,3
C18:0	3,63	0,2	60,5	3,9	69,7	0,9	3,10
C18:1n-12	18,45	/	/	/	/	/	/
C18:1n-9	15,41	5,2	0,7	47,0	/	46,7	40,1
C18:1n-7	0,18	/	/	/	/	/	/
C18:2n-6	15,3	45,5	3,5	6,9	/	4,6	13,0
C18:3n-3	2,73	4,2	/	3,9	/	1,3	3,5
C18:3n-6	2,74	1,21	/	/	/	/	/
C20 :0	0,42	/	/	/	/	/	/
C20:1	0,53	0,8	/	/	/	/	/
C20:2n-6	0,060	/	/	/	/	/	/
C20: 3n-3	0,26	/	/	/	/	/	/
C20: 3n-6	0,50	/	/	/	/	/	/
C20:4n-6	4,94	/	/	/	/	/	1,20
C20:5n-3	0,048	/	/	/	/	/	/
C22 :0	0,39	/	/	/	/	/	/
C22 :1n-9	0,13	/	/	/	/	/	/
C22 :2n-6	0,048	/	/	/	/	/	/
C20 :6n-3	0,32	/	/	/	/	/	/
C24 :0	0,048	/	/	/	/	/	/
C24 :1-9	0,048	/	/	/	/	/	/
<b>AGS</b>	28,5	3	95,8	41,23	69,7	42,03	38,7
<b>AGI</b>	37,4	43,6	0,7	47	30,3	55,1	43,4
<b>AGPI</b>	34,1	50,91	3,5	10,8	0	5,9	17,7
Auteurs	(Adeyeye., 2007)	(Womeni <i>et al.</i> , 2009)	(Elemo <i>et al.</i> , 2011)	(Lenga <i>et al.</i> , 2012)	(Ogbuagu <i>et al.</i> , 2011)	(Okaraonye et Ikewuchi, 2008)	(Ekpo et Onigbinde, 2005)

/ : non détecté ; AGS : acides gras saturé ; AGI : acides gras insaturé ; AGMI : acide gras mono insaturé

Il est difficile de dire si ces variations sont dues aux conditions de croissance, de récolte et conservation des insectes ou aux méthodes analytiques. Ces paramètres peuvent influencer les données de composition nutritionnelle des insectes. Concernant la teneur en eau, un ensemble d'articles rapporte des données de teneur en eau des larves de *R. phoenicis* compatibles avec la teneur en eau des organismes vivants frais [60,43 g/100 g MH (Idolo, 2010); 64,7 ± 3,0 g/100 g MH (Edijala *et al.*, 2009); 61,9 ± 0,2 g/100 g MH (Womeni *et al.*,

2012)], tandis que d'autres rapportent des teneurs en eau très faibles variant de  $8,4 \pm 0,1$  g/100 g MH à 43,4 g/100 g MH (Banjo *et al.*, 2013; Elemo *et al.*, 2011; Lenga *et al.*, 2012; Okaraonye & Ikewuchi, 2008; Omotoso & Adedire, 2007). Ces faibles valeurs en teneur en eau pourraient s'expliquer par l'analyse d'insectes partiellement ou totalement déshydratés, mais cette information n'est pas souvent précisée par les auteurs. Dans les articles publiés, certains auteurs présentent la composition nutritionnelle des larves de *R. phoenicis* sur la base du poids sec et du poids frais (Ekpo & Onigbinde, 2005; Womeni *et al.*, 2012), tandis que d'autres ne présentent que la base du poids sec (Banjo *et al.*, 2006; Ogbuagu *et al.*, 2011; Rumpold & Schlüter, 2013). Dans ce dernier cas de figure, il est difficile d'estimer la teneur en éléments nutritifs sur la base du poids frais du fait de l'absence de la teneur en eau des insectes (Ogbuagu *et al.*, 2011; Rumpold & Schlüter, 2013). Or il est intéressant et très pratique d'estimer la valeur nutritionnelle réelle des aliments sur la base fraîche telle que observée dans les tables de composition des aliments. Dans certains cas, les auteurs n'indiquent pas clairement le mode d'expression de leurs résultats (Omotoso & Adedire, 2007). Les modes d'expressions des résultats sur la valeur nutritionnelle ne suivent souvent pas les recommandations données pour être admis dans les bases de données alimentaires (Payne *et al.*, 2015). Plus généralement, les informations concernant l'origine et les conditions de croissance des insectes, leur stade larvaire, leur échantillonnage sont absents (Tableau IV). Dans les différents papiers, les larves de *R. phoenicis* peuvent avoir été directement prélevées dans la nature, achetées dans un marché ou ont une origine non spécifiée (Tableau IV). Les informations sur les plantes hôtes font également défaut dans les publications. Toutes ces données et informations manquantes pourraient expliquer les différences observées sur la composition nutritionnelle des larves de *R. phoenicis*.

### **I.3.1.7. Intérêt économique des larves de *Rhynchophorus phoenicis***

Les larves de *Rhynchophorus phoenicis* peuvent produire simultanément des effets bénéfiques et néfastes pour l'économie. Ce sont des insectes ravageurs des palmiers à huile et palmiers raphia. Les larves de *R. phoenicis* sont voraces. En détruisant ces plantes, elles diminuent les productions en noix de palme, en huile de palme, en vin de palme et de raphia (Agromisa, 2015). Cela fragilise ce secteur de l'économie. Fort heureusement, ces larves sont comestibles. Elles sont vendues dans de nombreux marchés africains et constituent une source de revenus pour certaines populations rurales qui font de leur commercialisation une activité à temps plein ou à temps partiel (Balinga *et al.*, 2004; Muafor *et al.*, 2015). Ces insectes sont

généralement vendus frais ou sous forme de brochettes. Les prix sont variables. Ils dépendent du lieu de commercialisation et la saison. En effet, les larves sont plus abondantes en saison sèche qu'en saison pluvieuse. Un verre de 200 mL (contenant environ 45 individus) qui est vendu en moyenne à 500 FCFA en zone rurale peut couler entre 1500 FCFA et 2500 FCFA en zone urbaine (Yaoundé) (Muafor *et al.*, 2015). Une brochette de 3 à 4 larves coute 100 FCFA. Les larves sont également exportées dans des pays voisins tels que la Guinée Équatoriale, le Gabon et le Nigéria et même dans des pays occidentaux tels que la France et la Belgique (Muafor *et al.*, 2015). La commercialisation des larves de *R. phoenicis* rapporte d'importants revenus pour le vendeur. Dounias en 2003, estimait à 50 000 FCFA, le revenu mensuel moyen d'un vendeur. Il faisait d'ailleurs remarquer que ce revenu était supérieur à celui d'autres produits tels que le plantain (25000 FCFA), le café (34000 FCFA), et même celui du salaire minimum interprofessionnel de croissance (SMIC) (34000 FCFA). Selon Balinga *et al.* (2004), les revenus moyens mensuels issus de la vente des larves sont encore plus élevés et varient plutôt entre 40000 et 50000 FCFA. Certaines vendeurs feraient des bénéfices de 150000 FCA par mois (Balinga *et al.*, 2004).

### **I.3.2. Connaissances sur les chenilles *Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea***

#### **I.3.2.1. Identification et habitat**

*Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea* sont des espèces d'insectes appartenant à l'ordre des lépidoptères. Au Cameroun, ces insectes sont consommés en majorité par les populations de la région du Centre du pays (Balinga *et al.*, 2004). Les larves de papillons *I. truncata* sont de grosses chenilles noires. Elles portent le nom de *Mimbinsg* en Ewondo. Au dernier stade la chenille, la capsule céphalique est rouge-brun, de même que l'écusson thoracique. Les segments thoraciques et abdominaux sont noirs. Chaque segment porte six protubérances jaunes, à savoir deux dorsales, une latérale au-dessus des stigmates de chaque côté et une autre de chaque côté en-dessous des stigmates. L'écusson anal est rouge grisâtre. Les stigmates sont rose foncé. Les vraies pattes sont noires et les fausses pattes noirâtres (Mabossy-Mobouna *et al.*, 2013). *I. epimethea* tout comme *I. Truncata* à un corps noir avec une ligne longitudinale rougeâtre sur le dos. La capsule céphalique et l'écusson anal sont orange foncés. Les segments abdominaux et thoraciques sont également de couleur noire. Comme chez *I. truncata*, ces segments portent trois paires de scoli (dorsale, sub-dorsale et

latérale). Elles sont noires, plus petites et moins visibles que chez *I. truncata*. Les deux espèces de chenilles mesurent environ 7 cm de long dans leur dernier stade larvaire. Elles se développent sur les mêmes arbres hôtes. Les arbres hôtes d'*I. truncata* sont *Petersianthus macrocarpus*; *Ricinodendron heudelotii* et *Uapaca guinensis* (Balinga *et al.*, 2004; Lisingo *et al.*, 2010). Celles d'*I. epimethea* sont *Petersianthus macrocarpus*; *Ricinodendron heudelotii* *Holarrhena floribunda*; *Pycnanthus sangolensis*; *Funtumia africana*; *Acacia auriculiformis* et *F. elastica* (Balinga *et al.*, 2004; Latham, 2008; Lisingo *et al.*, 2010). Au Cameroun, ces deux espèces se développent sur *Ricinodendron heudelotii*.

### **I.3.2.2. Biologie et développement des larves d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea***

Le cycle de vie des *I. epimethea* et *I. truncata* se déroule en quatre étapes : l'œuf, les larves, les chrysalides et les adultes (papillons). La vie des chenilles commence à l'état d'œufs déposés sur leur arbre hôte. Après un certain temps, les œufs éclosent pour laisser place aux larves. Un grand nombre de chenilles vivent en groupes, mangeant et se déplaçant ensemble. Elles se nourrissent des feuilles de l'arbre hôte. Au cours de leur croissance, les chenilles changent considérablement au cours de différentes métamorphoses qu'on appelle mues. Lorsque vient le moment de muer, les chenilles descendent le long du tronc de leur arbre hôte. La métamorphose a lieu en terre où elles se transforment en chrysalide dans leur cocon. Après cette dernière étape qui peut durer plus de deux mois, c'est l'apparition des papillons. Il y a ensuite accouplement entre papillons adultes mâles et femelles. Après accouplement, la femelle trouve la plante hôte et y dépose ses œufs (Latham, 2008).

### **I.3.2.3. Collecte des larves d'*Imbrasia epimethea* et d'*Imbrasia truncata***

Les chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea* sont principalement collectées dans la nature sur leurs arbres hôtes. Ces chenilles ne sont pas disponibles toute l'année. Les récoltes se font pendant la saison des pluies généralement de fin juillet à début octobre selon les années, lorsque les plantes hôtes commencent à développer leur feuillage. Leur présence est indiquée par la perforation du feuillage, ou leur regroupement au niveau des tiges. Pendant cette période, les chenilles chutent ou descendent des frondaisons des arbres pour se chrysalider en terre. Elles sont ramassées sur les feuilles, branches, tiges des plantes hôtes ou tout simplement sur le sol. Pour des grands arbres, des longues tiges de bois sont utilisées pour faire tomber les chenilles du tronc et des branches (Balinga *et al.*, 2004). Au



Cameroun, les principales zones d'approvisionnement ou de collecte de ces chenilles sont Bog-Sama (village situé à environ 80 km de Yaoundé sur l'axe Yaoundé Abong – Mbang), Ngomessap et à Mfou dans l'arrondissement de Yaoundé (Balinga *et al.*, 2004). Les chenilles collectées peuvent vivre encore trois ou quatre jours. Il suffit pour cela de leur donner des feuilles de leurs plantes hôtes (Agromisa, 2015). Au Cameroun, certaines femmes leur donnent du piment pour qu'elles aient assez d'énergie pour vivre longtemps.

#### **I.3.2.4. Élevage des chenilles de *Imbrasia epimethea* et *Imbrasia truncata***

Il n'existe pas à notre connaissance d'unités de domestication de ces deux chenilles. Cependant, des expériences ont été menées au Botswana et au Zimbabwe pour domestiquer *Imbrasia belina* très connue sous le nom de « mopane ». Les résultats préliminaires ont montrés que cette domestication était possible, mais d'énormes efforts, notamment sur le plan socio-économique et culturel doivent être fait pour rendre le projet viable (Agromisa, 2015).

#### **I.3.2.5. Consommation des chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea***

Les chenilles d'*Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea* sont deux insectes consommés au Cameroun et principalement dans les régions du centre et Sud. En Afrique, ces insectes entrent dans les régimes alimentaires des populations des pays tels que la République Démocratique du Congo et la République du Congo (Latham, 2008; Mabossy-Mobouna *et al.*, 2013; Okangola *et al.*, 2016). La connaissance des plantes hôtes est vitale lorsque l'on collecte ces chenilles pour la consommation. Avant toute transformation alimentaire, le contenu des viscères de ces chenilles est ôté, parce que ces insectes se nourrissent sur des plantes contenant certains substances toxiques (Balinga *et al.*, 2004). Après éviscération, les chenilles sont bouillies en présence de sel et de piment pour renforcer le goût. Les chenilles ébouillantées peuvent être séchées par la suite pour conservation (Latham, 2008). Les chenilles sont utilisées pour la préparation de différentes sauces telles que la sauce d'arachide, la sauce tomate, et la sauce pistache. Elles s'accompagnent bien de banane plantain, de tubercules et bâton de manioc, du macabo, de riz et bien d'autres compléments (Balinga *et al.*, 2004). Elles peuvent également être utilisées dans les préparations de gâteaux d'arachides et de concombres.

### I.3.2.6. Valeur nutritionnelle larves d'*Imbrasia epimethea* et d'*Imbrasia truncata*

Quelques travaux de la littérature donnent la composition nutritionnelle des chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea* (Kokondi *et al.*, 1987; Mabossy-mobouna *et al.*, 2017). Ces chenilles sont majoritairement composés de protéines (environ 60,0 g/100 g MS) et de lipides (environ 15 g/100 g MS). Les travaux d'Okangola *et al.*, (2016) rapportent une teneur en protéines d'environ 55 g/100 g MS et des teneurs en lipides d'environ 20 g/100 g MS chez ces insectes. Les apports globaux en acides aminés essentiels sont satisfaisants. Selon Kokondi *et al.* (1987), la teneur en acides aminés indispensables totaux d'*I. truncata* est de 591,9 mg/g et celle d'*I. epimethea* est de 616,1 mg/g protéines. Une consommation de 50 g de ces *Imbrasia sp* apporterait au delà des apports journaliers recommandés de la plupart des acides aminés indispensables. L'isoleucine est l'acide aminé limitant (Kokondi *et al.*, 1987). Les acides gras essentiels sont également présents en quantités importante. L'acide gras majeur est l'acide l'alpha linoléique et représente plus d'un tiers des acides gras totaux. Sa teneur est de 36,8 g/100 g AG chez les chenilles fumées et 28,6 g/100 g AG chez les chenilles fraîches d'*I. truncata*, et de 35,1 g/100 g AG chez les chenilles fumées d'*I. epimethea* (Kokondi *et al.*, 1987). Une teneur encore plus importante en acide alpha linoléique (42,6 g/100 g AG) a été obtenue chez les chenilles d'*I. truncata* par Mabossy-mobouna *et al.* (2017) Cinquante grammes de chenilles apporteraient de l'ordre de 1 g d'acide linoléique et 5 g d'acide alpha linoléique (Kokondi *et al.*, 1987). En ce qui concerne les minéraux, les travaux de Kokondi *et al.* (1987) montrent que les chenilles d'*I. truncata* et d'*I. epimethea* contiennent du zinc (10,3 mg/100 g chenilles fumées (CF)), du fer (8,1 et 12,1 mg/100 g CF), du manganèse (3 et 5,4 mg/100 g CF), du magnésium (178 et 374 mg/100 g CF), du phosphate (780 et 620 mg/100 g CF), du potassium (1250 et 1170 mg/100 g CF), du calcium (122 et 209 mg/100 g CF) et du sodium (170 et 70 mg/100 g CF). Des vitamines et provitamines sont aussi présentes chez *I. truncata* et *I. epimethea* : l'acide folique (37,0 et 6,3 µg/ 100 g CF), l'acide pantothénique (12,2 et 7,3 mg/ 100 g CF), la biotine (45,0 et 23,0 µg/ 100 g CF), le cyanocobalamine ( $25,2 \times 10^{-3}$  et  $15,1 \times 10^{-3}$  µg/ 100 g CF), la niacine (10,9 et 11 mg/ 100 g CF), la pyridoxine (140 et 80 µg/ 100 g CF), le rétinol (31 et 44 µg/ 100 g CF), le β-carotène (6,6 et 7,6 µg/ 100 g CF), la riboflavine (5,1 et 4,0 mg/ 100 g CF), la thiamine (0,3 et 0,2 µg/ 100 g CF) (Kokondi *et al.*, 1987). En dehors de l'α-tocophérol, le seul isomère de tocophérol dont la teneur était de 3 µg/ 100 g de MF chez *I. truncata*, nous n'avons trouvé aucunes

données sur les isomères de tocophérols chez *Imbrasia epimethea* (Kokondi *et al.*, 1987). De manière générale, les deux insectes ont des compositions très proches.

### **I.3.2.7. Importance économique des chenilles *Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea***

Les larves d'*Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea* sont commercialisées au Cameroun et dans d'autres pays d'Afrique Centrale. Au Cameroun, l'étude sur la commercialisation des chenilles a été menée par Balinga *et al.* (2004). Elles constituent également des sources de revenus saisonniers pour certaines populations qui peuvent réaliser des revenus mensuels variant de 40 000 à 50 000 FCFA (Balinga *et al.*, 2004).

## **I.4. PROPRIETES FONCTIONNELLES DES FARINES ET PROTÉINES D'INSECTES**

### **I.4.1. Généralités sur les propriétés fonctionnelles des protéines**

Les protéines alimentaires sont des composants très importants en alimentation humaine. Elles contribuent aux qualités des aliments aussi bien pour la nutrition que pour leurs propriétés fonctionnelles et sensorielles (Haque *et al.*, 2016). Les propriétés fonctionnelles des protéines sont définies comme l'ensemble des propriétés physiques et chimiques affectant leur comportement dans une formulation lors de la production, l'entreposage et la consommation de produits alimentaires. La connaissance des propriétés fonctionnelles d'un ingrédient permet d'améliorer les procédés de fabrication des aliments. En général, les propriétés techno-fonctionnelles des protéines sont classées en trois groupes : les propriétés d'hydratation (la solubilité, la rétention d'eau) qui dépendent des interactions protéines-eau; les propriétés de surface (les pouvoirs moussants et émulsifiants) qui régissent les interactions phase aqueuse-lipides et phase aqueuse -air; et pour terminer les propriétés de texturation (pouvoir gélifiant ou coagulant) qui dépendent en premier lieu des interactions protéines-protéines (Luyten *et al.*, 2004).

### I.4.1.1. Propriétés d'hydratation

#### I.4.1.1.1. Solubilité

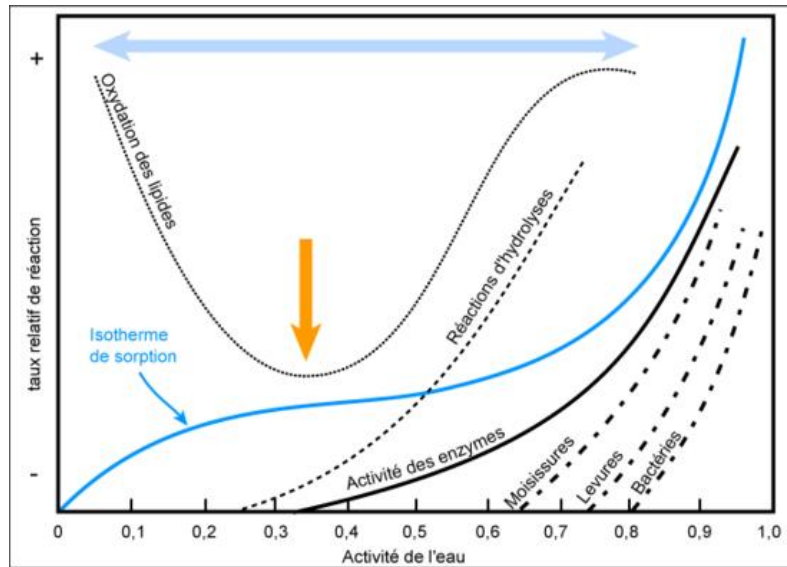
La solubilité d'une protéine est généralement exprimée comme le pourcentage de protéines dispersées dans une solution aqueuse à une concentration donnée, qui ne sédimente, ni ne précipite sous l'action des forces centrifuges (Haque *et al.*, 2016). L'évaluation de la solubilité des protéines peut fournir des informations pour leur potentielle utilisation dans la formulation des mousses, des émulsions, et des gels. Elle est importante pour favoriser l'adsorption des molécules au niveau d'une interface dans le cas de la fabrication d'une émulsion ou d'une mousse. La solubilité diminue avec l'agrégation des protéines. Plus les protéines sont solubles, plus elles sont aptes à former des mousses ou des émulsions. La solubilité des protéines est influencée par plusieurs facteurs tels que leur composition en acides aminés, leur masse moléculaire, le nombre de groupements polaires et apolaires et leur répartition au sein de la molécule. Elle dépend de facteurs environnementaux tels que le pH, la température, la force ionique, et la nature des ions présents (Haque *et al.*, 2016).

#### I.4.1.1.2. L'activité de l'eau

L'activité de l'eau ( $a_w$ ) d'un produit est définie comme étant le rapport entre la pression partielle de l'eau du produit ( $P_p$ ) et la pression partielle de vapeur de l'eau pure ( $P_e$ ), à la même température (Jeantet *et al.*, 2006): la formule est donnée dans l'équation 1 ci-dessous.

$$a_w = \frac{P_p}{P_e} \quad (1)$$

Elle est importante en industrie alimentaire car elle permet de rendre compte la disponibilité de l'eau en tant que solvant ou réactif. Elle est d'une importance majeure pour estimer la stabilité des aliments lors des traitements de transformation et lors de leur stockage. A chaque activité de l'eau correspond des réactions de détérioration des aliments (Figure 6). Pour des  $a_w$  inférieure à 0,6 on observe une croissance microbienne très faible, tandis que pour des activité de l'eau comprises entre 0,2 et 0,3, les aliments sont considérés stables chimiquement, enzymatiquement et microbiologiquement (Jeantet *et al.*, 2006).



**Figure 6:** Vitesse de modification des aliments en fonction de l'activité de l'eau (Schmidt, 2007).

Il existe également une relation entre l'activité de l'eau et le type de développement microbien pouvant être observé (Tableau VII).

**Tableau VII : Valeurs d'activité de l'eau de certains aliments et activités microbienne associées**

(https://www.agro-agri.fr/mesures-Aw-dans-agroalimentaire.html)

Valeur $a_w$	Limites maximales pour les micro-organismes	Produits alimentaires compris dans ces valeurs
0,95 à 1,00	<i>Pseudomonas, Escherichia, Proteus, Shigella, Klebsiella, Bacillus, Clostridium perfringens</i> , certaines levures	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Produits rapidement altérables (frais) aliments et fruits en boites. Légumes, viande, poisson et laitage, saucisse cuite pain cuit.</li> <li>• Produits alimentaires contenant jusqu'à 40% de sucre ou 7% de sel.</li> </ul>
0,91 à 0,95	<i>Salmonella Vibrio parahaemolyticus, C. botulinum, Serratia, Lactobacillus, Pediococcus</i> , certaines moisissures, levures ( <i>Rhodotoruia, Pichia</i> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Certains fromages (cheddar, suisse, munster, provolone). Viande fumée (jambon), quelques concentrés de jus de fruits.</li> <li>• Les produits alimentaires contenant jusqu'à 55% de sucre (saturés) ou 12% de sel.</li> </ul>
0,87 à 0,91	Beaucoup de levures ( <i>Candida, Torulopsis, Hansenula</i> ), Micrococcus	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Saucisse sèche (salami), flans, fromages secs, margarine.</li> <li>• Les produits alimentaires contenant jusqu'à 65% de sucre (saturés) ou 15% de sel.</li> </ul>
0,80 à 0,87	La plupart des types de moisissure (Penicillia mycotoxique), <i>Staphylococcus aureus</i> , la plupart des Saccharomyces (bailii) spp, Deboryamyces	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La plupart des concentrés de jus de fruits, le lait concentré sucré, les sirops de chocolat, d'érable et de fruits.</li> <li>• les farines, riz et légumes secs avec 15-17% d'eau.</li> <li>• Les gâteaux aux fruits; saucisses fumées, fondants.</li> </ul>
0,75 à 0,80	La plupart des bactéries halophiles, aspergilli mycotoxique	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Marmelades, gelées de fruits, pâte d'amande, fruits confits, certains marshmallows.</li> </ul>
0,65 à 0,75	Moisissure xérophile ( <i>Aspergillus chevaliers, A. Candidus, Wallemia sebi</i> ), <i>Saccharomyces bisporus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Flocons d'avoine avec 10% d'eau.</li> <li>• Nougats, fondants, marshmallows, bouillies, mélasses, sucre brut, certains fruits secs, noix.</li> </ul>
0,60 à 0,65	Levures osmophile ( <i>Saccharomyces rouxi</i> ), certaines moisissures ( <i>Apergillus echinulatus, Monascus bisporus</i> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fruits secs avec 15-20% d'eau; certains toffees et caramels, miel.</li> </ul>
0,50	Pas de croissance microbienne élevée	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pâtes alimentaires avec 12 % d'eau</li> <li>• Épices avec 10% d'eau</li> </ul>
0,40	Pas de croissance microbienne élevée	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Œufs en poudre avec 5% d'eau environ</li> </ul>
0,30	Pas de croissance microbienne élevée	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cakes, biscuits secs, croûte de pain, etc. avec 3-5% d'eau environ</li> </ul>
0,20	Pas de croissance microbienne élevée	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Poudre de lait avec 2-3% d'eau environ</li> <li>• Fruits secs avec 5% d'eau environ</li> <li>• Flocons de céréales avec 5% d'eau environ, gâteaux aux fruits, cakes rustiques, biscuits secs</li> </ul>

#### **I.4.1.1.3. Pouvoir de rétention d'eau des protéines**

Le pouvoir de rétention d'eau (PRE) est un des critères qui détermine la qualité de texture des produits alimentaires, notamment pour les produits carnés et en particulier après cuisson (Haque *et al.*, 2016). Les ingrédients protéiques avec un PRE élevé peuvent déshydrater les autres ingrédients dans un système alimentaire. Ceux avec un faible PRE sont très sensibles à l'humidité de stockage. La sélection des protéines avec un PRE approprié est vitale pour la formulation alimentaire (Haque *et al.*, 2016). Le PRE d'une protéine est influencé par de nombreux facteurs, tels que les interactions protéine-protéine et protéine-eau, sa pureté, le pH, la température, la durée d'hydratation et la force ionique du milieu étudié. En général, le PRE augmente avec la concentration en protéines. Le PRE des protéines augmente avec l'éloignement du pH du point isoélectrique (pI). Le PRE diminue quand la température augmente en raison d'une diminution de la fixation de l'eau par les protéines. Le PRE augmente avec les faibles forces ioniques. Aux faibles concentrations en sels, l'hydratation des protéines peut s'accroître alors que pour les forces ioniques élevées, les interactions eau-sels prédominent au détriment des interactions eau-protéine.

#### **I.4.1.2. Propriétés de surface des protéines**

##### **I.4.1.2.1. Propriétés émulsifiantes**

Les émulsions sont des dispersions colloïdales dans lesquelles un liquide est dispersé dans une phase liquide continue de composition différente. La phase dispersée est appelée phase interne (dispersée ou discontinue) et phase continue comme phase externe (phase dispersante) (Schramm, 2006). En pratique, les émulsions contiennent des gouttelettes avec des tailles allant parfois jusqu'à des dizaines ou des centaines de micromètres. Dans la plupart des émulsions alimentaires, l'un des liquides est aqueux tandis que l'autre est une huile. Une émulsion est un système thermodynamiquement instable mais qui peut présenter une stabilité cinétique, parfois considérable, en présence de composés ou de particules amphiphiles localisés à l'interface des deux phases. Les émulsions peuvent également subir différents mécanismes de déstabilisation caractérisés par les phénomènes suivants (Figure 7) :

- Le crémage ou la sédimentation

Le crémage est la tendance qu'on les gouttelettes d'huile émulsion à migrer vers la surface supérieure de l'émulsion et ceci contre la gravité (Damodaran, 2005), tandis que la sédimentation est la tendance qu'on les gouttelettes d'huiles à migrer vers le fond du système.

- La floculation

Une floculation est un processus par lequel deux ou plusieurs gouttelettes s'associent pour former un agrégat dans lequel chaque conserve son individualité (McClements & Weiss, 2005). C'est une association réversible des gouttelettes les unes aux autres.

- La coalescence

La coalescence est la fusion de plusieurs gouttelettes d'huile pour former des gouttelettes plus grosses (Damodaran, 2005). Elle favorise le crémage et entraîne une séparation de phase. C'est un phénomène irréversible.

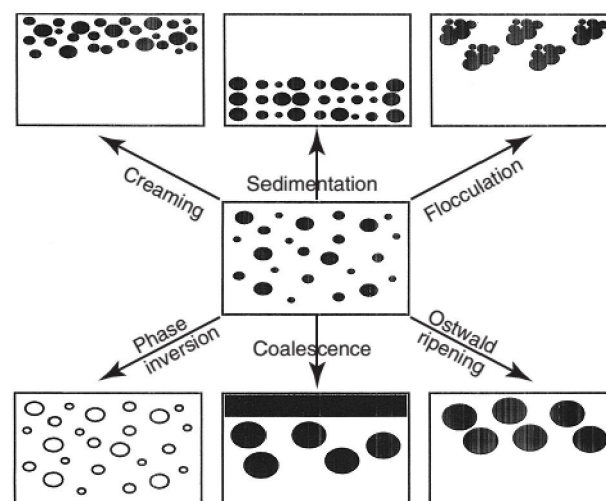
- Le mûrissement d'Oswald

Dans les émulsions polydisperses, les gouttelettes de petites tailles ont une solubilité plus grande que les gouttelettes de grandes tailles. Progressivement, les gouttelettes de petites tailles disparaissent et leurs molécules diffusent vers les grosses gouttelettes et s'y déposent. Avec le temps, la distribution en taille des émulsions migre vers des valeurs élevées (Tadros, 2013).

- L'inversion de phase

L'inversion de phase est un phénomène au cours duquel se produit un échange de phase entre la phase dispersée et la phase dispersante. Par exemple, une émulsion huile dans l'eau peut avec le temps devenir une émulsion eau dans l'huile (Tadros, 2013).

Les facteurs qui favorisent la déstabilisation sont la centrifugation, les chocs thermiques. Une émulsion sera stabilisée de la façon suivante : une tension interfaciale faible ; une couche interfaciale résistante ; un faible diamètre des gouttelettes et une forte viscosité du milieu.



**Figure 7:** Différents mécanismes de déstabilisation des émulsions (Tadros, 2013)



#### **I.4.1.2.2. Propriétés moussantes**

La propriété moussante d'une protéine est décrite par son aptitude à former une mousse (dispersion d'un gaz dans un liquide) et à provoquer le foisonnement d'une solution (augmentation du volume par ajout d'air) dans laquelle elle se forme suite à un apport d'énergie (traitement mécanique) en présence d'air. Durant ce processus, les molécules de protéines présentes dans la solution se dénaturent, s'adsorbent à l'interface air-eau et emprisonnent des bulles d'air. La propriété moussante est corrélée à la quantité d'acides aminés exposés à la surface de la protéine (Toukara *et al.*, 2013). Les mousses alimentaires les plus connues sont la crème fouettée, les soufflés, la mousse de la bière, les pâtes levées comme la brioche, le pain, les crèmes glacées.

#### **I.4.1.3. Propriétés de texturation**

##### **I.4.1.3.1. Propriétés gélifiantes**

Un gel est un réseau continu tridimensionnel de molécules ou particules qui absorbent son solvant. Un gel est une forme intermédiaire entre l'état solide et l'état liquide. Les gels peuvent être décrits par leur capacité à immobiliser les liquides, par leur structure macromoléculaire, par leur texture, et par leurs propriétés rhéologiques (Alleoni, 2006). L'aptitude d'une protéine à la gélification joue un rôle majeur dans la préparation de nombreux aliments, comme les produits à base de viande et de poisson, ou dans divers produits laitiers. Les mécanismes provoquant la formation d'un gel peuvent être chimiques (effet de pH, ajout de calcium...), enzymatiques ou bien physiques, tels que les traitements thermiques. La température de gélification, la concentration minimale de gélification et la force de gel sont les trois grandeurs clés pour caractériser les propriétés gélifiantes d'une protéine. L'analyse des propriétés gélifiantes des protéines s'effectue le plus souvent par microcalorimétrie différentielle, mais aussi parfois par des mesures rhéologiques.

#### **I.4.2. Propriétés fonctionnelles des farines et de protéines d'insectes**

##### **I.4.2.1. Propriétés fonctionnelles des farines d'insectes**

Des travaux de la littérature mettent en évidence l'aptitude des farines d'insectes à être utilisées comme ingrédient dans la formulation de nombreux produits alimentaires.

#### **I.4.2.1.1. Méthode de préparation et caractéristiques des farines d'insectes**

La préparation des farines d'insectes s'effectue le plus souvent en deux étapes. La première est celle de la déshydratation des insectes frais en utilisant différentes techniques (l'étuvage, le séchage au soleil, le fumage, le grillage ou la lyophilisation) (Bußler *et al.*, 2016; Niaba koffi *et al.*, 2011 ; Womeni *et al.*, 2012). Certains insectes peuvent au préalable avoir subi un prétraitement d'ébouillantage (Omotoso, 2006) ou de délipidation (Akpossan *et al.*, 2015 ; Ekpo, 2010 ; Bußler *et al.*, 2016 ; Womeni *et al.*, 2012). La seconde étape est celle du broyage en utilisant soit un mortier ou un broyeur mixeur de laboratoire. Les farines obtenues sont très souvent tamisées afin d'obtenir des produits avec des granulométries plus fines. Les farines d'insectes ont fait l'objet de plusieurs type de caractérisation (le pouvoir de rétention d'eau, le pouvoir de rétention d'huile, la densité, la mouillabilité, la capacité émulsifiante, la capacité gélifiante, la capacité moussante : Tableau 8) ( Akpossan *et al.*, 2015 ; Ekpo *et al.*, 2008; Womeni *et al.*, 2012). Ces propriétés sont plus ou moins affectées par la méthode de préparation de la farine d'insecte.

Tableau VIII: Composition centésimale des farines d'insectes et propriétés fonctionnelles étudiées

Insectes	S.D	Pré traitement	Technique de Séchage	Appareil de broyage	Type de farines	Eau	Protéines	Lipides	Cendres	Propriétés fonctionnelles étudiées	Auteurs
<i>Rhynchophorus phoenicis</i>		Ébouillantage, torréfaction	Étuvage, séchage au soleil, fumage	Mortier	délipidée		67,09	/	16,66	PRE, PRH, densité	(Womeni <i>et al.</i> , 2012)
<i>Rhynchophorus phoenicis</i>	larves	N.S	N.S	N.S	Non délipidée	N.S	22,06	66,61	5,79	N.C	(K. E. Ekpo, 2010)
<i>Rhynchophorus phoenicis</i>	larves	N.S	N.S	N.S	délipidée	N.S	66,09	/	17,35	PRE ; PRH ; AE ; CE ; SE ; CM ; SM ; CMG ; densité	(K. E. Ekpo, 2010)
<i>Tenebrio molitor</i>	larves	N.S	lyophilisation	Broyeur de labo	Non délipidée	16,2	57.8	19.1	N.S	PRE, PRH,	(Bußler <i>et al.</i> , 2016)
					délipidée	12,5	64.6	2.8	N.S		
<i>Hermetia illucens</i>	larves	N.S	lyophilisation	Broyeur de labo	Non délipidée	15,9	34,7	20	N.S	PRE, PRH,	(Bußler <i>et al.</i> , 2016)
					délipidée	13	44,9	8,8	N.S		
<i>I. belina</i>	larves	N.S	fumage	mortier	Non délipidée	N.S	N.S	N.S	N.S	PRE, PRH, AE ; CE ; SE ; CM ; SM ; densité	(Ekpo <i>et al.</i> , 2008)
<i>Cirina forda</i>	larves	ébouillantage	étuvage	mortier	Non délipidée	10,85	55,50	4,68	10,26	PRE ; PRH ; CE ; SE ; CM ; SM ; CMG	(Omotoso, 2006)
<i>Cirina forda</i>	larves	N.S	N.S	N.S	Non délipidée	4,5	20	12,5	8,7	PRE ; PRH ; CG ; CE ; CMG ;	(Osasona & Olaofe, 2010)
<i>I. oyemensis</i>	larves	N.S	N.S	Mortier	Non délipidée	N.S	N.S	N.S	N.S	Densité ; PRE, PRH ; CE ; SE	( Akpoussan <i>et al.</i> , 2015)
		N.S	N.S	Mortier	délipidée	N.S	N.S	/	N.S		

S.D : stade de développement ; N.S : non spécifié ; N.C : non caractérisé ; PRE : pouvoir de rétention d'eau ; PRH : pouvoir de rétention d'huile ; AE : activité émulsifiante ; CE : capacité émulsifiante ; SE ; stabilité émulsifiante ; CM : capacité moussante ; SM : stabilité moussante ; CG : capacité gélifiante ; CMG : concentration minimale de gélification.

#### **I.4.2.1.2. Solubilité des protéines des farines d'insectes**

Très peu d'études portent sur la solubilité des protéines des farines d'insectes. Cependant les travaux effectués chez certains insectes montrent que la solubilité des protéines de leurs farines est dépendante du pH. Chez *Cirina forda*, la solubilité des protéines se situe autour de 40 à 50 g/100 g protéines que ce soit en milieu acide ou en milieu basique (Osasona & Olaofe, 2010), avec deux pH où une solubilité minimale a été observée (pH 3,0 et 7,1). Toujours chez *C. forda*, les travaux effectués par Omotoso, (2006), ont permis d'observer une faible solubilité en milieu acide (inférieure à 20 g/100 g de protéines) et une solubilité plus élevée en milieu basique (plus de 50 g/100 g protéine au pH 11) (Omotoso, 2006). Trois pH où la solubilité est minimale ont été observés (pH 4,0 ; 6,0 et 9,0). La faible solubilité des protéines aurait été causée par des processus tels que l'ébouillantage des farines, ou encore leur séchage au soleil (Omotoso, 2006). En effet, ces processus ont pour effet de dénaturer les protéines.

#### **I.4.2.1.3. Pouvoir de rétention d'eau des farines d'insectes**

Quelques travaux de la littérature traitent du pouvoir de rétention d'eau (PRE) des farines d'insectes (Akpossan *et al.*, 2015; Ekpo *et al.*, 2008; Omotoso, 2006; Womeni *et al.*, 2012). Par exemple chez les farines des larves de *Cirina forda*, le PRE varie entre  $248,3 \pm 2,4$  g/100 g farine (Osasona & Olaofe, 2010) et  $300,0 \pm 0,2$  g/100 g farines (Omotoso, 2006). Le PRE des farines d'insectes est influencé par plusieurs paramètres (la concentration en protéine de la farine utilisée pour la mesure, le pH d'étude et la teneur en lipides). Chez *Imbrasia oyemensis*, à concentration en protéine de la farine fixe (2 à 10 g/100 g farine), le PRE était plus important pour les farines délipidées (65 à 87 g/100 g farine) que pour celles entière (non délipidées) (57 à 66 g/100 g farine) (Akpossan *et al.*, 2015). Toujours chez *Imbrasia oyemensis*, que la farine soit délipidée ou non délipidée, le PRE augmente avec la concentration en farine jusqu'à son maximum de 6 g/100 mL d'eau, puis décroît (Akpossan *et al.*, 2015). Chez *Imbrasia belina*, le pH de la phase aqueuse affecte le PRE des farines. Il est de  $230 \pm 15$  g d'eau/100 g farines au pH 2,0 pour atteindre une valeur de  $310 \pm 31$  g d'eau/100 g farine au pH 10,0 (Ekpo *et al.*, 2008).

#### **I.4.2.1.4. Pouvoir de rétention d'huile des farines d'insectes**

Le pouvoir de rétention d'huile (PRH) des farines d'insectes est aussi important que le pouvoir de rétention en eau. Les lipides en effet sont de bons vecteurs des arômes, ce qui

augmente l'acceptabilité de certains aliments ; ils permettent aussi d'éviter une exsudation du gras lors des traitements (cuisson par exemple) et du stockage. Chez les larves de *Cirina forda*, le PRH est de  $358,4 \pm 0,2$  mL/100 g farine (Omotoso, 2006). Le PRH des farines d'insectes dépend plusieurs paramètres tels que la teneur en lipides et en protéines de la farine, la concentration en farine utilisée pour l'analyse (g d'huile/ 100 g de farine). Chez *Imbrasia oyemensis* par exemple, à concentration en protéine de la farine fixe (2 – 10 g/100 g farine), le PRH obtenu est plus important pour les farines délipidées ( $62,7 \pm 0,6$  à  $84,1 \pm 0,4$  mL d'huile/ 100 g de farines) que pour les non délipidées ( $56,7 \pm 0,7$  –  $78,1 \pm 0,5$  mL d'huile/100 g de farine) (Akpossan *et al.*, 2015). Chez les farines délipidées de *I. oyemensis*, de concentrations en protéines variant entre 2 et 10 g/100 g farine, le PRH décroît de  $84,08 \pm 0,43$  à  $62,68 \pm 0,57$  g huile/100 g farine (Akpossan *et al.*, 2015). Chez *I. belina*, le PRH varie avec le pH (2 – 10) et la granulométrie des farines. Il varie de  $110 \pm 64$  à  $310 \pm 52$  mL d'huile/100g farine pour des farines de granulométrie inférieure à 40  $\mu\text{m}$ , et de  $180 \pm 30$  à  $320 \pm 43$  mL huile/100 g farine pour des farines de granulométrie inférieure à 100  $\mu\text{m}$  (Ekpo *et al.*, 2008).

#### **I.4.2.1.5. Propriétés gélifiantes des farines d'insectes**

Il existe que très peu d'études sur les propriétés gélifiantes des farines d'insectes. Certaines farines d'insectes possèdent des aptitudes à former des gels. Elles sont cependant influencées par plusieurs facteurs tels que les conditions de préparation de la farine, le pH, et la granulométrie de la farine. Chez les larves de *Cirina forda*, la concentration minimale de gélification varie entre 6 g/100 mL (farine/eau) (Omotoso, 2006) et 14 g/100 mL (Osasona & Olaofe, 2010). Les farines utilisées par les deux auteurs avaient des teneurs différentes en eau et en protéines (3,3 g/100 mL par Omotoso (2006) et 2,8 g /100 mL par Osasona & Olaofe (2010)). En outre, ces farines avaient été préparées après différent prétraitement thermiques (séchage vs ébouillantage plus séchage). Chez la farine d' *I. belina*, la capacité gélifiante et la stabilité des gels formés diminuent avec quand le pH augmente et quand la granulométrie des farines diminue ( Ekpo *et al.*, 2008).

#### **I.4.2.1.6. Propriétés émulsifiantes des farines d'insectes**

Très peu d'études ont été réalisées sur les propriétés émulsifiantes des farines d'insectes. Les caractéristiques évaluées sont très souvent la l'activité émulsifiante (AE), la capacité émulsifiante (CA) et la stabilité de l'émulsion (SA). La capacité émulsifiante est

définie comme le nombre de mL d'huile émulsifiée par 100 gramme d'échantillon, tandis que la stabilité de l'émulsion est définie comme étant le rapport entre le volume de l'émulsion restant à un temps  $t$  (une phase huile se séparant du système au bout d'un certain temps) et le volume total du mélange initial (volume de l'émulsion au temps 0). La mesure peut être faite soit à gravité normale, soit après centrifugation dans des conditions définies. Chez la farine de *Cirina forda*, une CA de  $36,6 \pm 0,1$  mL d'huile/100 g de farine et une SA de  $45,3 \pm 0,2$  mL d'huile/100 g d'émulsion ont été mesurées (Omotoso, 2006). La concentration en farine et le pH de de l'échantillon, la teneur en lipides des farines peuvent influencer sa capacité émulsifiante et sa stabilité émulsifiante. Chez les farines d'*I. oyemensis* contenant 2 % de protéines, la CA est plus élevée pour les farines délipidées ( $86,4 \pm 1,3$  mL d'huile/100 g de farine) que pour les farines non délipidées ( $80,7 \pm 1,0$  mL d'huile/100 g de farine); tandis que la SA reste similaire pour les deux types de farines (84,8 et 87,2 mL d'huile/100 g de farine) (Akpossan *et al.*, 2015). Chez *I. belina*, la CA et la SA sont dépendant du pH et la granulométrie des farines. A pH 2, l'AE émulsifiante passera de  $3,6 \pm 0,3$  mL d'huile/100 g de farine pour une granulométrie de 40  $\mu\text{m}$  à  $40 \pm 0,3$  mL d'huile/100 g de farine pour une granulométrie de 100  $\mu\text{m}$ , tandis qu'aux autres pH (4-10) cette activité restait en deçà de 4 mL d'huile/100 g de farine quelle que soit la granulométrie des farines (Ekpo *et al.*, 2008). La capacité des farines d'insectes à former avec des huiles, des émulsions stables met en avant leur utilisation dans de nombreuses applications alimentaires.

### **I.4.2.1.7. Propriétés moussantes des farines d'insectes**

Les propriétés moussantes généralement évaluées sont la capacité moussante (CM) et la stabilité moussante (SM). La CM des farines d'insectes est mesurée en homogénéisant une quantité déterminée de farine d'insecte dans un volume d'eau distillée jusqu'à obtention de la mousse. La CM est définie comme le rapport entre le volume de la mousse formée après homogénéisation et le volume total de l'homogénat utilisé. La SM est définie comme le rapport entre la capacité moussante à un temps  $t$  et la capacité moussante au temps initial. La CM et la SM ont été déterminés sur les farines de quelques insectes. Chez *Cirina forda*, la CM est de 7,10 mL mousse/100 mL homogénat de farine et la SM de 3,00 mL mousse/100 mL homogénat de farine (Omotoso, 2006). Cependant, une dénaturation des protéines durant la préparation des farines peut contribuer à la perte de ces propriétés (Osasona & Olaofe, 2010). De nombreux autres facteurs peuvent influencer les propriétés moussantes des faines d'insectes : ce sont la teneur en protéines et en lipides de la farine, le

pH. Chez *I. oyemensis*, l'aptitude à former des mousses stables ne sont obtenues qu'avec les farines délipidées (Akpossan *et al.*, 2015).

#### **I.4.2.1.8. Fabrication et commercialisation de produits alimentaires à base de farine d'insectes**

Quelques produits alimentaires à base de farines d'insectes sont commercialisés dans le monde. L'entreprise Micronutris en France élève des insectes, et vend quelques produits à base de farines d'insectes notamment celles de *Tenebrio molitor* et de *Acheta domestica* (grillon domestique). Il s'agit de friandises, biscuits et gâteaux salés à base d'insectes (<http://www.micronutris.com/fr/boutique-en-ligne>). A l'échelle du laboratoire, plusieurs études ont porté sur l'impact nutritionnel de l'apport de farines d'insectes sur des produits alimentaires couramment consommés. Ojinnaka *et al.* (2015) ont montré que des biscuits à base de farine de blé enrichis avec de la pâte du termite africain (*Macrotermes nigeriensis*) voyaient leur valeur nutritionnelle en protéines augmenter (Ojinnaka *et al.*, 2015). C'est le cas également des larves de *Tenebrio molitor* qui ont été utilisées pour enrichir en protéines des casses croûtes à base de céréales (Azzollini *et al.*, 2018)

#### **I.4.2.2. Propriétés fonctionnelles des protéines d'insectes**

Peu de travaux, à notre connaissance, portent sur les propriétés fonctionnelles des protéines extraites d'insectes. Toutefois, pour les travaux qui traitent de la question, juste quelques propriétés fonctionnelles sont abordées par auteur pour un insecte donné (Yi *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2016; Bußler & Rumpold, 2016). En amont de ces études, les protéines sont d'abord extraites en utilisant différents procédés d'extraction. Deux techniques sont très souvent utilisées. La première consiste en une solubilisation des protéines en milieu alcalin et précipitation en milieu acide, suivie d'une étape de lyophilisation pour obtenir des concentrats de protéines (Bußler *et al.*, 2016) ; la seconde consiste en une simple extraction des protéines en milieu aqueux (Yi *et al.*, 2013). Ces différentes techniques de préparation vont plus ou moins affecter les propriétés fonctionnelles des protéines de ces insectes.

##### **I.4.2.2.1. Solubilité des protéines d'insectes**

La littérature portant sur la solubilité des protéines d'insectes est peu abondante. Des études ont été menée pour déterminer la solubilité des protéines de *Tenebrio molitor* (Azagoh *et al.*, 2016; Zhao *et al.*, 2016). Ces auteurs ont noté une solubilité minimale au environ du pH

4,0, indiquant que le point isoélectrique des protéines extraites était situé à ce pH. Zhao *et al.* (2016) ont montré que cette solubilité augmentait progressivement jusqu'à sa valeur maximale au pH 9,0 (74 g/100 g de protéine du concentrat). L'ajout de sel, notamment le NaCl 0,5 M a eu pour effet de diminuer la solubilité et aboutissant à un déplacement du point isoélectrique des protéines. En effet, le NaCl provoque un effet « salting out » et permet de déplacer le point isoélectrique vers des pH plus acides. Ce déplacement de pH isoélectrique s'explique par le changement des caractéristiques de charges dues aux effets d'additions des ions Cl<sup>-</sup> (Zhao *et al.*, 2016).

#### **I.4.2.2.2. Propriétés moussantes des isolats de protéines d'insectes**

Les protéines extraites des insectes peuvent posséder des aptitudes à former des mousses. Toutefois, les travaux de Yi *et al.*, (2013) montrent que les propriétés moussantes des protéines de certains insectes sont inférieures à celles de l'albumine du blanc d'œuf (1,5%, p/v). Les protéines de *Zophobas morio* présentaient une aptitude à former des mousses aux pH 3, 7 et 10 avec une demi-vie de 6 min contre 17 min pour l'albumine du blanc d'œuf. Pour d'autres insectes (*Acheta domesticus*, *Blaptica dubia*), les mousses produites avaient des demi-vies inférieures à 6 min et étaient peu stables. La faible concentration en protéines et la force ionique de l'échantillon, la présence des lipides résiduels dans la fraction protéique issue de l'extraction des protéines, peuvent contribuer à abaisser l'aptitude à former des mousses par les protéines d'insectes (Yi *et al.*, 2013).

#### **I.4.2.2.3. Propriétés émulsifiantes des protéines d'insectes**

La littérature concernant les propriétés émulsifiantes des protéines végétales et animales est très abondante alors que celle relative aux protéines d'insectes est quasi inexistante. Les propriétés émulsifiantes des protéines de *Tenebrio Molitor* sont celles qui suscitent l'intérêt chez la plupart des auteurs (Bußler *et al.*, 2016; Gould & Wolf, 2018). La capacité émulsifiante des protéines du ver de farine est fortement dépendante du pH et de la concentration en protéines, et même du type de farine utilisé pour la préparation des protéines des protéines (farines délipidées ou non délipidées)(Bußler *et al.*, 2016). Pour des protéines préparées à partir de la farine délipidée de *Tenbrio molitor*, quel qu'était la concentration en protéines (0,02 ; 0,04 ; 0,06 ; 0,08 et 0,1 mg/mL), la capacité émulsifiante était plus importante au pH 5,0 qu'au pH 7,0. A pH 5,0, la capacité émulsifiante était de 2,35 mL d'huile/mg protéine. Cette capacité émulsifiante diminuait avec la concentration en protéine.



Au pH 7, la capacité émulsifiante de la solution protéique à 0,02 mg/mL était significativement plus faible (0,64 mL d'huile/mg protéine). Bußler *et al.* (2016) justifient les résultats obtenus par le fait que, les propriétés émulsifiantes des protéines dépendent de leur hydrophobie surface, car cette dernière influence l'aptitude de la protéine à s'adsorber la partie huile de l'interface. Des grandes désintégrations aboutissent très souvent à des fortes capacités émulsifiantes. La charge de surface des protéines influence également la solubilité des protéines en phase aqueuse. De fortes répulsions électrostatiques tendent à conduire vers une importante stabilité émulsifiante.

#### **I.4.2.2.4. Propriétés gélifiantes des isolats de protéines d'insectes**

L'étude de l'aptitude à former des gels des protéines extraites de 5 espèces d'insectes (*Tenebrio molitor*, *Zophobas morio*, *Alphitobius diaperinus*, *Acheta domesticus* et *Blaptica dubia*), a permis de montrer que pour une concentration en protéines de 3% (p/v), en dehors des extraits protéiques d'*Acheta domesticus* à pH 7, ces extraits protéiques n'étaient pas capables de former des gels aux pH 3, 5, 7 et 10. A 30% (p/v) de protéines, des gels étaient formés aux pH 7 et 10 (Yi *et al.*, 2013).

#### **I.4.3. Fonctionnalités alimentaires des larves de *Rhynchophorus phoenicis***

##### **I.4.3.1. Propriétés fonctionnelles des larves de *Rhynchophorus phoenicis***

Les propriétés fonctionnelles des larves de *R. phoenicis* ont fait l'objet de quelques travaux ( Ekpo, 2010; Omotoso & Adedire, 2007; Womeni *et al.*, 2012). Les premiers travaux sont ceux Omotoso & Adedire (2007) qui ont étudié la solubilité des protéines des farines de *Rhynchophorus phoenicis*. Ces auteurs ont trouvé qu'à tous les stades de développement, la solubilité des protéines des larves de *R. phoenicis* dépendait du pH. Les protéines de *R. phoenicis* sont peu solubles aux pH très acides (1-5) avec une solubilité inférieure à 20 g/100 g de protéines. Au pH 6, leur solubilité croit brusquement pour se situer aux environ de 40 g/100 g de protéines. Aux pH alcalins, cette solubilité varie en dent de scie en fonction du stade de développement, et peu cependant atteindre des valeurs maximales de 65 g/100 g de protéines. Ces auteurs ont identifié trois points isoélectriques chez ces protéines indiquant la présence de trois groupes de protéines chez ces insectes. Les travaux de Womeni *et al.*, (2012) ont porté sur les propriétés fonctionnelles des farines. Ces auteurs ont étudié l'effet des conditions de stockage, de séchage et de différents traitements (grillage, torréfaction,

ébouillantage, fumage, ébouillantage-fumage) sur la solubilité des protéines des farines, le pouvoir de rétention d'eau, le pouvoir de rétention d'huile et la densité des larves de *Rhynchophorus phoenicis*. Ces auteurs ont observé que la solubilité maximale des protéines de *R. phoenicis* était obtenue aux pH alcalins (7 et 9), alors qu'aux pH acides (1- 4), une faible solubilité était observée. Certains traitements (torréfaction, grillage-ébouillantage, le fumage, et le grillage) effectués sur ces insectes augmentaient considérablement la solubilité de leurs protéines. Cependant, des traitements tels que le grillage, la torréfaction, le séchage au soleil et le fumage diminuaient de façon significative le pouvoir de rétention d'eau en deca de la valeur contrôle qui étaient de 3,5 mL/g de farine d'insecte. Selon ces auteurs, les traitement thermiques altèrent la structure tridimensionnelle des protéines ce qui réduit leur capacité d'absorption d'eau (Womeni *et al.*, 2012). Le grillage, la torréfaction, le grillage-ébouillantage et le fumage avaient également pour effet de diminuer le pouvoir de rétention d'huile en deçà de valeur contrôle qui était de 300 mL/100 g de farine d'insecte. Ekpo, (2010) a également déterminé différentes propriétés fonctionnelles des larves de *Rhynchophorus phoenicis*. Ces auteurs ont mesuré un pouvoir de rétention en eau de  $127,33 \pm 0,20$  mL/100 g farines ; un pouvoir de rétention en huile de  $102,00 \pm 0,68$  mL/100 g farines ; une activité émulsifiante de  $44,71 \pm 0,69$  mL/100 g farines ; une capacité émulsifiante de  $45,05 \pm 0,60$  mL/100 g farines ; une stabilité émulsifiante de  $43,88 \pm 0,67$  mL/100 g farines et une capacité moussante de  $10,60 \pm 0,27$  mL/100 g farines. Ces résultats leur ont permis de conclure que ces larves peuvent être utilisées dans diverses applications alimentaires telles que des produits gélifiés ou dans des formulations alimentaires aqueuses.

#### **I.4.3.2. Propriétés fonctionnelles des larves de *Rhynchophorus phoenicis* dans des systèmes alimentaires composites.**

Quelques auteurs ont évalué les propriétés fonctionnelles des larves de *R. phoenicis* utilisées comme ingrédients dans des systèmes alimentaires. C'est le cas d'Idolo, (2010) qui a incorporé les larves dans les brioches à base de farine de blé. Dans ces brioches, les proportions en larves de *R. phoenicis* variaient de 0 à 15%. Pour des proportions de larves de *R. phoenicis* comprises entre 0 et 5% dans la formule des brioches, on observe une augmentation de la valeur nutritionnelle des brioches (augmentation des teneurs en protéines, énergie, calcium, magnésium, zinc et vitamines (A, B et C)) qui n'affectent pas leurs propriétés sensorielles (couleur, texture, flaveur, arôme et le goût) (Idolo, 2010). Ojinnaka *et al* (2016) ont également travaillé sur le développement d'un produit composite composé d'un

mélange de farine de blé et de farine de maïs et enrichi avec de la pâte de larves de *Rhynchophorus phoenicis*. Ces auteurs ont observé que l'échantillon contenant 5% de maïs, 5% de pâte de *R. phoenicis* et 90% de farine de blé avait la teneur la plus élevée en protéines (19,05%). De manière général, et mis à part l'indice de mouillage qui variait énormément, les autres propriétés fonctionnelles (capacité de rétention en huile, densité, gonflement) étaient similaires que le produit soit ou non enrichi avec la pâte de la larve de *Rhynchophorus phoenicis*. De même, les propriétés sensorielles (apparence, flaveur, arôme, goût, texture et acceptabilité générale) n'étaient pas affectées par la présence des larves de *R. phoenicis* à des concentrations inférieures ou égale à 5% dans la formule (Ojinnaka *et al.*, 2016). Les farines enrichies avec les protéines d'insectes peuvent ainsi voir leur valeur nutritionnelle augmenter sans toutefois perdre leurs propriétés fonctionnelles.

## **I.5. ANALYSE DE LA BIBLIOGRAPHIE**

La population mondiale qui atteindra les 10 milliards de personnes en 2050 sera confrontée à une insécurité alimentaire si les ressources en aliments disponibles ne sont pas augmentées, ou alors si de nouvelles ressources alimentaires ne sont pas recherchées pour compléter les alimentations conventionnels. Plusieurs auteurs et organismes internationaux s'accordent sur le fait que les insectes auront un important rôle à jouer pour alimenter les générations futures. Ils présentent de nombreux avantages. D'abord sur le plan nutritionnel, ils sont riches en protéines et acides aminés indispensables, lipides et acides gras indispensables, vitamines et minéraux. Sur le plan environnemental, ils se cultivent sur des espaces réduits ; utilisent la matière organique en décomposition comme substrat de croissance; nécessitent très peu d'eau pour leur élevage et dégagent peu de gaz à effet de serre. Sur le plan économique, ils constituent d'importantes sources de revenus pour les populations locales de nombreux pays d'Afrique et d'Asie ; ils font l'objet d'échanges internationaux. Sur le plan sanitaire, leur consommation ne provoquerait pas de zoonose. Au Cameroun la consommation des insectes est une pratique courante. Trois espèces d'insectes sont fortement appréciées : les larves de *Rhynchophorus phoenicis* et les chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea*. Bien qu'il existe dans la littérature des données abondantes sur leur composition nutritionnelle (teneur en protéines et lipides, composition en acides gras et acides aminés), certaines données restent absentes. C'est le cas par exemple de la composition en classes et en acides gras des fractions des lipides totaux (lipides neutres, glycolipides, phospholipides), les espèces moléculaires de triglycérides et la composition en isomères de tocophérols. L'analyse

de la bibliographie montre également que l'élevage des insectes reste très peu pratiqué contrairement à celui des animaux conventionnels. Or pour valoriser ces ressources et les utiliser dans le temps, la maîtrise des techniques d'élevages permettant d'obtenir des données nutritionnelles très peu variables (contrairement à celles observées dans la littérature) et fiables est importante. Ces données pourraient ainsi être insérées dans les tables de composition alimentaire. Au Cameroun, plusieurs unités de production/domestication des larves de *R. phoenicis* sont en cours d'expérimentation, ce qui représente une aubaine pour l'exploitation industrielle de cet insecte. Les larves de *R. phoenicis* existent également sous deux morphotypes : les larves jaunes et blanches qui se développent sur des palmiers raphia différents. Ces différences de couleurs restent inexplicables et des marqueurs génétiques ou même nutritionnels pourraient être à l'origine de cela. Les farines d'insectes et notamment celles des larves de *R. phoenicis* peuvent être utilisées dans la fabrication de produits alimentaires tels que les croquettes. Ces farines d'insectes sont obtenues après séchage et broyage des insectes frais. Différentes techniques de séchage sont très souvent employées et différentes teneurs en eau de farine sont obtenues. Ces farines sont stockées ou conservées à différentes températures. Il est bien connu qu'il existe une relation entre la teneur en eau et l'activité de l'eau d'un produit à une température donnée. Ces informations sont manquantes pour ces trois espèces d'insectes. Connaître la teneur en eau limite de séchage de ces farines est essentiel pour leur stabilité lorsque conservées à température donnée. La consommation des insectes reste une pratique difficile pour certaines personnes. Pour la rendre plus acceptable, l'une des possibilités est d'utiliser les fractions (protéines, lipides ou farines) d'insectes comme ingrédient fonctionnels dans certaines formules alimentaires. De nombreux essais dans ce sens sont menés sur des insectes dont la production par élevage est possible. Les larves de *R. phoenicis* font l'objet d'élevage et les propriétés fonctionnelles de ses farines ont déjà fait l'objet de nombreuses études. Cependant celles des protéines extraites de ces larves demeure inconnues. L'ensemble de ces observations ont conduit à diviser cette thèse en quatre parties. Une première sur la caractérisation nutritionnelle des trois insectes ; une seconde sur l'influence des conditions de croissance sur les paramètres morphométriques et nutritionnels de *R. phoenicis*, une troisième sur les isothermes d'adsorption des farines d'insectes et enfin une quatrième sur les propriétés émulsifiantes des protéines de *R. phoenicis*

**CHAPITRE 2 :**  
**MATÉRIEL ET MÉTHODES**

---

## CHAPITRE 2 : MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les produits chimiques utilisés dans ce travail sont présentés en Annexe 1.

### II.1. TRAITEMENT DU MATÉRIEL BIOLOGIQUE

Les insectes utilisés dans cette étude sont :

- Les larves de *Rhynchophorus phoenicis* (coléoptère) (Figure 8).
- Les chenilles (larves de papillons) : *Imbrasia epimethea* (Figure 9) et *Imbrasia truncata* (Figure 10).



**Figure 8:** Larves de *Rhynchophorus phoenicis*



**Figure 9:** Chenilles d'*Imbrasia epimethea*



**Figure 10:** Chenilles d'*Imbrasia truncata*

### **II.1.1. Collecte des insectes**

#### **II.1.1.1. Collecte sur les marchés de Yaoundé**

Trois lots des trois espèces d'insectes étudiées ont été collectés vivants dans des marchés de Yaoundé et environs (Mvog Mbi, Mvog Atangana Mballa, et Mfou).

#### **II.1.1.2. Collecte en milieu forestier et élevage en milieu domestique**

Pour l'étude de l'influence des conditions de croissance, les larves de *Rhynchophorus phoenicis* fournies par une ONG dénommée Living Forest Trust (LIFT), ont été collectées en forêt et dans un système d'élevage dans un village appelé « Elendé », situé à environ 90 km de Yaoundé au Cameroun. Les larves blanches sauvages se développant sur les troncs du palmier *Raphia hookeri*, les larves jaunes sauvages se développant sur les troncs de palmier *Raphia mombutorum*, et les larves blanches élevées qui sont élevées dans des box en plastique avec comme substrats, les stipes du palmier *Ra. hookeri*. Trois lots indépendants ont été récupérés par condition de croissance. Pour chaque lot, les paramètres morphométriques ont été mesurés et les paramètres nutritionnels analysés.

##### **II.1.1.2.1. Collecte en milieu forestier**

Les deux morphotypes de larves de *Rhynchophorus phoenicis* (jaunes sauvages et blanches sauvages) ont été collectées 30 jours après observation des œufs de larves sur des troncs de raphia infestés. Trois lots indépendants ont été collectés pour chaque morphotype type de larves. Chaque lot de chaque morphotype de larves, provenant d'un unique tronc de

palmier raphia, était composé d'environ 100 larves. Pour chaque lot, trois analyses ont été effectuées. Les deux morphotypes de larves sont présentés dans la figure 11.



**Figure 11:** différents types de larves de *Rhynchophorus phoenicis* (A : Larves blanches Sauvages ; B : Larves Jaunes Sauvages)

#### II.1.1.2.2. Collecte à partir d'un système d'élevage

Les larves Blanches élevages ont été collectées à partir d'un dispositif expérimental d'élevage des larves de *Rhynchophorus phoenicis* mis en place dans le village Elendé par *Living Forest Trust* (LIFT), l'Institut de Recherche et de Développement (IRD) et le Centre Internationale pour la Recherche Forestière (CIFOR) (Muafor *et al.*, 2016). Les larves ont été élevées dans des cuvettes en plastique (60 cm de long x 40 cm de largeur x 40 cm de hauteur) contenant comme substrats des stipes ou fibres fraîches de *Raphia hookeri*. Six (6) insectes adultes (3 mâles et 3 femelles) ont été introduits dans les cuvettes situées à environ 80 à 100 cm du sol pour la fécondation et la production des œufs. La température des cuvettes à été maintenue entre 20 et 25°C. Deux jours après, les œufs pondus et les femelles gestantes ont été introduits dans de nouvelles cuvettes contenant des fibres fraîches de *Raphia hookeri* pour la ponte des œufs, l'incubation, l'éclosion des œufs et le développement vers le dernier stade larvaire. Les œufs ont été incubés durant le 3 et le 6 jour et la température des cuvettes était maintenue entre 24 et 25°C. Pour le développement des larves durant le 7 et le 30 jour, la température des cuvettes à été maintenue entre 25 et 30°C. Les substrats de croissance étaient remplacés une fois par semaine. Trois lots de larves ont été élevés et approximativement 100 larves ont été récoltées par lots 25 jours après fécondation des *Rhynchophorus phoenicis* adultes.



### II.1.2. Identification des insectes

Les larves de *Rhynchophorus phoenicis* ont été identifiées morphologiquement en utilisant les clés de description données par Wattanapongsiri (1966), et les chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea* identifiées par les clés de description fournies par Mabossy-Mobouna *et al.* (2013). L'identification morphologique a été confirmée par l'identification génétique effectuée au Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris en utilisant la technique DNA code barre (Hebert *et al.*, 2003). Des échantillons de tissus (petit morceau de patte thoracique) ont été prélevés et leur ADN extrait. Une amplification par PCR et un séquençage du fragment code barre standard de leur gène mitochondrial COI (Cytochrome oxydase 1) ont ensuite été effectués en suivant des protocoles standards au Centre canadien pour l'ADN barcoding de l'Université de Guelph, Canada (Vaglia *et al.*, 2008). Les échantillons des deux spécimens prélevés ont été conservés au Muséum national d'histoire naturelle de Paris, avec les codes EL5922 et EL 5923 respectivement pour *I. epimethea* et *I. truncata*. Les données sur les spécimens, les photographies et les données sur les séquences sont disponibles dans la base de donnée codes-barres de la vie (BOLD (Barcode of Life Datasystems); [www.boldsystems.org](http://www.boldsystems.org)), dans le jeu de données publiquement accessible DS-IMBR01 (<https://doi.org/10.5883/ds-imbr01>). Les séquences sont également disponibles auprès de GenBank avec les codes d'accès MH571151 pour *I. truncata* I et MH571150 pour *I. epimethea*. Les identifications utilisant les deux codes-barres d'ADN générés ont été effectuées à l'aide du moteur d'identification BOLD ([http://www.boldsystems.org/index.php/IDS\\_OpenIdEngine](http://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine)), qui compare les séquences de requête aux séquences existantes dans la base de données.

### II.1.3. Conservation des insectes

Pour chacun des groupes d'insectes, les échantillons collectés ont été acheminés au laboratoire. Une fois au laboratoire, les différents insectes ont été lavés avec de l'eau de robinet et sacrifiés par congélation à  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  pendant 48 heures (Finke *et al.*, 2002). En attente d'analyses ultérieures, les insectes ont été emballés dans des sachets et conservés à cette même température. Pour la mesure des paramètres morphométriques, 10 spécimens de chaque lot de larves ont été sélectionnés au hasard. Ils ont été pesés. Chez les larves de *Rhynchophorus phoenicis*, les autres paramètres tels que la longueur et la largeur de la larve ; la largeur de la capsule céphalique de la larve ont été mesurés. Les analyses des paramètres nutritionnels ont été effectuées sur les échantillons restants.

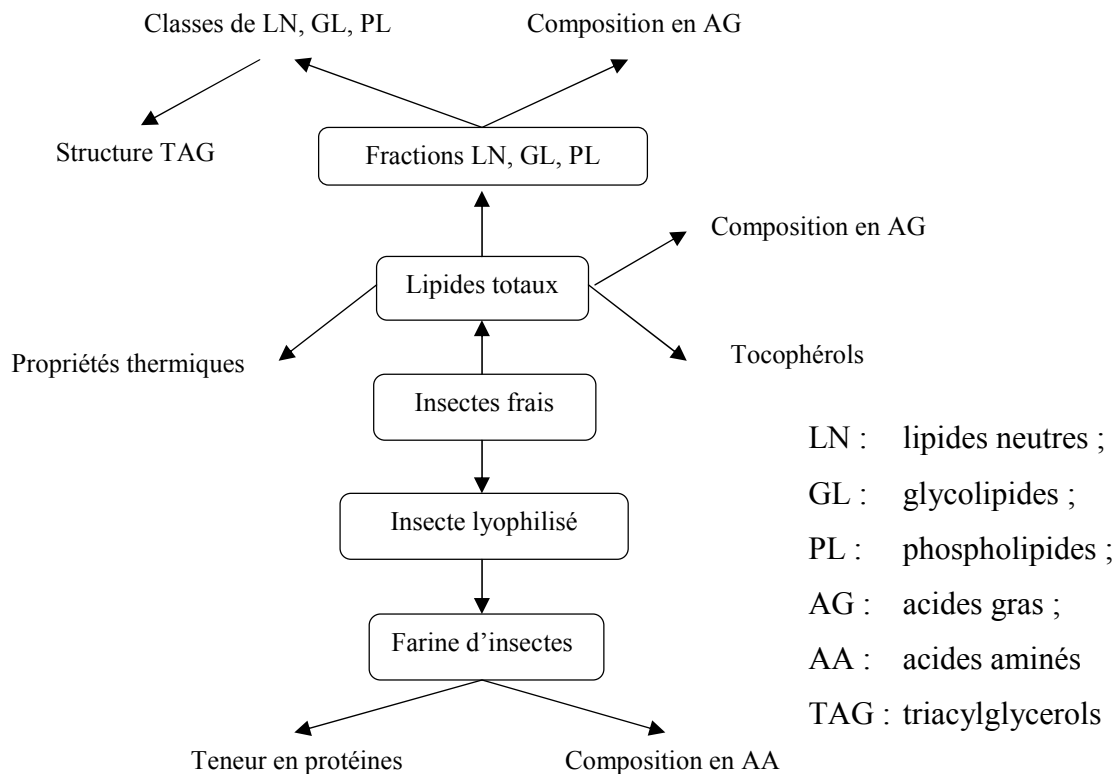
### II.1.4. Caractérisation des insectes

Les trois espèces d'insectes achetées dans les marchés de Yaoundé ont été caractérisées nutritionnellement suivant le schéma expérimental présenté dans la figure 12. Cependant, les propriétés thermiques et les structures triglycéridiques des chenilles *Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea* n'ont pas été caractérisées.

L'étude de l'influence des conditions de croissance sur les paramètres morphologiques et la composition nutritionnelle des larves de *Rhynchophorus phoenicis* a été effectuée en utilisant 3 lots de larves de couleur blanche et sauvages, 3 lots de larves de couleur jaune et sauvages, et enfin 3 lots de larves blanches et issues de l'élevage. Les différents paramètres morphologiques (masse, longueur, largeur, taille de la capsule céphalique) et nutritionnels (Protéines, lipides, tocophérols, carotène) ont été caractérisés.

L'analyse de l'aptitude au stockage et à la conservation des trois insectes a été effectuée par la détermination de l'activité de l'eau et les isothermes d'adsorption des farines des trois insectes aux températures de 20, 30 et 40°C.

Les études de solubilité en phase aqueuse et des propriétés émulsifiantes ont été effectuées sur les extraits aqueux de protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* et les concentrats de protéines des larves de *R. phoenicis*.



**Figure 12:** Schéma expérimental pour la caractérisation nutritionnelle des larves de *Rhynchophorus phoenicis* et des chenilles d'*Imbrasia epimethea* et d'*Imbrasia truncata*

## II.2. PRÉPARATION DES FARINES DES INSECTES

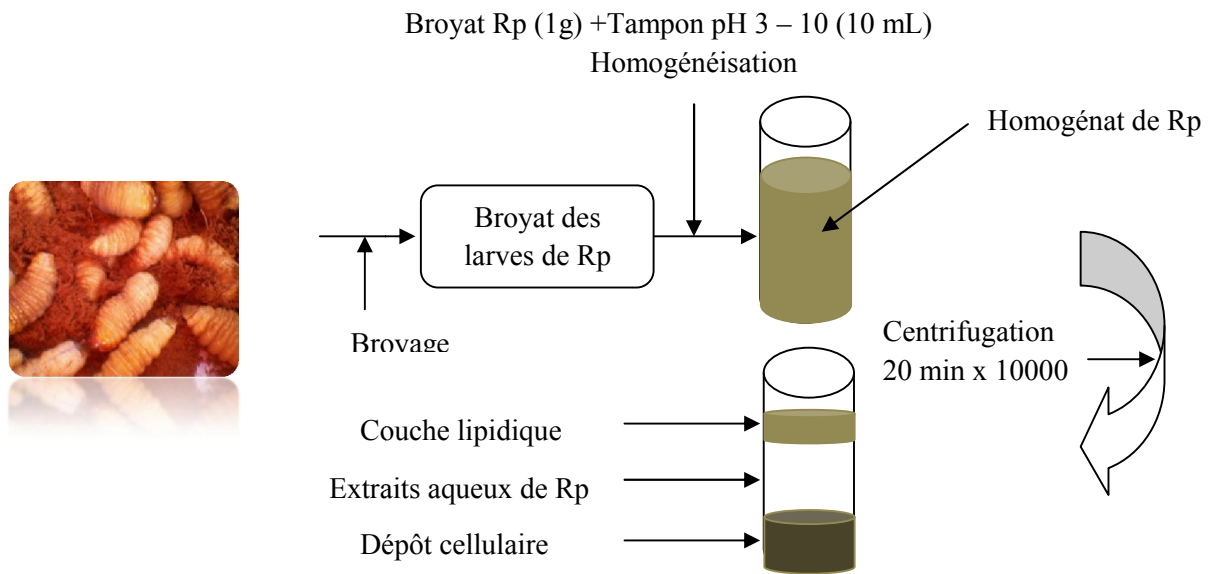
Les insectes ont été décongelés à température ambiante. Les chenilles ont ensuite été éviscérées avant leur déshydratation, ceci afin d'éliminer la partie intestinale, telle que les populations qui les consomment la pratiquent. Environ 100 g d'insectes ont ensuite été pesés, mis dans des barquettes en aluminium et déshydratés dans un lyophilisateur par sublimation (-80 °C ; 72 h). Pour l'obtention des farines d'insectes, les insectes lyophilisés ont été broyés pendant environ 5 min à l'aide d'un broyeur de laboratoire (20000 rpm, M 20, IKA, Imlab, United States). Les farines d'insectes obtenus ont été conditionnés dans des pots de 100 ml avec fermetures étanches et conservées à -20 °C pour analyse ultérieure.

## II.3. PRÉPARATION DES EXTRAITS AQUEUX ET DU CONCENTRAT DE PROTÉINES D'INSECTES

### II.3.1. Préparation des extraits aqueux de protéines de larves de

#### *Rhynchophorus phoenicis*

La méthode modifiée de Xu et Gao (2013) a été utilisée pour préparer les extraits aqueux. Les protéines de larves de *Rhynchophorus phoenicis* ont été extraites en homogénéisant pendant 1 heure et à 4 °C, 1 g de broyat de larves dans 10 mL d'eau distillée ou de solution tampon appropriée (pH 3 - 10, 100 mM, Annexe 2). L'homogénat a ensuite été centrifugé à 10000 x g (pendant 20 min, 4 °C) min. Trois phases ont été recueillies. Une phase lipidique supérieure, une phase aqueuse intermédiaire et un dépôt. La phase lipidique supérieure a été éliminée, la phase aqueuse est recueillie représentait l'extrait aqueux de protéines des larves de *R. phoenicis* (Figure 13). Sur les extraits aqueux de protéines, la teneur en protéines, la teneur et la composition en classe de lipides (Lipides neutres et lipides polaires) ont été déterminées. Les extraits aqueux ont ensuite été utilisés pour la préparation des émulsions.



**Figure 13:** Schéma de préparation des extraits aqueux de protéines

### II.3.2. Préparation du concentrat de protéines de *Rhynchophorus phoenicis*

Le concentrat de protéines des larves de *R. phoenicis* a été préparé selon la méthode de Liang & Tang, (2013) avec de légères modifications. La méthode est basée sur l'extraction des protéines en milieu alcalin suivie d'une précipitation en milieu acide. La farine de larves de *R. phoenicis* lyophilisée (100 g) est dispersée dans de l'eau distillée à un ratio de 1/10 (p/v) et la suspension agitée (1h; 45 ° C). Le pH de l'homogénat a été ajusté à 9,0 avec du NaOH 2M ; l'ensemble a été agité (1h, 25 °C), puis centrifugé (10000 x g, 30 min) pour éliminer les substances insolubles. Le pH du surnageant a été ajusté à 4,5 avec du HCl 2 M, puis centrifugé (5000 x g, 20 min). Le précipité obtenu a été ensuite lavé avec de l'eau distillée et dispersé dans de l'eau distillée. Après ajustement du pH à 7,5 avec du NaOH 2M. La solution finale a été lyophilisée pendant 72 h pour obtenir la poudre de protéines.

## **II.4. MÉTHODES D'ANALYSES DE LA COMPOSITION CENTÉSIMALE**

### **II.4.1. Détermination des conditions de mesure de la teneur en eau par analyse thermogravimétrique**

En prélude à l'analyse de la composition centésimale, les conditions de mesure de la teneur en eau des farines d'insectes ont été déterminées. Pour cela, la cinétique de perte en masse des farines d'insectes a été évaluée à différentes températures, en utilisant un analyseur thermogravimétrique, ceci afin de déterminer la température optimale de mesure de la teneur en eau.

#### **II.4.1.1. Principe**

Le principe de l'analyse thermogravimétrique est basée sur la mesure précise du changement de masse d'un échantillon à une température donnée et temps déterminé.

#### **II.4.1.2. Mode opératoire**

Environ 10 à 50 mg de poudre d'insectes ont été placés sur le module de pesée préalablement taré, présent sur l'analyseur thermogravimétrique TGA 2050 CE. La mesure de la perte de masse en fonction du temps et à une température fixe s'est effectuée de façon automatique après programmation dans le logiciel d'analyse Universal Analysis. Les données, automatiquement transmises à l'ordinateur et enregistrées ont permis de visualiser les cinétiques de perte de substances volatiles et de déterminer la perte de masse à un temps défini. L'analyse a été effectuée à différentes températures (80-130 °C) et pour une durée d'au moins 4 heures jusqu'à obtention d'une faible variation de la masse.

### **II.4.2. Détermination de la teneur en eau**

#### **II.4.2.1. Principe**

La méthode est basée sur la déshydratation à température définie, de la masse connue d'un échantillon, en utilisant une étuve, jusqu'à obtention d'une masse constante.

#### II.4.2.2. Mode opératoire

L'analyse a été effectuée en utilisant une méthode AOAC (AOAC, 1996). Environ 3 g de farine d'insectes ont été pesés dans des creusets pour matière sèche préalablement tarés ( $M_0$ , g) et la masse a été notée ( $M_1$ , g). Les creusets ont ensuite été placés dans une étuve à 103 °C. Après environ 4 heures dans l'étuve, les creusets contenant les poudres d'insectes ont été retirées de l'étuve ; mis dans un dessiccateur pendant 30 min pour refroidissement et pesés. La masse obtenue a été notée ( $M_2$ , g). La manipulation a été répétée plusieurs fois jusqu'à obtention du poids constant.

#### II.4.2.3. Calcul et expression des résultats

La teneur en eau des farines a été obtenue à partir de l'équation 2:

$$H_F = \frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} \times 100 \quad (2)$$

Où  $H_F$  est la teneur en eau des farines (g/100 g de farine d'insecte)

Pour déterminer la teneur en eau des insectes frais, la teneur en eau des farines d'insectes a été rapportée à la matière fraîche en tenant compte de la quantité d'eau perdue par les insectes frais lors de l'étape de lyophilisation (Annexe 3).

### II.4.3. Détermination de la teneur en cendres

#### II.5.3.1. Principe

La méthode de détermination de la teneur en cendre est basée sur l'oxydation de toute la matière organique par incinération dans un four à 550 °C pendant au moins 24 heures jusqu'à obtention de poids constant.

#### II.5.3.2. Mode opératoire

L'analyse a été effectuée en utilisant une méthode AOAC (AOAC, 1996). Les matières sèches des farines d'insectes préalablement obtenues ont été transférées dans un four préalablement porté à une température de 150 °C. La masse du creuset vide, notée ( $M_0$ ) ; et celle du creuset contenant la matière sèche notée ( $M_1$ ) ont été déterminées. La température du four a été progressivement augmentée par paliers successifs de 50 °C jusqu'à atteindre 550 °C. La matière organique a ensuite été incinérée durant toute une nuit (pendant environ 15 h). La température du four a ensuite été montée à 900 °C pendant une heure pour permettre une

combustion totale des poudres d'insectes. A la fin de l'analyse, la température du four a été baissée à 180 °C pour permettre un retrait sans brûlure des creusets du four. Les creusets contenant les résidus de cendres ont été transférés dans un dessiccateur et refroidis pendant environ 30 min. La masse de cendre a été pesée et notée ( $M_2$ ).

### II.5.3.3. Calcul et expression des résultats

La teneur en cendres des échantillons a été calculée en utilisant la formule de l'équation 3:

$$C\% = \frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} \times 100 \quad (3)$$

Avec C% : teneur en cendres (grammes pour 100 grammes de matière sèche)

$M_0$ : Masse en g du creuset vide ;  $M_1$  : Masse en g du creuset et des échantillons avant incinération ;  $M_2$ : Masse en g du creuset avec les cendres après incinération

## II.4.4. Extraction des lipides et détermination de la teneur en lipides totaux

### II.4.4.1. Principe

L'extraction est basée sur l'utilisation à froid d'un mélange solvant dichlorométhane/méthanol dans des proportions 2 :1 (v/v). Le méthanol provoque la rupture des liaisons lipides-protéines et le dichlorométhane solubilise les lipides. Les lipides extraits sont quantifiés par pesée.

### II.4.4.2. Mode opératoire

#### II.4.4.2.1. Préparation des échantillons d'insectes et extraction des lipides totaux des insectes

La méthode utilisée est celle de Folch *et al.* (1957). Environ 10 g d'insectes frais ont été broyés avec un hachoir ont été pesés à 0,1 mg près. Le broyat a été ensuite placé dans un tube à vis de 100 mL dans lequel est un volume de 70 mL de solvant dichlorométhane/méthanol (2/1, v/v) a été ajouté. Le mélange obtenu a été mixé pendant 10 min à l'aide d'un broyeur homogénéisateur (Silent Crusher, Heidolph, Grosseron, France). L'homogénat obtenu a ensuite été filtré sous vide, sur verre fritté de porosité 4 (taille de pores de 10- 16  $\mu$ m). L'opération a été effectuée deux fois. Les différents filtrats obtenus ont été recueillis dans une ampoule à décanter et lavés avec une solution aqueuse à 0,73% de NaCl à

¼ du volume du solvant pour éliminer les contaminants non lipidiques. L'ensemble du mélange a été laissé au repos une nuit pour décantation. La phase inférieure obtenue a été filtrée sur du sulfate de sodium anhydre et recueillie dans un ballon. A la phase supérieure ont été ajoutés 50 ml de dichlorométhane. Le mélange a été laissé pour décantation pendant environ 30 min et la phase inférieure obtenue a également été filtrée sur du sulfate de sodium anhydre. Le filtrat a été recueilli dans le même ballon que précédemment. Le solvant contenu dans le ballon a été ensuite éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide. L'extrait lipidique a été séché sous courant d'azote et pesé. La teneur en lipides a été exprimée en grammes pour 100 g d'insectes frais.

### **II.4.4.2.2. Extraction des lipides des extraits aqueux de protéines de *Rhynchophorus phoenicis* aux pH 3 à 10.**

Les lipides ont été extraits de l'extrait aqueux de protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* par la méthode de Bligh & Dyer (1959). Un millilitre d'extrait aqueux a été mélangé à 2,5 mL de méthanol et 1,25 ml de chloroforme. Le mélange obtenu a été vortexé pendant 5 minutes et additionné à 1, 875 mL de chloroforme. Après une nouvelle phase d'agitation au vortex pendant 5 min, l'ensemble a été centrifugé à 2000 x g pendant 20 min et à 4 ° C. La phase chloroformique a été récupérée avec une pipette Pasteur et a été déposée dans un ballon à fond rond préalablement taré. La phase aqueuse a été ensuite lavée deux fois avec 3,5 ml de chloroforme. Les phases chloroformiques obtenues après lavage ont été regroupées à chaque fois avec la première phase chloroformique. Le chloroforme a ensuite été évaporé en utilisant d'abord un évaporateur rotatif sous vide, puis sous un courant d'azote. Le ballon contenant l'extrait lipidique séché a été pesé à nouveau. La différence de masse entre le ballon contenant l'extrait lipidique et le ballon vide a permis d'obtenir la masse de lipide dans l'extrait aqueux. L'extrait lipidique a été solubilisé dans un volume connu de (solvant), et conservé à - 20 °C pour analyses ultérieures. La teneur en lipide a été exprimée en g/mL d'extrait aqueux.

### **II.4.4.3. Calcul et expression des résultats**

La différence de masse entre le ballon vide avant et après extraction des lipides rapportée à la masse de l'échantillon de départ a permis de calculer la teneur en lipides de l'échantillon suivant l'équation 4:



$$L\% = \frac{M_2 - M_1}{M_0} \times 10 \quad (4)$$

- où L% représente la teneur en matières grasses (g/100 g de matières sèches)  
M<sub>2</sub> Masse du ballon sec après extraction des lipides (contenant les lipides totaux)  
M<sub>1</sub> Masse du ballon vide avant extraction des lipides  
M<sub>0</sub> est la masse de la prise d'essai en g de matière sèche.

#### **II.4.4.4. Conservation des extraits lipidiques**

Les lipides totaux obtenus après extraction ont été récupérés par dissolution dans 10 mL de dichlorométhane et conservés dans des tubes étanches de 10 mL et à - 20 °C de manière à les protéger contre toute dégradation, notamment l'oxydation.

#### **II.4.5. Détermination de la teneur en protéines**

La détermination des teneurs en azote des différents insectes a été réalisée à UMR 1019 UNH (Unité de Nutrition Humaine), INRA, Université d'Auvergne (France) selon la méthode de Dumas (Dumas, 1831) à l'aide de l'analyseur d'azote Elementar type Vario isotope cube. La teneur en azote des concentrats de protéines a également été effectuée en utilisant la méthode de Dumas. La teneur en protéines des extraits aqueux de protéines ont été réalisées suivant la méthode de l'acide biscinchroninique.

##### **II.4.5.1. Détermination de la teneur en protéines des farines d'insectes et du concentrat de protéines**

###### **II.4.5.1.1. Principe**

Le principe de l'analyse consiste en la combustion de l'échantillon (enfermé dans une feuille d'étain) dans un four à haute température (1150 °C) et dans un milieu riche en Oxygène. Les gaz issus de la combustion sont alors séparés, piégés chimiquement et purifiés. Les halogènes sont piégés sur de la laine d'argent située dans le tube de réduction. Les gaz sulfureux sont piégés au contact avec le tungstène métallique dans le tube de réduction combustion. La vapeur d'eau est piégée sur deux tubes desséchants successifs après un condenseur physique. De l'oxyde de cuivre CuO est positionné en sortie du tube de réduction afin de ré-oxyder le CO en CO<sub>2</sub> si besoin. Les N<sub>ox</sub> sont réduits en N<sub>2</sub> (tungstène dans le tube de combustion) et le flux gazeux est dirigé vers le détecteur thermo-conductif. La

détermination de la concentration d'azote/protéines se fait en comparant la réponse du gaz vecteur  $\text{CO}_2 + \text{N}_2$  par rapport à la référence  $\text{CO}_2$ . Le détecteur thermo-conductif fonctionne sur le principe d'une différence de conductivité thermique entre deux flux gazeux. Dans une première chambre s'écoule le flux gazeux de référence ( $\text{CO}_2$ ). Dans la seconde, s'écoule le mélange gazeux  $\text{CO}_2 + \text{N}_2$ . La différence de conductivité entre les deux gaz est alors intégrée et quantifiée.

#### **II.4.5.1.2. Mode opératoire**

Le dosage d'azote est réalisé sur des échantillons de farines d'insectes. La prise d'essai varie de 5 à 40 mg de poudre d'insecte sur un échantillon homogène. La préparation de l'échantillon s'est déroulée comme suit : Environ 5 mg de farine d'insecte ont été pesés sur une feuille de papier sans azote (feuille d'étain) préalablement tarée. La feuille a ensuite été repliée pour enfermer l'échantillon et l'ensemble a été pressé en utilisant une presse manuelle.

#### **II.4.5.1.3. Calcul expression des résultats**

Un facteur de conversion préalablement azote protéines a été calculé en divisant la somme des résidus de tous les acides aminés par la teneur en azote obtenue par la méthode de Dumas (Dumas, 1831). Un facteur de conversion préalablement calculée a été utilisé pour convertir la teneur d'azote total en teneur en protéines. Les analyses ont été effectuées en triple et l'écart entre 2 répétitions est inférieur à 1%. Les résultats obtenus sont exprimés en g/100 g de farines d'insectes et convertis en g/100 g d'insectes secs ou g/100 g d'insectes frais.

### **II.4.5.2. Dosage des protéines des extraits aqueux de protéines par la méthode à l'acide biscinchroninique**

#### **II.4.5.2.1. Principe**

Cette méthode est basée sur une réaction colorimétrique. Elle consiste en une réduction des ions  $\text{Cu}^{2+}$  en  $\text{Cu}^+$  par les liaisons peptidiques des protéines. L'acide biscinchroninique (BCA) chélate les ions  $\text{Cu}^+$  avec une très forte spécificité pour former un complexe soluble coloré en violet qui absorbe la lumière à une longueur d'onde de 562 nm. L'absorbance est directement proportionnelle à la concentration du complexe et donc à la concentration protéique.

#### **II.4.5.2.2. Mode opératoire**

La méthode utilisée est celle de Smith *et al.*, 1985. Une gamme d'étalon du sérum bovin albumine (BSA, 2 mg/mL, UP 36859 A, Uptima, France) allant de 0 à 1000 µg/mL et les dilutions d'échantillons à analyser ont été préparées en utilisant le même tampon. Le réactif, constitué de 50 volumes de réactif A (BC Assay Protein quantification Kit UP 95424A, Uptima, France) et 1 volume de réactif B (CuSO<sub>4</sub>, BC Assay Protein quantification Kit UP 95425 A, Uptima, France) a été préparé extemporanément. µg/mL. Dans chaque puits d'une microplaque (92 puits, 250 µL de volume), 25 µL d'échantillon ou de solution étalon et 200 µL de réactif ont été introduits. Le zéro ou blanc sans protéines correspond au zéro de la gamme étalon. La plaque a ensuite été couverte et mise sous agitation à 37 °C pendant 30 min. L'absorbance a été lue à 562 nm avec un spectrofluorimètre lecteur de microplaques (Biotech Epoch), les données étant enregistrées avec le logiciel Gen 5.

#### **II.4.5.2.3. Calcul et expression des résultats**

Les absorbances mesurées pour la gamme étalon et pour l'échantillon ont été défalquées de l'absorbance du blanc pour avoir l'absorbance réelle de chaque échantillon. La courbe d'étalon a ensuite été tracée pour permettre de déterminer la concentration en protéine dans chaque échantillon (Annexe 4). La concentration de protéine a été exprimée en en mg « équivalent BSA » par millilitre (mg/mL).

#### **II.4.5.3. Électrophorèse des protéines sue Gel de Polyacrylamide en conditions dénaturantes (SDS-PAGE)**

L'électrophorèse en conditions dénaturantes a été réalisée sur les extraits aqueux de protéines et sur les concentrats de protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis*, préparées à différents pH (3,0 à 10,0), en vue de déterminer les types de protéines extraites à ces pH.

##### **II.4.5.3.1. Principe**

La technique de SDS-PAGE (électrophorèse en gel de polyacrylamide en présence de dodécylsulfate de sodium) consiste à faire migrer des protéines dans un gel sous l'influence d'un champ électrique ; la différence entre leurs vitesses de migration permettant leur séparation et éventuellement leur identification. Cette technique permet d'établir la cartographie des masses moléculaires des protéines. Elle utilise le SDS (détergent anionique) qui a deux fonctions : d'une part, il permet de dissocier les protéines agrégées et, d'autre part,

il leur confère une charge globale négative, permettant la séparation des protéines essentiellement en fonction de leur poids moléculaire. Son action n'est cependant complète qu'en présence d'un réducteur de ponts disulfures, le 2-mercaptoéthanol. Le SDS-PAGE a été utilisée pour déterminer la distribution du poids moléculaire des protéines dans les différents extraits aqueux de protéines et les solutions d'isolats de protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis*.

#### II.4.5.3.2. Mode opératoire

La méthode utilisée a été celle de Laemmli (1970). L'électrophorèse des protéines a été réalisée en utilisant des gels en gradient de polyacrylamide préalablement préparée et composés de 12% d'acrylamide Phastgels et 20% d'acrylamide Phastgels. Les marqueurs (15-250 kDa) appliqués ont été commandés auprès de Bio-Rad (SDS PAGE Molecular Weight Standards, Low Ranger). Les solutions protéiques ont été ajustées à la concentration de 1 mg/ml et diluées dans un rapport 1/1 (v/v) avec le tampon d'échantillon contenant 0,5 N Tris-HCl pH 6,8 et 10% (p/v) de SDS; 30% (v/v) de glycérol, 4% (v/v) de bleu de bromophénol, 8% (v/v) de  $\beta$ -mercaptoéthanol. Le mélange obtenu a ensuite été chauffé à 100 ° C pendant 5 minutes avant de les appliquer sur le gel. Le tampon de migration était le même que celui utilisé pour les extraits aqueux de protéines.

Après migration, les bandes protéiques invisibles des gels ont été préalablement fixées avec une solution à 2 % (v/v) d'acide phosphorique et 50% (v/v) d'éthanol ; puis lavées avec de l'acide phosphorique 2% (v/v) pendant 1 h. Une sensibilisation de 20 min a ensuite été effectuée avec une solution contenant 15% (p/v) de sulfate d'ammonium, 17 % d'éthanol (v/v), acide phosphorique 2% (v/v). Cette sensibilisation a été suivie d'une coloration d'une nuit dans une solution de Bleu de Coomassie G 250 à 0,03% (p/v). Après coloration, les gels ont été décolorés par rinçage successif avec de l'eau distillée (2 x 20 min), de l'éthanol 20% (v/v) et de l'eau distillée jusqu'à apparition des bandes de protéines.

#### II.4.5.3.3. Expression des résultats

Après l'étape de révélation, les gels ont été scannés et les images ont été transférées à un ordinateur pour analyse en utilisant le logiciel Multi Gauge V3.0. Les différentes bandes de protéines ont été identifiées par comparaison de leur poids moléculaires avec ceux des standards

## II.5. ANALYSE DE LA COMPOSITION EN ACIDES AMINÉS

Le dosage des acides aminés a été effectué à l'UMR 1019 UNH (Unité de Nutrition Humaine), INRA, Université d'Auvergne (France).

### II.5.1. Principe

Les acides aminés sont libérés par hydrolyse dans l'acide chlorhydrique, à 120 °C ou dans le Ba(OH)<sub>2</sub> (4N, 110 °C, 16 h), par la méthode à reflux. Pour la plupart des acides aminés 24 h d'hydrolyse sont suffisantes pour rompre les liaisons peptidiques. Cependant, la valine et l'isoleucine sont très longues à être libérés et nécessitent un temps d'hydrolyse de 48 h. Les acides aminés soufrés (cystéine et méthionine) sont plus ou moins dégradés par l'hydrolyse dans l'acide chlorhydrique, et une oxydation préalable de ces acides aminés par l'acide performique est nécessaire pour les protéger lors de l'hydrolyse acide. Après hydrolyse, les acides aminés sont analysés par chromatographie d'échange d'ions.

### II.5.2. Mode opératoire

La composition en acides aminés des farines de *Rhynchophorus phoenicis* a été effectuée avec un analyseur d'acides aminés (Hitachi high-speed amino acid analyser L8900, Hitachi, Japan) couplé à une colonne pour chromatographe d'échange d'ions. Environ 100 g d'échantillons de farine d'insectes ont été pesés et additionnés d'un standard interne (norleucine) pour permettre la quantification des acides aminés. Quatre conditions différentes d'hydrolyses ont été effectuées pour permettre de récupérer les différents acides aminés présents. Trois hydrolyses acides (HCl 6 N, 110 °C) ont été effectuées. Une hydrolyse de 24 h pour libérer la plupart des acides aminés ; une hydrolyse de 24 h après oxydation en présence de l'acide performique pour les acides aminés soufrés et une hydrolyse de 48 h pour les acides aminés à chaînes latérales ramifiées (la valine et l'isoleucine). En plus, une hydrolyse alcaline (Ba(OH)<sub>2</sub>, 4 N, 110 °C, 16 h) a été effectuée pour la détermination du tryptophane. Immédiatement après hydrolyse, le HCl (ou Ba(OH)<sub>2</sub>) est éliminé sous vide à l'aide d'un évaporateur concentreur (Genevac 2-EZ). Les acides aminés sont ensuite dissouts dans le tampon d'élution et séparés par chromatographie d'échange d'ions (Hitachi L8900, Science Tec, Villebon-sur-Yvette, France). Vingt microlitres de l'échantillon sont injectés dans la colonne à l'aide d'un auto sampler à 4 °C. La phase stationnaire était composée de cations de copolymère de polystyrène-divinylbenzène (125 mm L x 4 mm ID, Li-Form, PEEK), et la phase mobile constituée de différents tampons acétate de lithium de pH croissant

(2,94 à 10,51). Les acides aminés séparés ont été dérivés avec la ninhydrine et détectés à 570 nm (coloration pourpre), excepté la proline qui a été détectée à 440 nm (coloration jaune). La cystéine et la méthionine ont été détectées comme acide cystique et méthionine sulfone respectivement. L'intensité de la coloration était proportionnelle à la quantité d'acides aminés présents dans le milieu réactionnel. Cette intensité a été mesurée par un colorimètre.

### **II.5.3. Calcul et expression des résultats**

Les résultats ont été exprimés soit en mg/g de protéines d'insectes, soit en mg/100 g d'insectes secs, soit en mg/100g de d'insectes frais. Les scores des acides aminés ont été définis comme ratio entre la teneur de l'acide aminé dans la farine d'insecte sur la teneur de l'acide aminé de la protéine de référence.

## **II.6. ANALYSE DES LIPIDES**

### **II.6.1. Dosage des tocophérols**

Sous les termes de tocophérols sont regroupés un ensemble de 4 isomères de  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$  tocophérols. Ils sont encore connus sous le terme de Vitamine E avec comme fraction la plus active l' $\alpha$ -tocophérol.

#### **II.6.1.1. Principe**

A partir d'une prise d'essai lipidique solubilisée dans l'hexane et sans saponification, les différents isomères des tocophérols ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ ) ont été séparés par chromatographie d'adsorption en phase normale à l'aide d'une chaîne Chromatographe liquide haute performance, puis détectés grâce à un détecteur de fluorescence. La détermination quantitative a été réalisée par étalonnage avec une gamme de  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$  tocophérols de concentration allant de 0,5 à 1,5  $\mu\text{g/mL}$ . Les tocophérols étant fluorescents, les quantités des tocophérols sont déterminées grâce à cet étalonnage externe en traçant, après séparation des différents isomères, l'aire sous leur pic d'émission en fonction des concentrations croissantes d'isomères standards.

#### **II.6.1.2. Mode opératoire**

Les isomères de tocophérols ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$  tocophérols) ont été identifiés et quantifiés à partir des lipides totaux suivant la méthode AOCS Ce-8-89 (AOCS, 1998) modifiée par Kabri

*et al.* (2013). La séparation des isomères de tocophérols ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$  tocophérols) s'est effectuée par Système HPLC Ultimate 3000RS (Dionex, Voisins Le Bretonneux, France) équipé d'une colonne de silice polaire Advantage 2 (250 mm x 3 mm, 3  $\mu$ m) et quantifiée avec un détecteur de fluorescence (RF2000, Dionex. excitation; 295 nm; émission: 330 nm). La phase mobile consistait en du n-hexane/tert-butyle méthyle éther (90: 10; v/v). Après solubilisation, 20  $\mu$ L d'extrait lipidique solubilisé dans du n-hexane (100 mg/mL dans le n-hexane) ont été injectés et élués en mode isocratique et avec un débit de 0,5 mL/min. La température de l'échantillon est maintenue à 10 °C et celle de la colonne à 30 °C. Deux solutions standards contenant soit les isomères de tocophérols (tocophérol set 613424; pureté  $\geq$  95% ; Calbiochem, Merk Chimie, Fontenay sous bois, France) ; et une solution standard de  $\gamma$ -tocotriénol (Ref. T0702, Sigma-Aldrich Calbiochem, Germany) ont été utilisées pour établir les courbes étalons. Les courbes de calibration linéaire, effectuées chaque jour de l'analyse, ont été obtenues à partir à partir des différents isomères de tocophérols ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ -tocophérol ; 5 – 700 ng dans n-hexane), ( $R^2 > 0,99$ ; limite de détection  $\approx$  5 ng ; Limite de quantification  $<$  10 ng ; RSD  $<$  1.5%). Des blancs ont été analysés simultanément avec les échantillons pour vérifier la performance de la colonne. Les composés ont été identifiés par comparaisons de leur temps de rétention avec ceux des standards.

### II.6.1.3. Expression des résultats

Les analyses ont été effectuées sur trois extraits lipidiques différents et les résultats ont été présentés sous forme de moyenne  $\pm$  écart type. Ils ont été exprimés soit en  $\mu$ g/g lipides, soit en mg/100g de matières humides.

### II.6.2. Dosage des caroténoïdes

Le dosage des caroténoïdes a été effectué sur les extraits lipidiques des larves de *Rhynchophorus phoenicis* jaune sauvage, blanche sauvage et blanche élevage. L'objectif était d'identifier la présence de la provitamine A chez les larves, et d'expliquer la coloration jaune des larves par la présence des caroténoïdes.

#### II.6.2.1. Principe

Les caroténoïdes dans les extraits lipidiques d'insectes ont été dosés par la technique de spectrophotométrie UV-visible qui utilise la loi de Beer Lambert. Absorbance =  $\epsilon$ cl. A la

longueur d'onde maximale d'absorption du  $\beta$ -carotène, l'absorbance des extraits lipidiques des différents morphotypes de larves est proportionnelle à la quantité de caroténoïdes présents dans l'extrait.  $l$  est la longueur de la cuve spectrophotométrique ;  $c$  : la concentration molécule de la solution et  $\epsilon$  : le coefficient d'extinction moléculaire de la solution.

#### **II.6.2.2. Mode opératoire**

Les spectres d'absorption (de 300 nm à 600 nm) des extraits lipidiques (186,2 – 280,5 mg/mL) dissouts dans le chloroforme (chloroforme stabilisé Éthanol pour HPLC, Bisolve, France) ont préalablement été déterminés en utilisant un spectrophotomètre (Shimadzu UV-1800, Japon). L'absorbance maximale a ainsi été déterminée. Ces spectres ont été comparés avec celui du  $\beta$ -carotène afin de s'assurer qu'ils présentent des pics caractéristiques à celui du carotène.

#### **II.6.2.3. Calcul et expression des résultats**

La quantification a été faite en utilisant une courbe d'étalonnage (Figure 47, Annexe 4) de  $\beta$ -carotène standard ( $\beta$  – carotène Sigma  $\geq 97\%$ , BCBR8106V) de concentration variant entre 1 et 7  $\mu\text{mol/L}$ . L'intensité de coloration des extraits lipidiques des larves (traduit par l'absorbance après lecture au spectrophotomètre à la longueur d'onde maximale d'absorption du  $\beta$ -carotène), étant proportionnelle à la quantité de carotène présente dans chaque extrait lipidique. Les résultats obtenus étaient les moyennes de trios analyses et ont été exprimés en  $\mu\text{g}$  caroténoïdes/100 g de larves fraîches.

### **II.6.3. Fractionnement des lipides totaux en lipides neutres, glycolipides et phospholipides.**

Le fractionnement des extraits lipidiques totaux permet de déterminer leurs proportions en lipides neutres, glycolipides et phospholipides. Sur les différentes fractions obtenues, les analyses de composition en acides gras et en classes de lipides ont été effectuées

#### **II.6.3.1. Principe**

Le fractionnement est effectué par chromatographie d'adsorption sur une colonne de silice. Les extraits de lipides totaux sont déposés en tête de colonne. Les différentes fractions lipidiques sont séparées en fonction de leur affinité à l'égard de la phase mobile et de la phase stationnaire utilisée. Les fractions présentant une affinité pour la phase mobile seront éluées



tandis que les autres seront retenues dans la colonne. Les lipides neutres sont élués avec le dichlorométhane (solvant apolaire), les glycolipides avec de l'acétone (solvant polaire) et les phospholipides avec le méthanol (solvant polaire).

### **II.6.3.2. Mode opératoire**

Les extraits lipidiques des larves de *Rhynchophorus phoenicis* ont été séparés en utilisant des cartouches d'extraction en phase solide, tandis que les extraits de lipides des chenilles *Imbrasia epimethea* et *Imbrasia truncata* ont été séparés sur des colonnes de silice préalablement préparées.

#### **II.6.3.2.1. Fractionnement par extraction en phase solide**

La méthode utilisée a été celle de Juaneda et Rocquelin (1985). Les lipides totaux ont été séparés par extraction en phase solide avec une colonne remplie de 100 mg gel de silice (Supelclean LC-Si, Supelco Bellefonte, PA). Les cartouches ont tout d'abord été conditionnées avec 2 mL de méthanol et ensuite 5 mL de chloroforme. L'extrait lipidique (100 mg dans 1 mL de chloroforme) a été élué dans les cartouches et sous vide. La fraction lipides neutres a été éluée en premier en utilisant 6 mL de chloroforme, la fraction glycolipides a été éluée ensuite avec 6 mL d'acétone et enfin la fraction phospholipides a été éluée avec 6 mL de méthanol. Les différentes fractions ont été collectées et séchées sous courant d'azote, puis pesées. Les fractions ont ensuite été ré-dissoutes dans 10 mL de chloroforme et conservées à -20 °C jusqu'à analyse ultérieure.

#### **II.6.3.2.2. Fractionnement sur colonne de silice**

La méthode de fractionnement utilisée est celle de Kates (1972).

##### **II.6.3.2.2.1. Préparation de la colonne**

L'acide silicique (MP Silica 63-100, 60A, MP Biomedicals) est préalablement mis à activer pendant 24 h à 104 °C. Quatre grammes sont ensuite pesés et mélangés à 2 g de célite (silice diatomée, calcinée, activée, Acros organics de Fisher Scientific) qui permettront d'éviter le colmatage de l'acide silicique sur les parois de la colonne. Puis, le mélange obtenu est homogénéisé en présence d'un volume de 50 mL de chloroforme/méthanol (v/v) pour permettre le conditionnement. Le mélange obtenu est versé dans une colonne en verre (hauteur: 36 cm; diamètre: 2.5 cm; volume: 176 cm<sup>3</sup>) muni dans sa partie inférieure d'un

tampon de laine de verre et d'un robinet. L'excès de solvant est élué et 50 mL de chloroforme sont ensuite ajoutés et élués jusqu'à épuisement. La colonne est prête pour l'éluion.

#### **II.6.3.2.2. Éluion des fractions**

Deux cent milligrammes de lipides dissous dans environ 1 mL de chloroforme ont été ajoutés en tête de colonne. La fraction lipides neutres a été éluee avec 150 mL de chloroforme, la fraction glycolipides + sulpholipides avec 100 mL d'acétone et la fraction phospholipides avec 100 mL de méthanol. Les différentes fractions récupérées dans des ballons préalablement tarés. Les solvants de chaque éluat ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide, puis les différentes fractions sont séchées sous flux d'azote et pesées.

#### **II.6.3.3. Calcul et expression des résultats**

Le rendement du fractionnement et le pourcentage des fractions a été obtenu tel que décrit précédemment. Les différentes fractions ont été récupérées dans du chloroforme et conservées à  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  en attente d'analyse.

### **II.6.4. Analyse des classes de lipides neutres, glycolipides et phospholipides**

#### **II.6.4.1. Principe**

La détermination des différentes classes des fractions lipides neutres, phospholipides et glycolipides s'est effectuée par chromatographie liquide haute performance (HPLC). Les différentes fractions contenant les composés à séparer (solutés) sont mises en solution dans le solvant approprié. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Le mélange à analyser est injecté puis transporté, sous l'effet de la pression, le long de la phase stationnaire du système chromatographique par la phase mobile. Suivant la nature des molécules, les composés en solution sont répartis suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne, grâce à un détecteur approprié, les différents solutés sont matérialisés chacun par un pic. Le pic permet d'identifier le composé par comparaison de son temps de rétention avec celui d'un standard, tandis que l'aire du pic permet de quantifier le composé par comparaison de son aire avec celui d'un étalon interne ou externe.

#### II.6.4.2. Mode opératoire

Les fractions lipides neutres et phospholipides purifiées par extraction en phase solide ont été ensuite analysées par Chromatographie liquide haute performance (HPLC) avec un système modulaire UltiMate 3000 RS HPLC (Dionex, Voisins Le Bretonneux, France) équipé d'une colonne Uptisphere Stategy (150 mm x 4,6 mm, 2,2  $\mu\text{m}$ , 100 Å, Interchim, Montluçon, France) et couplé à un détecteur évaporatif à diffusion de lumière (DEDL) Sedex 85 (Sedere SA, Alfortville, France). Un logiciel de gestion de chromatographie Chromeleon® (Dionex) a été utilisé pour le contrôle du système et le traitement des données. Chaque fraction lipidique (5  $\mu\text{g}$  dans 10  $\mu\text{L}$  de chloroforme) a été élué séparément en utilisant un gradient de solvant allant du solvant A: chloroforme au solvant B: méthanol / ammoniacque Eau) / chloroforme (92: 7: 1, v / v / v). Le gradient a commencé avec 100% de A à 20% B en 3 min, et est ensuite augmenté à 100% B en 9 min. Après un plateau à 100% B pendant 3 min (programmé pour l'analyse de phospholipides uniquement), la colonne a été équilibrée dans 100% de A pendant 3 min. L'analyse a été effectuée à 30 °C avec un débit de 1 mL/min. La température du DEDL a été fixée à 40 °C, la pression du gaz nébuliseur (air séché et filtré) a été fixée à 3 bars et la sensibilité du photomultiplicateur a été réglée pour un gain de 6.

#### II.6.4.3. Calcul et expression des résultats

Les classes de lipides ont été identifiées par comparaison de leur temps de rétention avec ceux des standards et leurs concentrations calculées en utilisant la courbe d'étalonnage obtenue avec chaque standard. La trioléine, la dioleine, la monooléine, l'acide oléique, la phosphatidylcholine (PC), la phosphatidyléthanolamine (PE), la phosphatidylsérine (PS), la phosphatidylinositol (PI), la sphingomyéline, la lysophosphatidylcholine (LPC) ont été fournis par Sigma-Aldrich Co (Saint-Quentin Fallavier, France). La fraction glycolipide a été aussi analysée en utilisant des standards de glycolipides ((le digalactosyl-diacylglycérol (DGDG), le monogalactosyl-monoacylglycérol (MGMG) et le monogalactosyl-diacylglycerol (MGDG)) purifié au laboratoire à partir des farines de blé tel que décrit précédemment (Bottier *et al.*, 2007)

## II.6.5. Analyse des espèces moléculaires de triglycérides

### II.6.5.1. Identification des espèces moléculaires de triacylglycerols par spectrométrie de masse (MALDI TOF).

#### II.6.5.1.1. Principe

Dans le processus MALDI-TOF, l'échantillon à analyser est mélangé avec une « matrice ». Le mélange a été déposé sur une lame qui est placée dans spectromètre et illuminée par un laser. La matrice absorbe la lumière du laser, s'évapore avec l'échantillon à analyser, et gagne au passage une charge électrique (ionisation). Les champs électriques guident les ions dans le spectromètre de masse qui les séparera en fonction de leur masse et donnera des résultats sous forme d'une série de pics (spectre) correspondant aux différents fragments issus de la molécule originale. L'analyse des caractéristiques de ces fragments peut permettre d'en déduire la structure de la molécule.

#### II.6.5.1.2. Mode opératoire

Cinq microlitres de lipides neutres des larves de *R. phoenicis* (2 mg/mL) ont été mélangés avec 45 µL d'une matrice. Zéro virgule cinq microlitre du mélange ont ensuite été appliqué directement sur une cible MALDI en acier inoxydable. La matrice était constituée de l'acide 2,5-dihydroxybenzoïque (DHB: 5 mg/mL) solubilisé dans du méthanol / eau (90%, v/v). Ensuite, les échantillons ont été laissés à cristalliser à température ambiante. Le spectre a été acquis sur un spectromètre MALDI-TOF Autoflex-Speed (BrukerDaltonics, Wissembourg, France) équipé d'un laser Smartbeam (355 nm, 1000 Hz) et contrôlé avec le logiciel de contrôle Flex 3.4 (<http://www.bruker.com>). Le spectromètre de masse a été mis en œuvre avec une polarité positive en mode réflectron, et les spectres ont été acquis dans la plage 500-1000 m/z. Le spectromètre de masse a été étalonné avec du polyéthylèneglycol (PEG) en utilisant les m/z suivants : 525,2887, 569,3149, 613,3411, 657,3673, 701,3936, 745,4198, 789,4460, 833,4722, 877,4984, 921,5246, 965,5509, 1009,5771, 1053,6033, 1097,6295, 1141,6557 et 1185,6819. Chaque tâche a été prise avec le laser et les spectres accumulés. Les TAG ont été ionisés sous forme d'adducts de sodium et, par conséquent, m/z correspond à  $[M + Na]^+$ . Une base de données dédiées (Lipids Maps, <http://www.lipidmaps.org/tools/ms>) a été utilisée pour identifier les espèces moléculaires

possibles ( $M^{+}Na^{+}$ ) obtenues par MALDI TOF. La base de données a également tenu compte de la composition en acides gras pour l'identification des TAGs.

### **II.6.5.1.3. Expression des résultats**

Les résultats obtenus après exploitation de la base de données « Lipid maps » sont exprimée en score ou probabilité de formation du triglycéride.

### **II.6.5.2. Identification et quantification des triglycérides par HPLC en phase inverse.**

#### **II.6.5.2.1. Principe**

Dans une chromatographie en phase inverse, des chaînes alkyles sont greffées au niveau des groupes silanols de la phase stationnaire. La phase stationnaire est apolaire tandis que la phase mobile est polaire. La séparation des différents constituants du mélange s'effectue en fonction de leur polarité. Les composés polaires sont élués en premier, tandis que les moins polaires sont retardés dans la colonne.

#### **II.6.5.2.2. Mode opératoire**

Les espèces moléculaires de TAGs ont été séparées par Chromatographie liquide en phase inverse (HPLC: RS-LC Ultimate 3000 DIONEX) sur deux colonnes appariées (Colonne HPLC Macherey-Nagel, Nucleoshell RP 18, 90A, 2,7  $\mu$ m, 4,6 x 150 mm). Les échantillons de lipides neutres d'insectes dissous dans le mélange solvant chloroforme / méthanol (1/1) (10 mg / mL) ont été élués par gradient du solvant A: acétonitrile au solvant B: chloroforme. Le gradient débute de 15% de B à 45% de B en 65 minutes. Après l'analyse de chaque échantillon, la phase mobile a été ramenée aux conditions initiales et la colonne a été équilibrée pendant 3 min jusqu'à l'injection suivante. Le débit de phase mobile était de 1 ml / min. Les TAGs ont été détectés par un détecteur évaporatif à diffusion de lumière (DEDL) (Sedex S.E.D.E.R.E., Alfortville, France). Ils ont ensuite été séparés selon leur nombre de carbone équivalent (ECN) calculé comme suit :

$$ECN = \text{nombre de carbones sur la chaîne latérale} - 2 \times \text{nombre de doubles liaisons.}$$

#### **II.6.5.2.3. Calcul et expression des résultats**

L'identification des pics a été effectuée en comparant leurs temps de rétention avec ceux des TAG standards purs (trioléine, Saint-Quentin Fallavier, France) et des huiles de

composition en triglycérides connues. Les triglycérides ont ensuite été quantifiés par comparaison de l'aire des pics obtenus avec ceux de courbe d'étalonnage déterminée en injectant 5 à 80 µg de trioléine (OOO). Les quantités de triglycérides ont été exprimées en pourcentage des triglycérides totaux.

## **II.6.6. Détermination de la composition en acides gras des fractions lipidiques.**

### **II.6.6.1. Principe**

Les acides gras sont séparés sous forme de leurs esters méthyliques volatils obtenus après dérivation par le méthanol sous l'action du trifluorure de bore. Ils sont par la suite détectés et quantifiés à la suite de leur séparation par chromatographie en phase gazeuse en utilisant un détecteur par ionisation de flamme (FID). Cette méthode permet de déterminer le pourcentage de chaque acides gras par rapport à l'ensemble des acides gras identifiés et, en utilisant un standard interne, la concentration de chaque acide gras dans la matière grasse considérée.

### **II.6.6.2. Mode opératoire**

La dérivation des acides gras sous forme d'esters méthyliques volatils est effectuée en présence de BF<sub>3</sub>/méthanol suivant la méthode décrite par Morrison & Smith, (1964).

#### **II.6.6.2.1. Préparation des esters méthyliques d'acides gras**

Environ 1 à 2 mg de lipides en solution dans du dichlorométhane ont été introduits dans un tube à vis. Le solvant a été évaporé sous azote et les lipides additionnés à 1 mL de l'étalon interne ou standard, le C17:0 (acide heptadécanoïque) (100 µg/ml). Un mL de toluène et 1 mL de BF<sub>3</sub>/méthanol à 14 % ont ensuite été ajoutés pour permettre la transestérification. Les tubes hermétiquement clos ont ensuite été placés dans un bloc chauffant stabilisé à une température de 100 °C pour une durée déterminée (45 min pour les lipides neutres et 90 min pour les lipides polaires). Après refroidissement à température ambiante, 0,5 mL d'eau millipore et 1 mL d'hexane ont été ajoutés aux échantillons. L'ensemble a ensuite été vortexé pendant 5 min. La phase hexanique supérieure contenant les esters méthyliques d'acides gras

(EMAG) a été transvasée dans un pilulier à l'aide d'une pipette pasteur. Les EMAG ont directement analysés par CPG ou stockés à  $-20\text{ °C}$  pour une analyse ultérieure.

#### **II.6.6.2.2. Analyse des esters méthyliques d'acides gras**

L'analyse des esters méthyliques d'acides gras a été réalisée sur un chromatographe en phase gazeuse (Clarus® 680 GC, Perkin Elmer, -Courtaboeuf, France) couplé à un injecteur en mode splitless et un détecteur à ionisation de flamme. Les EMAG ont été séparé dans une colonne capillaire HP 225 (30 m long x 0,25 mm, épaisseur 0,25  $\mu\text{m}$ , J & W Scientific, Chromoptic, Auxerre, France). Le débit du gaz vecteur ( $\text{H}_2$ ) a été réglé à  $2\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ . La température initiale du four a été maintenue à  $50\text{ °C}$  pendant 3 minutes, puis montée à  $180\text{ °C}$  à une vitesse de  $15\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$  suivi d'un isotherme pendant 7 min. Après l'isotherme, la température a été finalement montée à  $220\text{ °C}$  à une vitesse de  $10\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ , puis maintenue à  $240\text{ °C}$  pour 10 minutes. La température du détecteur à ionisation de flamme à été maintenue à  $250\text{ °C}$ . L'identification des acides gras a premièrement été réalisée par comparaison de leurs temps de rétention avec ceux des étalons acides gras authentiques (FAME mix; Supelco, Sigma Saint Quentin Fallavier, France) et, deuxièmement, en cas de doute par spectrométrie de masse. La capacité de séparation de la colonne a été contrôlée sur les chromatogrammes obtenus avec les étalons d'acides gras. Des échantillons blancs (n-hexane) ont également été injectés chaque jour d'analyse pour vérifier la performance de la colonne.

#### **II.6.6.3. Calcul et expression des résultats**

L'aire du pic correspondant à chaque acide gras identifié a été intégrée et corrigée par un facteur de réponse spécifique à chaque acide gras (Ackman, 1993). Les résultats ont été exprimés en pourcentage de chaque acide gras sur le total des acides gras identifiés (g/100 g AG), en mg/g lipides et en mg/100 MH.

### **II.6.7. Calorimétrie différentielle à balayage des extraits lipidiques**

#### **II.6.7.1. Principe**

La calorimétrie différentielle à balayage est une technique utilisée pour étudier les phénomènes de transition thermiques qui interviennent lorsqu'un matériau est chauffé. L'analyse calorimétrique différentielle à balayage consiste à mesurer les différences de température et les flux de chaleur associés entre un échantillon étudié et une référence ne présentant pas de phénomène thermique dans l'intervalle de température étudiée. Les

échantillons étudiés et la référence sont placés dans des cellules hermétiquement fermées et chauffés ou refroidis à une vitesse donnée. Chaque cellule contient un thermocouple relié à un ordinateur. L'ordinateur fait la différence entre la température de l'échantillon et la référence, et les convertit en flux de chaleur. En effet, en absence d'évènement thermique, on n'observe pas de différence de température entre l'échantillon et la référence. Par contre, lorsqu'un évènement thermique survient sur l'échantillon étudié, l'appareil lui fournit plus ou moins d'énergie pour maintenir sa température égale à celle de la référence. En analyse calorimétrique différentielle à balayage, cette quantité de chaleur supplémentaire à fournir à l'échantillon est mesurée. Dans le cas des extraits de lipides d'insectes, ont été principalement observées des phénomènes de fusion qui s'accompagnent d'un pic endothermique et des phénomènes de cristallisation qui s'accompagnent d'un pic exothermique.

### **II.6.7.2. Mode opératoire**

Environ 5 à 15 mg des extraits lipidiques d'insectes ont été pesés et introduits dans des capsules en aluminium (Tzero® Pans; ref 901683; 40µL, TA, Waters, Guyancourt, France) préalablement tarées avec une balance de précision (0,01mg). Les capsules ont ensuite été serties avec un couvercle (Tzero®HermeticLids ; réf 901684, TA, Waters, Guyancourt, France) en utilisant une presse DSC (Universal Crimper ; réf ELCOO1074). L'ensemble a été pesé. Les capsules contenant les échantillons ont été introduites dans un appareil DSC (Q100, TA Instruments, Guyancourt, France) et analysées en même temps qu'une capsule de référence en aluminium vide. En prélude à l'analyse, les capsules ont été équilibrées à 25 °C. Pour effacer le passé thermique des extraits lipidiques, la température a été montée à 70°C et les capsules ont été chauffées à cette température (70 °C) pendant 10 min. Elles ont ensuite été refroidies jusqu'à - 60 °C à la vitesse 1 °C/min et équilibrée à cette température (- 60 °C) pendant 3 min. Un réchauffement progressif des capsules à la vitesse de 5 °C/min a effectué jusqu'à atteindre la température de + 70 °C. Les thermogrammes DSC (Q100, TA Instruments, Guyancourt, France) ont été traités à l'aide du logiciel TA Universal Analysis. La durée d'analyse a été d'environ 190 min et chaque analyse a été effectuée en triple.

### **II.6.7.3. Calcul et expression des résultats**

Les paramètres DSC tels que les températures de fusion et de cristallisation, les enthalpies de réactions, ont été déterminés par intégration de la courbe DSC obtenue en utilisant le logiciel TA Universal Analysis.



## II.7. ANALYSE DES MINÉRAUX

L'analyse des minéraux a été effectuée à l'UMR 1253 STLO (Science et Technologie du Lait et de l'œuf) de l'INRA de Rennes (France).

### II.7.1. Principe

La spectrophotométrie d'absorption atomique est utilisée pour ce dosage. Elle est basée sur la capacité d'un élément donné d'émettre une radiation caractéristique lorsqu'on lui fournit de l'énergie. L'intensité de l'émission des raies est alors proportionnelle au nombre d'atomes en présence.

### II.7.2. Mode opératoire

#### II.7.2.1. Préparation de la solution à analyser

Pour chaque échantillon, 100 mg de cendres obtenues par incinération des poudres d'insectes ont été dissous dans 1 mL d'acide chlorhydrique 1 N et transférés dans une fiole de 50 mL. Cent microlitres à 5 mL de la solution obtenue ont été prélevés et transférés dans une fiole de 50 mL dans laquelle ont été additionnés successivement 5 mL de solution d'acide chlorhydrique 0,02 N ; 5 mL de solution de chlorure de lanthane (6g/L) et 5 mL de solution de chlorure de césium (5g/L). Le volume de la fiole jaugée a été complété jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée.

#### II.7.2.2. Préparation de la gamme étalon

Une gamme étalon a été préparée à partir d'une solution-mère de concentration connue pour chaque élément. Les concentrations du calcium, potassium et sodium variaient de 0 à 4 mg/L dans la gamme étalon tandis que celle du magnésium variait de 0 à 0,4 mg/L.

#### II.7.2.3. Mesures spectrophotométriques

Les gammes étalons ont été introduites dans un spectrophotomètre d'absorption atomique (Varian 220 FS Spectr AA, Les Ulis, France), équipé d'un brûleur air-acétylène et de lampes à cathodes creuses Mg, Ca, Na et K, pour permettre son étalonnage. Les raies d'absorption pour le Mg, Ca, Na et K étaient respectivement 285,2 nm ; 422,7 nm ; 589 nm et 766,5 nm. Les absorbances ont été mesurées. Une courbe étalon de l'absorbance en fonction de la concentration a été tracée pour chaque élément (réponse linéaire,  $r^2 > 0,995$ ; Limite de

détection: 10 ppb; Limite de quantification: 100 ppb). La concentration en élément des échantillons directement affichée par l'appareil a été déduite en reportant leurs absorbances à la courbe d'étalonnage convenable de chaque élément.

### II.7.3. Calcul et expression des résultats

Les teneurs en calcium, magnésium, potassium et sodium ont été calculées en utilisant l'équation 5.

$$[\text{minéral}] \text{ en mg/kg} = \frac{X (\text{mg}/10^3 \text{ mL}) * \text{Volume de la fiole (mL)}}{\text{Prise d'essai (g)}} \quad (5)$$

X = concentration de l'atome mesurée par le spectrophotomètre (mg/L)

Les résultats ont été exprimés en mg/Kg de poudre d'insecte et convertis en mg/100g de matières sèches par simple conversion des unités.

## II.8. ACTIVITÉ DE L'EAU ET ISOTHERMES D'ADSORPTION DES FARINES D'INSECTES

Certains insectes n'étant pas disponibles toute l'année ; l'un des premiers facteurs limitant leur utilisation est leur conservation (milieu à forte activité de l'eau, donc sujets au développement microbien). L'une des solutions les plus accessibles, qui a l'avantage d'être déjà mise en œuvre localement dans certains cas est la déshydratation, d'où l'étude de l'activité de l'eau des farines d'insectes et de la sorption d'eau sur les farines afin de préciser les conditions optimales de conservation. Nous avons choisi comme méthode de déshydratation, la lyophilisation. Bien que n'étant pas très pratique du fait du coût énergétique élevé, elle présente néanmoins plusieurs avantages à l'échelle du laboratoire. Elle s'effectue à basse température, ce qui permet de conserver les propriétés organoleptiques et nutritionnelles des aliments utilisés.

### II.8.1. Mesure de l'activité de l'eau des farines d'insectes

#### II.8.1.1. Principe de mesure et détermination

La mesure de l'activité de l'eau a été effectuée en utilisant un awmètre de laboratoire Aw Sprint (Swiss made Novasina, TH 500). Cet appareil mesure l'humidité relative de l'air en équilibre avec l'échantillon placé dans une chambre de mesure hermétiquement fermée. La

mesure est réalisée après établissement de l'équilibre hydrique. A l'équilibre, l'humidité relative de l'air est proportionnelle à la valeur de l'activité de l'eau ( $a_w$ ).  $HR = 100 a_w$ .

### II.8.1.2. Mode opératoire

L'appareil de mesure a été préalablement réglé à une température donnée (20, 25, 30 et 40 °C). Environ 4 g de farines d'insectes ont été introduits dans des capsules en plastique insérées dans l'appareil de mesure. L'appareil a ensuite été fermé et la mesure s'effectuait automatiquement une fois l'équilibre hydrique atteint.

### II.8.1.3. Calcul et expression des résultats

Les résultats obtenus ont été exprimés en humidité relative et convertis en activité de l'eau selon la formule (équation 6).

$$a_w = \frac{H_R}{100} \quad (6)$$

$a_w$  : activité de l'eau

$H_R$  : humidité relative

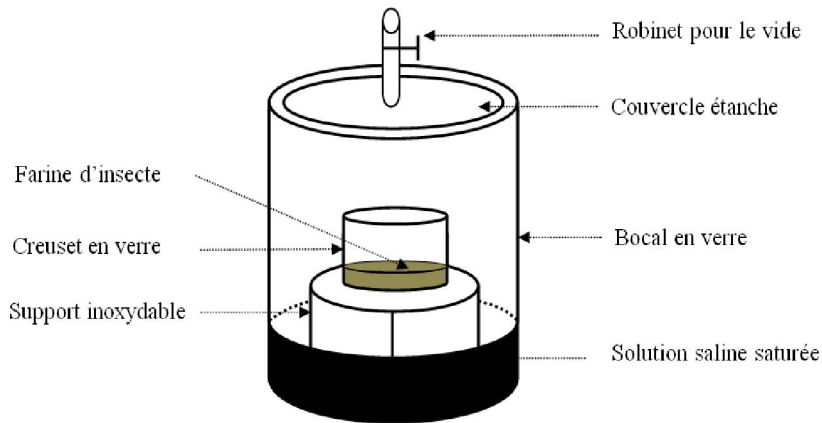
## II.8.2. Mesure des isothermes de sorption

### II.8.2.1. Principe

La détermination des isothermes de sorption consiste à placer un échantillon du produit dans une enceinte fermée, stabilisée à une température donnée et possédant une atmosphère dont l'humidité relative a été fixée. L'échantillon est pesé à intervalle régulier jusqu'à ce que sa masse ne varie plus, il est alors en équilibre avec l'air à température et humidité relative donnée. La teneur en eau à l'équilibre de l'échantillon testé est alors mesurée. L'utilisation des sels saturés permet d'équilibrer l'atmosphère confinée à diverses humidités relatives de référence.

### II.8.2.2. Mode opératoire

Le dispositif expérimental de mesure des isothermes d'adsorption est présenté dans la figure 14.



**Figure 14:** Dispositif expérimental de la méthode de mesures des isothermes d'adsorption avec des solutions salines

Environ 200 mg de farines d'insectes lyophilisés ont été pesés dans des creusets en verre et placés dans des bocaux en verre contenant les solutions de sels saturées (LiCl, CH<sub>3</sub>COOK, MgCl<sub>2</sub>, Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, NaBr, CuCl<sub>2</sub>, NaCl, KCl, BaCl) dont l'activité de l'eau est connue (0,11 – 0,91 ; Tableau 9). Le vide a été effectué dans les bocaux pour accélérer l'atteinte d'équilibre et les bocaux ont été hermétiquement fermés. Les bocaux ont été ensuite placés dans une étuve réglée à la température désirée (20, 30 ou 40 °C). Les échantillons ont été pesés tous les deux jours jusqu'à ce que la variation de masse entre deux mesures successives devienne inférieure à 1%. La quantité d'eau adsorbée a été calculée à partir de la masse humide à l'équilibre.

**Tableau IX:** Activités de l'eau  $a_w$  des sels saturés utilisés pour la détermination des courbes de sorption (Serpil & Servet Gulum, 2006).

Sels	Activité de l'eau à température donnée		
	20 °C	30 °C	40 °C
<b>LiCl</b>	0,114	0,114	0,114
<b>CH<sub>3</sub>COOK</b>	0,23	0,22	0,22
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	0,33	0,32	0,32
<b>Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub></b>	0,54	0,51	0,48
<b>NaBr</b>	0,587	0,577	0,577
<b>CuCl<sub>2</sub></b>	0,684	0,686	0,686
<b>NaCl</b>	0,75	0,75	0,75
<b>KCl</b>	0,85	0,84	0,82
<b>BaCl<sub>2</sub></b>	0,91	0,90	0,89

**II.8.2.3. Calcul et expression des résultats**

La teneur en eau à l'équilibre des poudres d'insectes à été calculée en utilisant la formule de l'équation 7 suivante :

$$M = \frac{M_1 + M_2}{M_S} \times 100 \tag{7}$$

$M_1$  = masse d'eau initiale de la farine d'insecte (g) ;

$M_2$  = masse eau adsorbée par la farine d'insecte (g);

$M_S$  = masse sèche de la farine d'insecte lyophilisée (g)

= Masse farine d'insecte lyophilisée -  $M_1$

$M$  (g/100 g MS) = Teneur en eau à l'équilibre de la poudre d'insecte

**II.8.3. Modélisation des isothermes d'adsorption**

Plusieurs modèles mathématiques des isothermes de sorption à partir des considérations théoriques et d'observations expérimentales, relations empiriques reposant sur des bases physiques, décrivent la relation entre la teneur en eau à l'équilibre, l'humidité relative à l'équilibre et la température. Nous avons utilisé six modèles trouvés dans la littérature : GAB, BET, OSWIN, HALSEY, PELEG et SMITH (Tableau 10). Chacun de ces modèles a un domaine de validité d'activité de l'eau où il est applicable. Le but est de déterminer le ou les modèles les plus adéquats pour la description des isothermes de sorption de notre produit.

**Tableau X:** Modèles de description des isothermes de sorption (Serpil *et al.*, 2006)

Nom des modèles	Équation des modèles	Domaine de validité d' $a_w$	Références
<b>GAB</b>	$M = \frac{M_0 \cdot C \cdot K \cdot a_w}{[(1 - K \cdot a_w)(1 - K \cdot a_w + C \cdot K \cdot a_w)]}$	Complet	(Van den Berg, 1984)
<b>BET</b>	$M = \frac{M_0 \cdot C \cdot a_w}{[(1 - a_w)(1 - a_w + C \cdot a_w)]}$	0,05 à 0,45	(Brunauer, Emmett, & Teller, 1938)
<b>HASLEY</b>	$M = \left[ \frac{C}{\ln(1/a_w)} \right]^{\frac{1}{n}}$	Complet	(Iglesias & Chirife, 1976)
<b>OSWIN</b>	$M = C \left[ \frac{a_w}{1 - a_w} \right]^n$	Complet	(Labuza <i>et al.</i> , 1972)
<b>PELEG</b>	$M = C_1 a_w^{C_3} + C_2 a_w^{C_4}$	Complet	(Peleg, 1993)
<b>SMITH</b>	$M = C_1 + C_2 \ln(1 - a_w)$	Complet	(Smith, 1947)

Dans le modèle de BET et GAB,  $M_0$  est la teneur en eau de la monocouche et C et K sont des constantes. Dans les autres modèles,  $C_1$ ,  $C_2$ , C, n,  $C^3$ , et  $C^4$  sont des constantes.

Les isothermes d'adsorptions ont été ajustées aux différents modèles sous le logiciel Excel 2007, en utilisant la fonction solveur pour la détermination des paramètres. L'adéquation des résultats expérimentaux avec les modèles testés a été effectuée par le calcul des coefficients statistiques suivants: le coefficient de détermination ( $R^2$ , équation 8), l'erreur standard (ES, équation 9) et l'écart moyen relatif en pourcentage (EMR, équation 11). Le coefficient de détermination a été le premier critère de sélection de la meilleure équation pour décrire l'adsorption, suivi de l'écart moyen relatif ( $EMR < 10$ ), et l'erreur standard (ES). Le meilleur modèle est celui présentant la plus grande valeur des  $R^2$  et les plus petites valeurs de EMR et ES.

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^N (M_{e \text{ prédit}} - M_{e \text{ exp}})^2}{\sum_{i=1}^N (\overline{M_e} - M_{e \text{ exp}})^2} \quad (8)$$

$$ES = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (M_{e \text{ prédit}} - M_{e \text{ exp}})^2}{N - N_p}} \quad (9)$$

$$\overline{M_e} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N M_{e \text{ prédit}} \quad (10)$$

$$EMR = \frac{100}{N} \sum_{i=1}^N \left| \frac{M_{e \text{ prédit}} - M_{e \text{ exp}}}{M_{e \text{ prédit}}} \right| \quad (11)$$

$N_p$  : nombre de variables de chaque modèle;

$M_{e \text{ prédit}}$  = teneur en eau d'équilibre prédite

$M_{e \text{ exp}}$  = teneur en eau d'équilibre expérimentale

$\overline{M_e}$  = teneur en eau moyenne

N= nombre de points expérimentaux

#### II.8.4. Détermination de la chaleur isostérique de sorption

La chaleur nette isostérique de sorption est définie comme la différence entre l'énergie totale nécessaire pour enlever de l'eau du produit alimentaire et l'énergie totale

nécessaire pour vaporiser l'eau normale. L'équation de Clausius-Clapeyron a été utilisée pour estimer la chaleur isostérique nette d'adsorption en traçant la courbe de  $\ln(a_w)$  en fonction de l'inverse de la température ( $1/T$ ) à teneur en eau constante selon l'équation 12.

$$\ln(a_w) = -\left(\frac{q_{st}}{R}\right)\frac{1}{T} + K \quad (12)$$

$q_{st}$  = chaleur isostérique nette d'adsorption ( $J.mol^{-1}$ ) ;  $a_w$  = activité de l'eau ;  $T$  = température (K) ;  $R$  = constante des gaz parfaits ( $8,314 J.mol^{-1}.K^{-1}$ ) ;  $K$  = constante

Cette relation est basée sur l'hypothèse que la teneur en eau du système est constante, la chaleur de vaporisation de l'eau pure et l'excès de la chaleur d'adsorption ne varient pas avec la température. La pente de l'équation ( $-q_{st}/R$ ) a été utilisée pour déterminer la chaleur isostérique nette de sorption ( $-q_{st}$ ), connaissant la valeur de  $R$ . La procédure a été répétée à plusieurs valeurs de teneur en eau à l'équilibre pour déduire la dépendance de la chaleur isostérique nette de sorption avec la température ( $q_{st} = f(M)$ ).

## II.9. SOLUBILITÉ EN PHASE AQUEUSE ET PROPRIÉTÉS ÉMULSIFIANTES DE *RHYNCHOPHORUS PHOENICIS*

Les larves de *Rhynchophorus phoenicis* étant des insectes disponibles toutes les saisons de l'année, et celles dont les recherches en vue d'une domestication sont actuellement menées, nous nous sommes focalisés sur l'étude de leur propriétés fonctionnelles.

Cette étude a commencé par l'étude des conditions de solubilité des protéines de ces larves par des essais d'extraction des protéines de ces larves en fonction du pH (pH 3,0 – 10,0), car c'est un préalable pour extraire les protéines avec le rendement meilleur possible et pour l'étude des autres propriétés fonctionnelles. Les extraits aqueux obtenus ont été ensuite caractérisés pour leur teneur en lipides, classes de lipides et composition en acide gras. L'objectif ici était de mettre en évidence la présence des lipides dans les extraits aqueux des larves de *R. phoenicis* et d'expliquer les propriétés émulsifiantes de ces extraits aqueux.

En marge de la préparation des extraits aqueux de protéines à différents pH, un concentrat de protéines a été également préparé en utilisant des techniques de solubilisation en milieu basique et de précipitation en milieu acide, puis lyophilisation pour obtenir des concentrats de protéines. L'idée a été de récupérer le maximum de protéines solubles des

larves de *R. phoenicis* pour apprécier la solubilité en fonction du pH, et l'effet du pH sur leurs propriétés émulsifiantes. Les résultats obtenus ont été comparés avec ceux des extraits aqueux de protéines.

### **II.9.1. Étude de la solubilité des protéines des broyats de larves de *Rhynchophorus phoenicis***

#### **II.9.1.1. Stratégie adoptée pour l'étude de la solubilité des protéines**

Nous avons en premier lieu recherché les conditions de solubilité optimale des protéines (une concentration maximale en protéines dans l'extrait aqueux). La première étape a consisté à déterminer la concentration en broyat de larves aboutissant à une concentration maximale (rendement d'extraction maximal) en protéines dans l'extrait aqueux. Pour ce faire, des homogénats à des concentrations allant de 0,1 à 1 g de broyat de larves par mL d'eau distillée ont été préparés. Ils ont ensuite été centrifugés, les surnageants, qu'on a appelé extraits aqueux, ont été recueillis et leurs teneurs en protéines dosées tel que décrit précédemment (II.4.5.2). Par la suite, la concentration en broyat permettant d'obtenir l'extrait aqueux avec la plus forte concentration en protéines, définie comme condition optimale, a été choisie pour l'étude de l'effet du pH sur la solubilité des protéines, pour des pH allant de 2 à 10.

#### **II.9.1.2. Recherche de l'optimum de concentration en broyat d'insecte pour la solubilisation en phase aqueuse des protéines.**

Les homogénats de larves ont été préparés tel que décrit précédemment (II.3.1) en utilisant différentes concentrations en broyat d'insectes (0,5 à 5 g/10 mL). Les extraits aqueux obtenus ont ensuite été recueillis et leurs concentrations en protéines ont été déterminées par la méthode de l'acide bischinchoninique (II.4.5.2). Le choix de l'optimum de la concentration optimale en broyat pour la solubilisation en phase aqueuse a été expliqué précédemment (II.9.1.1).



### II.9.1.3. Étude de la solubilité des protéines de *Rhynchophorus phoenicis* en fonction du pH

Les extraits aqueux de protéines des larves de *R. phoenicis* ont été préparés à des pH allant de 3,0 à 10,0 en utilisant, pour les pH 3,0 à 7,0 : des tampons acide citrique-phosphate 0,1 M ajustés au pH choisi ; pour le pH 8,0 : un tampon phosphate 0,1 M - NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ; aux pH 9,0 et 10,0 : des tampons carbonate de sodium 0,1 M. Un gramme de broyat de larves de *R. phoenicis* a été introduit dans une burette dans laquelle on a ajouté 10 mL de tampon approprié. L'ensemble a été homogénéisé en utilisant un barreau aimanté et un agitateur magnétique pendant toute une nuit et à 4 °C. L'homogénat obtenu a été centrifugé à 10000 x g pendant 20 min. Trois fractions ont été obtenues. Une fraction lipidique supérieure, une fraction aqueuse intermédiaire et un dépôt. La fraction aqueuse intermédiaire a été récupérée à l'aide d'une seringue et sa teneur en protéines a été mesurée par la méthode BCA (Smith *et al.*, 1985). Le pourcentage de solubilité des protéines a été calculé en divisant la quantité de protéines dans l'extrait aqueux par la quantité de protéines présente dans le broyat d'insecte, l'ensemble multiplié par 100. Les expériences ont été faites en triple.

Dans le cas du concentrat de protéines, 2 mg de poudre ont été dispersés dans 1 mL de tampon approprié (pH 2,0 – 10,0 tel que décrit précédemment). L'ensemble a été homogénéisé et centrifugé tel que décrit précédemment. Deux fractions ont été obtenues. Une fraction surnageante contenant les protéines solubles et un culot contenant les protéines non solubles. La fraction surnageante a été recueillie et sa teneur en protéines déterminée en utilisant la méthode BCA comme précédemment. Le pourcentage de solubilité des protéines a été calculé en divisant la quantité de protéines dans le surnageant sur la quantité de protéines du concentrat de protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis*, multiplié par 100.

## II.9.2. Caractérisation des lipides des extraits aqueux de protéines

### II.9.2.1. Composition en classe des lipides présents dans les extraits aqueux de protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

L'analyse des différentes classes de lipides a été effectuée par HPLC tel que décrit précédemment en injectant dans le système 50 µl de la phase chloroformique précédemment obtenue.

### **II.9.2.2. Analyse de la composition en acides gras**

L'analyse de la composition en acides gras s'est faite sur un volume de 0,5 mL de la phase chloroformique précédemment obtenue, après préparation des esters méthyliques d'acides gras selon la méthode de Morrison et Smith (1967) et telle que décrite précédemment.

### **II.9.3. Évaluation des Propriétés émulsifiantes des extraits aqueux d'insectes et des concentrats de protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis*.**

#### **II.9.3.1. Préparation des émulsions**

Les émulsions ont été préparées en utilisant les extraits aqueux de protéines ou les concentrats des protéines des larves de *R. phoenicis* et une huile d'arachide commerciale (qui est couramment utilisée dans les préparations alimentaires). En raison du faible volume des échantillons, la sonication a été utilisée comme technique de préparation des émulsions. Pour définir les conditions de préparation des émulsions, plusieurs essais ont été réalisés en faisant varier l'amplitude de sonication, le temps de sonication et la proportion phase aqueuse phase huileuse. Les émulsions ont ensuite été caractérisées par la distribution de taille (surface couverte par les protéines de *Rhynchophorus phoenicis*). Après le choix de la condition optimale de préparation des émulsions, la stabilité dans le temps des gouttelettes (évaluation du crémage, floculation, coalescence) a été déterminée.

#### **II.9.3.2.1. Principe de la sonication**

L'homogénéisateur à ultrasons est muni d'un générateur d'ultrasons qui convertit la tension du secteur en énergie électrique de haute fréquence. Cette énergie électrique est transmise à un transducteur électrique qui la convertit en vibrations mécaniques intensifiées par une sonde. L'énergie est dissipée à proximité de la pointe de la sonde. Des ondes de compression sont alors créées dans le liquide et vont générer des bulles microscopiques qui provoqueront le phénomène de cavitation. Cette énergie mécanique (ultrasons) permet la dispersion des 2 phases l'une dans l'autre et la formation de gouttelettes d'huiles qui sont stabilisée par les agents tensio-actifs présents dans le milieu (en l'occurrence dans les extraits d'insectes). L'idée est donc de mesurer la capacité des extraits testés à permettre d'obtenir une émulsion H/E (granulométrie des gouttelettes : diamètres moyens, surface spécifique ; indice

de floculation) et à la stabiliser (granulométrie des gouttelettes après stockage des émulsions, indice de coalescence)

#### II.9.3.2.2. Mode opératoire

L'huile d'arachide (Lesieur Arachide, France) comme phase dispersée et l'extrait aqueux de protéines (1 mg/mL ; protéine /tampon) ou une solution aqueuse de concentrats de protéines (10 mg/mL ; concentras de protéine/tampon) de *R. phoenicis* comme phase dispersante ont été utilisées pour la préparation des émulsions eau-huile (90/10 ; p/p). De nombreux essais ont préalablement été réalisés en faisant varier l'amplitude, le temps de sonication et le volume de la phase aqueuse, afin de choisir les conditions optimales pour l'émulsification. Les paramètres suivants ont été choisis : Phase aqueuse (5 g), phase huile (0,57 g), Temps total d'homogénéisation (2 min, 15 secondes d'homogénéisation et 15 secondes de pauses à chaque fois), amplitude de sonication (30%), La puissance (entre 11 et 15 watt), l'énergie totale délivrée (entre 1100 et 2500 joules) et la température (10 – 25 °C) de l'émulsification étaient données en fin d'homogénéisation. En pratique, les extraits aqueux de protéines à différents pH (5-10) et l'huile d'arachide ont été introduits dans un tube à fond conique de 50 mL. L'émulsification a été réalisée à l'aide d'un générateur à ultrasons (MICROSONIX SONICATORS - Ultrasonic Processors Liquid-USA), équipé d'une sonde de 6 mm de diamètre (N° 418 ; pour volumes de 1 à 5 mL), en plongeant l'extrémité de la sonde à 1 cm sous la phase aqueuse. Les échantillons ont été émulsifiés comme décrit plus haut.

Après préparation des émulsions, la mesure de la distribution de taille avec SDS 1% [0,5 mL d'émulsion fraîchement préparé dilué 3,125 fois dans SDS 1% (p/v),] et sans SDS a été effectuée pour évaluer la granulométrie et la floculation. Un aliquote de l'émulsion a ensuite été stocké pendant 24 h (4 °C et absence de lumière) pour évaluer la stabilité notamment par la mesure de taille pour la détermination de l'indice de coalescence. Pour la mesure des tailles des émulsions après stockage, les émulsions ont été agitées modérément avant le prélèvement pour la mesure. L'effet du pH sur la coalescence a été évalué en réalisant ces mesures sur des émulsions préparées aux pH 3, 5, 7 et 9. Toutes les expériences ont été réalisées au moins en double.

#### II.9.3.2. Granulométrie des émulsions

La granulométrie des émulsions a été effectuée sur des émulsions fraîchement préparées et sur des émulsions après élimination de la floculation. La mesure après

élimination de la floculation vise à déterminer la taille des gouttelettes dans des conditions où elles sont totalement défloculées grâce à l'ajout d'un surfactant anionique (le sodium dodécyl sulfate, SDS) qui s'adsorbe à l'interface en déplaçant les tensio-actifs initialement présents et génère des répulsions électrostatiques entre les gouttelettes, provoquant ainsi la rupture des agrégats. L'indice de floculation des émulsions a été calculé pour déterminer le niveau d'agrégation des gouttelettes et l'indice de coalescence des émulsions calculé pour évaluer la stabilité des émulsions.

### **II.9.3.2.1. Principe**

La granulométrie est l'étude de la distribution statistique des tailles d'un échantillon. C'est une technique basée sur la diffraction de la lumière. Elle est basée sur la relation entre la taille d'une particule, l'angle et l'intensité de la lumière diffusée. Schématiquement, la lumière est diffusée plus intensément et avec un angle plus faible par les grandes particules que par les petites. Pour les particules de tailles supérieures à la longueur d'onde, l'analyse des données repose sur la théorie de Fraunhofer. Pour les particules de taille inférieure à la longueur d'onde, c'est la théorie de Mie qui est utilisée. Cette théorie tient compte tant de la diffraction que de la diffusion de la lumière autour de la particule dans son milieu. Elle nécessite de connaître les indices de réfraction de l'échantillon et du milieu de dispersion. En effet, la lumière se propage jusqu'à ce qu'il y ait une variation dans l'indice de réfraction du milieu. Les faisceaux diffractés sont ainsi détectés avec l'aide d'un détecteur.

### **II.9.3.2.2. Mode opératoire**

La distribution de la taille des gouttelettes dans les émulsions préparées par sonication a été mesurée en utilisant un granulomètre laser (LA-960 Laser Particle Size Analyzer : HORIBA Scientific). Après avoir effectué l'alignement optique de l'appareillage et vérifié le blanc pour la mesure, 2 à 5 gouttes d'émulsion ont été diluées dans une cuve pleine d'eau. L'appareil effectuait automatiquement l'analyse et enregistrerait automatiquement l'intensité de la lumière diffusée par les particules en fonction de l'angle de diffusion. Ces informations ont été traitées à l'aide du logiciel fourni avec l'appareil qui utilise un algorithme qui s'appuie sur la théorie de la diffusion de Mie pour convertir les données de diffusion de la lumière en distribution de taille de particules. Les indices de réfraction utilisés sont de celui de l'huile d'arachide (1,456) et celui de la phase continue qui est l'eau (1,33).

### II.9.3.2.3. Calcul et expression des résultats

Les émulsions ont été caractérisées par plusieurs indices : le diamètre moyen pondéré en surface ( $d_{3,2}$ , exprimé en  $\mu\text{m}$ ), le diamètre moyen pondéré en volume ( $d_{4,3}$ , exprimé en  $\mu\text{m}$ ) et la surface spécifique (SSp, exprimée en  $\text{cm}^2/\text{mL}$  d'huile) (équations 13, 14 et 15).

$$d_{3,2} = \frac{\sum_i n_i d_i^3}{i \sum_i n_i d_i^2} \quad (13)$$

$$d_{4,3} = \frac{\sum_i n_i d_i^4}{i \sum_i n_i d_i^3} \quad (14)$$

$$SSp = \frac{\sum_i \frac{v_i}{d_i}}{\sum_i d_i} = \frac{6}{d_{3,2}} \quad (15)$$

$n_i$  = nombre de gouttelettes de la classe  $i$

$d_i$  = diamètre des gouttelettes de la classe  $i$

$v_i$  = volume des gouttelettes de la classe  $i$

L'indice de floculation a été calculé en utilisant l'équation 16.

$$I_F = \frac{d_{4,3} \text{ des gouttelettes en absence de SDS}}{d_{4,3} \text{ gouttelettes en presence du SDS}} \times 100 \quad (16)$$

L'indice de coalescence de floculation a été calculé en utilisant l'équation 17. Les émulsions sont dans des conditions où la floculation était absente.

$$I_{co} = \frac{SSp_{0H} - SSp_{24H}}{SSp_{0H}} \times 100 \quad (17)$$

$SSp_{0H}$  = surface spécifique de l'émulsion à  $t=0\text{h}$

$SSp_{24H}$  = surface spécifique de l'émulsion à  $t=24\text{H}$

### II.9.3.3. Observation des émulsions par microscopie

#### II.9.3.3.1. Principe

La microscopie optique permet d'observer les structures formées après homogénéisation des émulsions avec des ultrasons. Des phénomènes de floculation ou de coalescence des gouttelettes peuvent ainsi visualisés.

### II.9.3.3.2. Mode opératoire

Dans un eppendorf de 1 mL contenant 0,8 mL de tampon approprié, 0,2 mL d'émulsions fraîchement préparées ont été ajoutés. Le mélange obtenu a été agité très doucement pour s'assurer de l'homogénéité de l'échantillon. À l'aide d'une pipette pasteur, quelques gouttes d'émulsion diluées sont prélevées, déposées entre lame et lamelle et observées à l'aide d'un microscope optique (Zeiss microscope Axioskop 2, Le Pecq, France). Les images ont été acquises avec objectif 40 X et enregistrées à une résolution de 1360 x 840 avec une caméra (Prosilica, Model : EC 1350, SN : 02-1045B-05179, Alliance vision, Burnaby, Canada).

## II.10. ANALYSE STATISTIQUE DES RÉSULTATS

En dehors de la composition en acides aminés réalisée en un seul essai, de la composition en minéraux réalisée en deux essais, tous les autres analyses ont été effectuées en trois essais et sont présentées sous forme de moyenne  $\pm$  écart-types. Les résultats ont été soumis à l'analyse des variances (ANOVA) et le test de Student Newman-Keuls a servi pour la comparaison des moyennes, au seuil de probabilité de 0,05 en utilisant le logiciel XLSTAT (XLSTAT Version 2013.2.04, Addinsoft™).

Pour l'étude de l'effet des conditions de croissance, les analyses ont été effectuées séparément sur chaque type de larve avec répétition ( $n = 3$  pour l'analyse de la composition nutritionnelle ;  $n = 10$  pour les paramètres morphologiques) afin d'étudier l'effet lot et donner un aperçu sur l'homogénéité de l'échantillon. Les valeurs moyennes ont ensuite été calculées pour chaque lot et les comparaisons statistiques ont été effectuées avec ces valeurs ( $n = 3$  pour nombre de lots par type de larves) pour mettre en évidence l'effet type de larves. Pour explorer les liens entre les paramètres morphologiques et les composants nutritionnels et visualiser les ressemblances et les différences entre les différents types de larves, l'Analyse en Composante Principale a été effectuée avec le même logiciel en utilisant les valeurs moyennes calculées dans chaque lot de larves de *R. phoenicis*.

**CHAPITRE 3 :**  
**RÉSULTATS ET DISCUSSION**

---

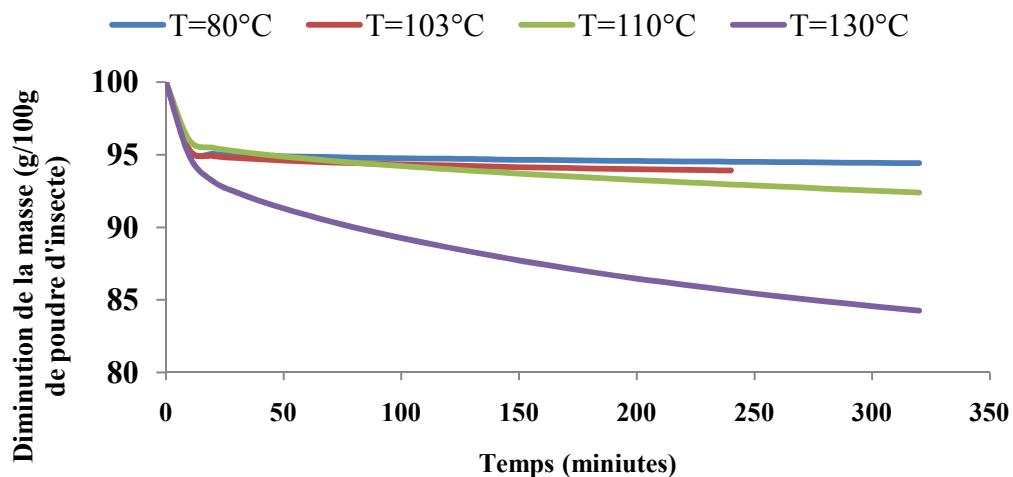
## CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

### III.1. COMPOSITION CHIMIQUE DES LARVES DES INSECTES

#### III.1.1. Résultats

##### III.1.1.1. Température de détermination de la teneur en eau des poudres d'insectes

Des analyses préliminaires ont tout d'abord été effectuées à 80 °C, 103 °C, 110 °C et 130 °C afin de déterminer la température optimale de mesure de la teneur en eau des farines d'insectes. Un seul type de farine d'insecte a été choisi pour la mesure. La figure 15 montre la cinétique de perte de masse des poudres d'*Imbrasia epimethea* en fonction du temps.



**Figure 15:** Cinétique de diminution en masse de la farine d'*Imbrasia epimethea* aux températures de 80, 103, 110 et 130 °C (n=3).

Les cinétiques de perte en masse de poudres d'insectes présentent toutes la même allure avec deux phases principales. Une première phase de décroissance extrêmement rapide dure environ 10 minutes et aboutit à une perte d'environ 4 à 6% de la masse totale des poudres. Une seconde phase de décroissance de moins en moins rapide, où la teneur en eau tend à se stabiliser après 6 heures de chauffage. C'est au cours de cette seconde phase que s'observe véritablement la différence de perte en masse des poudres d'insectes selon la



température. Durant cette seconde phase, entre 80 et 103 °C, la perte en masse porte sur environ 2 % de la masse initiale de la poudre entre la 10<sup>ième</sup> minute et la 4<sup>ème</sup> heure d'analyse. On peut également observer que les masses de poudre obtenues après 4 heures de chauffage sont très proches : 94,5% à 80 °C et 93, 9% à 103 °C. Au contraire, à 110 et 130 °C, cette seconde phase de perte en masse est plus importante avec des pentes plus élevées. A 110 °C et au bout de 4 heures d'analyse, il ne reste plus que 93,9% de la masse totale de la poudre d'insectes. Cette décroissance est encore plus flagrante à 130 °C ou il ne reste plus que 85,6% de la masse totale de la poudre d'insecte au bout de ces même 4 heures d'analyse. Cette observation laisse penser qu'à 110 et 130 °C la perte en masse ne pourrait être le seul fait de la déshydratation des poudres. On sait en effet que d'autres matières volatiles pourraient s'échapper lors du processus de séchage. Pour cette raison, les températures de 80 et 103 °C ont par la suite été utilisées pour la détermination de la teneur en eau des poudres d'insectes par analyse thermogravimétrique.

### **III.1.1.2. Composition chimique des larves de *Rhynchophorus phoenicis***

Les résultats portant sur la valeur nutritionnelle ont été présentés en utilisant deux modes d'expression. Premièrement sur la base fraîche, car les données sur la base fraîche sont appropriées pour des études nutritionnelles et sont facilement comparables à celles d'autres aliments présents dans les bases de données alimentaires. Deuxièmement sur la base sèche, base plus stable, qui en outre permet de faire des comparaisons avec d'autres données obtenues sur les insectes et présents dans la littérature scientifique.

#### **III.1.1.2.1. Facteur de conversion azote protéines et teneur en azote non protéique des larves de *Rhynchophorus phoenicis***

Le tableau XI présente le facteur de conversion azote protéine des larves de *Rhynchophorus phoenicis* ; et le pourcentage en azote protéique et non protéique présents dans les larves. Le facteur de conversion a été calculé à partir de la somme des résidus d'acides aminés (Annexe 5 ; Tableau 1) et la teneur en azote total obtenue par la méthode de Dumas (Tableau XI).

**Tableau XI** : facteur de conversion azote protéine et azote non protéique et protéique des larves de *Rhynchophorus phoenicis*.

	TRAA (g/100 g FI)	N (g/100 g FI)	FC	N TRAA (g/100 g FI)	NP (g/100 g N)	ANP (g/100 g N)
<i>Rhynchophorus phoenicis</i>	23,8	4,3 ± 0,4	5,5 ± 0,5	3,67	84,62	15,38

FI : farine insecte ; N: azote; MH: matière humide; TRAA: total résidus d'acides aminés; FC: facteur de conversion N → P; NP: azote protéique ; ANP : azote non protéique

Les larves de *Rhynchophorus phoenicis* ont un facteur de conversion azote protéine de 5,5 ± 0,5. Elles contiennent environ 15 % d'azote non protéique.

### III.1.1.2.2. Composition centésimale des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

L'évaluation nutritionnelle des larves de *Rhynchophorus phoenicis* et sa comparaison avec d'autres sources d'aliment est essentiel pour sa valorisation alimentaire. La composition centésimale des larves de *R. phoenicis* est présentée dans le tableau 12.

**Tableau XII**: Composition proximale des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

	Eau (g/100g)	Lipides (g/100g)	Protéines (g/100g)	Cendres (g/100g)	Glucides* (g/100g)	Énergie kJ(kcal)/100g
<b>Matière humide</b>	69,5 ± 0,7	19,9 ± 2,8	7,5 ± 0,7	0,9 ± 0,0	2,2	911,7 (217,9)
<b>Matière sèche</b>	//	65,2 ± 9,2	24,5 ± 2,4	2,8 ± 0,2	7,5	2990,7 (714,8)

\*Les glucides ont été obtenus par différence.

Les larves de *Rhynchophorus phoenicis* sont composées majoritairement de lipides. Les protéines sont les seconds composants majeurs. Les glucides sont faiblement représentés.

### III.1.1.2.3. Composition en acide aminés des protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

La qualité des protéines de larves de *Rhynchophorus phoenicis* a été évaluée par l'analyse de leur composition en acides aminés. Les résultats sont présentés dans le tableau XIII.

**Tableau XIII:** Composition en acides aminés des protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* comparé à la protéine de référence

Acide aminé	Acide aminé mg/g protéine	FAO/WHO/UNU reference (2007) mg/g protéine	<i>Rhynchophorus phoenicis</i> score AAI	Acide aminé mg/ 100 g MH
<b>AANI</b>				
Acide Aspartique	84,7			632,6
Acide Glutamique	132,4			988,4
Alanine	51,7			385,8
Arginine	56,7			423,8
Glycine	37,6			280,8
Proline	61,1			456,6
Serine	44,2			330,3
<b>Total NIAA</b>	<b>468,4</b>			<b>3498,4</b>
<b>AAI</b>				
Histidine	23,5	15	1,56	175,2
Isoleucine	40,8	30	1,36	304,8
Leucine	60,0	59	1,02	448,3
Lysine	67,0	45	1,49	500,6
Thréonine	47,8	23	2,08	356,7
Valine	50,9	39	1,31	380,1
<b>AA aromatiques</b>				
Phénylalanine	37,9	30	1,26	283,3
Tryptophane	32,4	6	5,41	242,3
Tyrosine	85,4			637,7
<b>Total AAA</b>	<b>155,8</b>	<b>30</b>	<b>5,19</b>	<b>1163,3</b>
<b>AA soufrés</b>				
Cysteine	32,1	6	5,35	239,5
Méthionine	47,8	16	2,99	357,3
<b>Total AAS</b>	<b>79,9</b>			<b>596,8</b>
<b>Total AAI</b>	<b>525,7</b>	<b>269</b>		<b>3925,7</b>
<b>Total AA</b>	<b>994,1</b>			<b>7424,1</b>

AA : acides aminés ; AAI : acides aminés indispensables ; AANI : acides aminés non indispensables ; MH : matière humide ; le score des acides aminés indispensables est défini en faisant le rapport entre la quantité de l'acide aminé indispensable dans la farine d'insecte et celui de la quantité de l'acide aminé dans la protéine de référence FAO/WHO/UNU(2007).

Les protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* comportent 18 acides aminés. L'acide aminé le plus abondant est l'acide glutamique (132,4 mg/g de protéine) et le moins abondant est l'histidine (23,5 mg/g de protéine). L'ensemble des acides aminés indispensables représente 525,7 mg/g de protéine. Chaque acide aminé indispensable a un score qui est supérieur à 1, ce qui signifie qu'il est présent en quantité supérieure à celle de la protéine de référence que donne l'organisation mondiale de la santé (WHO/FAO/UNU, 2007).

#### III.1.1.2.4. Composition en potassium, calcium et magnésium des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Le tableau XIV présente la teneur en potassium, calcium et magnésium des larves de *Rhynchophorus phoenicis*. Les résultats présentés sont la moyenne de deux analyses.

**Tableau XIV:** Teneurs en potassium, calcium et magnésium des larves de *Rhynchophorus phoenicis* comparé aux apports journaliers recommandés

Chenilles	Potassium	Calcium	Magnésium
<i>Rhynchophorus phoenicis</i> (mg/100 g MH)	134,0 (121,9; 146,1)	14,7 (13,3; 13,3)	55,8 (50,2; 61,5)
<i>Rhynchophorus phoenicis</i> (mg/100 g MS)	439,5 (399,8; 479,2)	48,4 (43,4; 53,3)	183,0 (164,5; 201,5)
‘source de’ (mg/100 g MH) (WHO/FAO, 2007)		120	45
‘élevé en ’ (mg/100 g MH) (WHO/FAO, 2007)		240	90
<b>Apport Journalier Recommandé (mg/jour)</b>	4700	1000	220 <sup>a</sup> /260 <sup>b</sup>

Parmi les trois minéraux déterminés, le potassium est le plus abondant chez les larves de *Rhynchophorus phoenicis* (134,0 mg/100 g MH). Le calcium est le minéral le moins abondant (14,7 mg/100 g MH).

#### III.1.1.2.5. Composition en tocophérols des extraits lipidiques des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Les tocophérols constituent un ensemble d'isomères de molécules antioxydantes regroupées sous le terme de vitamine E. Le rôle biologique majeur de la vitamine E est de protéger les acides gras polyinsaturés, d'autres composants des membranes cellulaires, les lipoprotéines de faible densité contre l'oxydation par les radicaux libres (FAO & WHO, 2001). La composition des isomères  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$  des tocophérols présents dans les larves de *Rhynchophorus phoenicis* sont présentés dans le tableau XV.

**Tableau XV:** Composition en tocophérols des lipides des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Tocophérols	( $\mu\text{g/g}$ lipide)
$\alpha$ -tocophérol	95 $\pm$ 9
$\beta$ -tocophérol	17 $\pm$ 3
$\gamma$ -tocophérol	18 $\pm$ 3
$\delta$ -tocophérol	14 $\pm$ 0
<b>Tocophérols totaux</b>	145 $\pm$ 15

Les résultats indiquent que l' $\alpha$ -tocophérol est l'isomère majoritaire des tocophérols des lipides totaux des larves de *Rhynchophorus phoenicis*.

### III.1.1.2.6. Fraction des lipides totaux des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Le tableau XVI donne la composition en fraction des lipides totaux des larves de *Rhynchophorus phoenicis*.

**Tableau XVI:** Composition en fractions des lipides des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

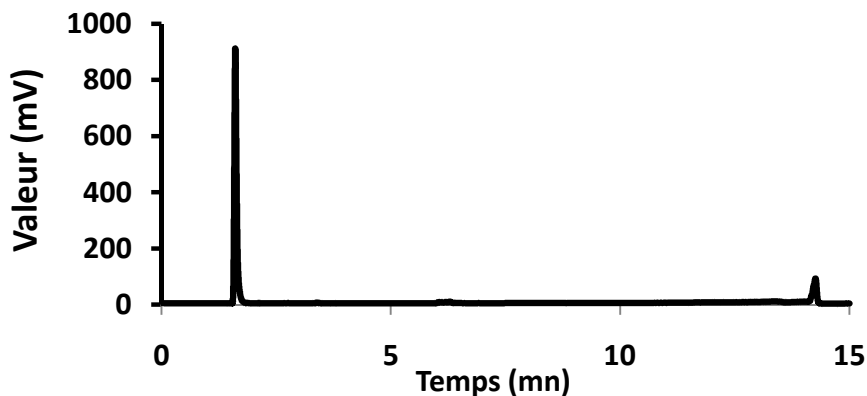
Fractions lipidiques	g/100 g lipides
Triacylglycerols *	97,53 $\pm$ 0,05
Glycolipides	0,59 $\pm$ 0,04
Phospholipides	1,88 $\pm$ 0,06

Comme chez la plupart des organismes, les lipides neutres sont de loin la fraction lipidique la plus importante de ces insectes en représentant 97,53  $\pm$  0,05 g/100 g des lipides totaux.

### III.1.1.2.7. Composition des fractions des lipides totaux de *Rhynchophorus phoenicis*

#### III.1.1.2.7.1. Composition en classe de la fraction de lipide neutres des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

La figure 16 présente le chromatogramme des lipides neutres de l'extrait de lipide des larves de *Rhynchophorus phoenicis*.

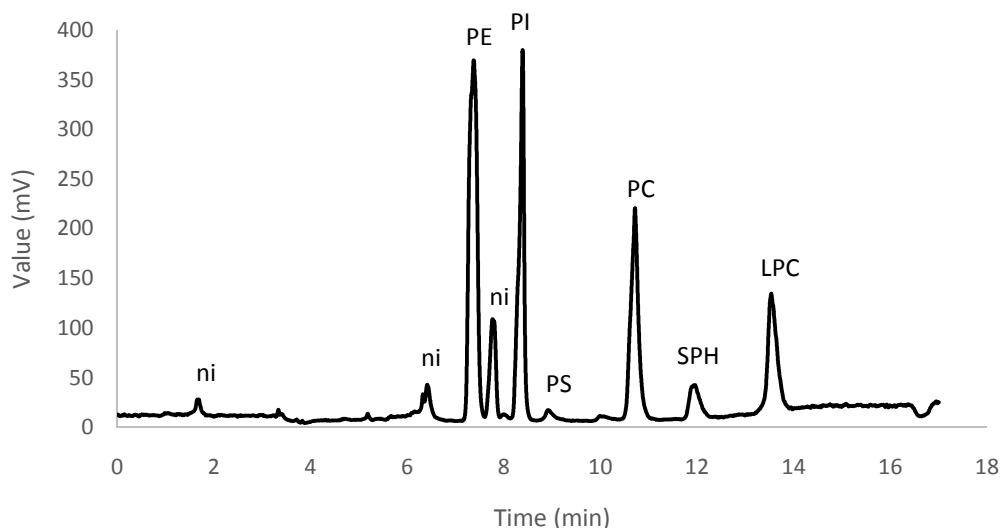


**Figure 16:** Chromatogramme des lipides neutres de *Rhynchophorus phoenicis*

Après analyse par chromatographie liquide, la fraction lipidique neutre est composée uniquement de triacylglycérols (TAG). Les acides gras libres (AGL), les monoacylglycérols (MAG) et les diacylglycérols (DAG) n'ont pas été détectés. Ce résultat indique qu'aucune ou aucune hydrolyse détectable ne s'est produite pour cette fraction pendant le traitement des larves et la préparation des extraits lipidiques.

### III.1.1.2.7.2. Composition de la fraction phospholipides des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

La figure 17 ci-dessous présente les classes de phospholipides identifiées chez les larves de *Rhynchophorus phoenicis*.



**Figure 17:** Chromatogramme composition en classe de phospholipides des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Le chromatogramme montre la présence de 9 pics dont deux sont non identifiés. Les pics identifiés correspondent aux phospholipides suivants : PE: phosphatidylethanolamine ; LPE: lysophosphatidylethanolamine; PS: phosphatidylserine ; PI: phosphatidyl-inositol; PC: phosphatidylcholine; SPH: sphingomyeline; LPC: lysophosphatidylcholine. Le tableau XVII présente la composition en classes des phospholipides de la fraction phospholipides (PL) des lipides des larves de *Rhynchophorus phoenicis*.

**Tableau XVII:** Composition en classes de phospholipides des lipides des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

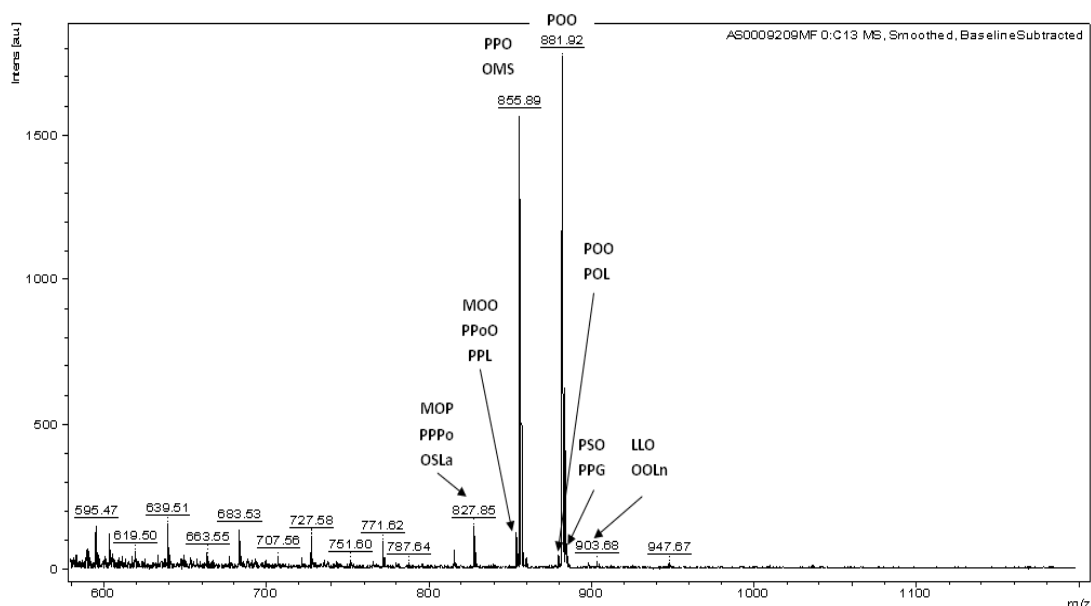
<b>Phospholipides</b>	<b>g/100 g phospholipides</b>
<b>PE</b>	32,7 ± 0,9
<b>LPE+ PI</b>	17,0 ± 1,1
<b>PS</b>	3,8 ± 0,8
<b>PC</b>	20,6 ± 1,5
<b>SPH</b>	6,9 ± 0,4
<b>LPC</b>	19,0 ± 1,9

PE: phosphatidylethanolamine ; LPE: lysophosphatidylethanolamine; PS: phosphatidylserine; PI: phosphatidylinositol; PC: phosphatidylcholine; SPH: sphingomyeline; LPC: lysophosphatidylcholine.

Les résultats montrent que les éthanolamines phospholipides représentent  $49,7 \pm 2,0$  g/100 g PL, les cholines phospholipides  $39,6 \pm 3,4$  g/100 g PL. La sphingomyéline et la phosphatidylserine sont représentées en de faibles proportions.

#### **III.1.1.2.8. Identification des espèces moléculaires de la fraction lipides neutres des larves de *Rhynchophorus phoenicis* par MALDI TOF et par HPLC DEDL**

La composition en espèces moléculaires de la fraction lipides neutres des larves de *Rhynchophorus phoenicis* a été analysée en utilisant deux techniques : la spectrométrie de masse (MALDI TOF) et la chromatographie en phase inverse (HPLC-DEDL). La figure 18 suivante montre le spectre de masse des lipides neutres des larves de *R. phoenicis* identifiées par MALDI TOF. Les données des ions moléculaires sont présentées en Annexe 6 (Tableau 3).



**Figure 18:** Spectre de masse de triglycérides de l'extrait lipidique des larves *Rhynchophorus phoenicis*

Une HPLC en phase inversée-DEDL a également été effectuée pour analyser, identifier et quantifier les triglycérides des larves de *Rhynchophorus phoenicis*. Le tableau XVIII montre les structures possibles de triglycérides identifiées et quantifiées par MALDI TOF et HPLC DEDL.

**Tableau XVIII:** Composition en triglycérides des lipides neutres des larves de *Rhynchophorus phoenicis* après détermination par HPLC-DEDL et MALDI TOF.

	TAG composition	CN : DB	ECN	HPLC-ELSD % TAG (g/100g)
<b>903,68</b>	<b>OOLn</b>	54 : 5	44	traces
	<b>LLO</b>	54 : 5	44	
<b>879,89</b>	<b>PoOO</b>	52 : 3	46	3,7 ± 0,2
	<b>POL</b>	52 : 3	46	
<b>853,91</b>	<b>MOO</b>	50 : 2	46	7,1 ± 0,2
	<b>PPoO</b>	50 : 2	46	
	<b>PPL</b>	50 : 2	46	
<b>827,85</b>	<b>MOP</b>	48 : 1	46	7,9 ± 0,0
	<b>PPPo</b>	48 : 1	46	
	<b>OSLa</b>	48 : 1	46	
<b>881,96</b>	<b>POO</b>	52 : 2	48	36,4 ± 0,3
<b>855,83</b>	<b>PPO</b>	50 : 1	48	30,4 ± 0,3
	<b>OMS</b>	50 : 1	48	
<b>n.i.(857 attendu)</b>	<b>SPP</b>	50 : 0	50	traces
<b>884,00</b>	<b>PSO</b>	52 : 1	50	12,8 ± 0,2
	<b>PPG</b>	52 : 1	50	
<b>n.i.(886 attendu)</b>	<b>PSS</b>	52 : 0	52	1,8 ± 0,1

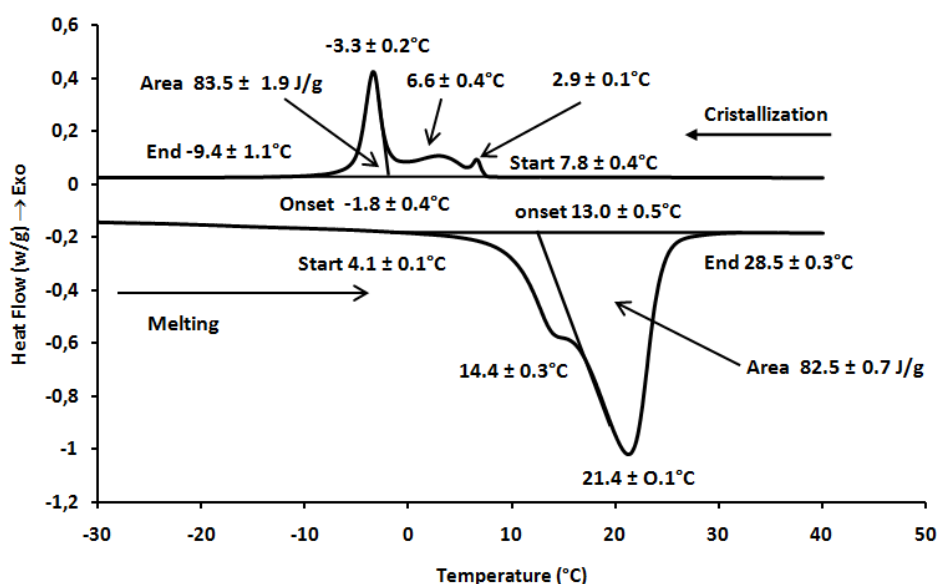
n.i : non identifié



Les deux techniques sont complémentaires pour confirmer l'identification des structures des triglycérides. Cependant elles ne permettent pas de spécifier la position des acides gras sur le glycérol. En combinant les données obtenues par HPLC et par MALDI TOF, on observe que 17 espèces moléculaires ont été identifiées chez les lipides neutres des larves de *Rhynchophorus phoenicis* larves: OOLn, LLO, POOO, POL, MOO, PPoO, PPL, MOP, OPVP, OSLa, POO, PPO, OMS, SPP, PSO, PPG et PSS (où O est l'acide oléique, Ln est l'acide linoléique, L est l'acide linoléique, P est l'acide palmitique, G est l'acide gadoléique, S est l'acide stéarique). Les deux triglycérides majoritaires identifiés sont le POO ( $36,3 \pm 0,3$  g/100 g triglycérides) et l'OPP ( $30,3 \pm 0,3$  g/100 g triglycérides). Par MALDI TOF, ces triglycérides ont été identifiés avec les scores élevés, respectivement 117,19 pour OOP et 100 pour OPP.

### III.1.1.2.9. Propriétés thermiques de l'extrait lipidique des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

La calorimétrie différentielle à balayage (DSC) est une technique appropriée pour déterminer les propriétés thermiques des lipides. Elle a été utilisée pour déterminer les profils de fusion et de cristallisation des extraits lipidiques de larves de *Rhynchophorus phoenicis*. Les courbes de cristallisation et de fusion des larves de *R. phoenicis* sont montrées dans la figure 19.



**Figure 19:** Courbe de cristallisation et de fusion de l'extrait lipidique des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Comme le montre la figure 19, les courbes de cristallisation et de fusion ont toutes deux des pics incluant dans une large plage de température. La plage de cristallisation des lipides des larves de *Rhynchophorus phoenicis* est comprise entre  $7,8 \pm 0,4$  °C et  $-9,4 \pm 1,2$  °C. Elle montre un exotherme avec trois pics se chevauchant et donc le maximum de température est de  $-3,3 \pm 0,2$  °C. La courbe de fusion montre un grand pic endothermique avec une plage de température de fusion qui commence à  $4 \pm 0$  °C et se termine à  $28,5 \pm 0,3$  °C. Ces résultats montrent que les lipides des larves de *R. phoenicis* sont des huiles et non des graisses.

### III.1.1.2.10. Composition en acides gras des lipides totaux et fractions lipidiques des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Le tableau XIX présente la composition en acides gras des fractions lipidiques totales des larves de *Rhynchophorus phoenicis*.

**Tableau XIX:** Composition en acides gras des fractions des lipides des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Acides gras	LT (mg/g lipide)	LT (g/100g AG)	TAGs (g/100g AG)	GL (g/100g AG)	PL (g/100g AG)
12:0	1,1 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	/	/
14:0	22,7 ± 0,4	2,8 ± 0,2	3,0 ± 0,0	3,1 ± 0,3	0,6 ± 0,0
15:0	1,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0
16:0	309,4 ± 11,9	38,6 ± 0,6	39,1 ± 0,3	37,7 ± 2,7	19,8 ± 0,4
18:0	40,6 ± 2,9	5,1 ± 0,1	5,1 ± 0,2	6,1 ± 0,7	7,0 ± 0,3
20:0	5,8 ± 0,4	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,2	4,4 ± 0,1
21:0	/	/	/	/	0,4 ± 0,0
22:0	/	/	/	0,1 ± 0,1	3,1 ± 0,1
23:0	/	/	/	/	0,6 ± 0,2
<b>Total AGS</b>	<b>381 ± 16</b>	<b>47,5 ± 1,0</b>	<b>48,1 ± 0,5</b>	<b>48 ± 4</b>	<b>36,3 ± 1,1</b>
16:1n-9	1,7 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,4 ± 0,1
16:1n-7	22,3 ± 0,8	2,8 ± 0,1	2,8 ± 0,0	2,6 ± 0,4	3,2 ± 0,0
18:1n-9	364,4 ± 25,1	45,4 ± 0,8	45,1 ± 0,1	41,6 ± 1,4	27,2 ± 1,2
18:1 n-7	/	/	/	0,2 ± 0,0	/
20:1n-9	1,3 ± 0,4	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,8 ± 0,0
22:1n-9	Trace	Trace	Trace	0,3 ± 0,2	1,4 ± 0,5
<b>Total AGMI</b>	<b>390 ± 27</b>	<b>48,5 ± 0,9</b>	<b>48,3 ± 0,2</b>	<b>45,3 ± 2,0</b>	<b>33,0 ± 1,8</b>
18:2n-6	25,2 ± 1,6	3,1 ± 0,0	2,9 ± 0,0	5,3 ± 1,4	22,2 ± 0,4
18:3 n-3	7,2 ± 1,5	0,9 ± 0,1	0,7 ± 0,0	1,4 ± 0,5	8,2 ± 0,5
22:2 n-6	/	/	/	/	0,4 ± 0,1
<b>Total AGPI*</b>	<b>32 ± 3</b>	<b>4,0 ± 0,2</b>	<b>3,6 ± 0,1</b>	<b>6,7 ± 1,9</b>	<b>30,8 ± 1,0</b>
<b>n-6/n-3</b>	<b>3,49</b>	<b>3,50</b>	<b>4,0</b>	<b>3,6</b>	<b>2,7</b>

AG: acide gras; AGS: acides gras saturés, AGMI: acide gras monoinsaturé; AGPI: acide gras polyinsaturé; AGI: acide gras insaturé; TG: triglycérides. \* Absence des acides gras insaturés à longue chaîne.

Treize acides gras ont été identifiés. Les acides gras représentent  $803 \pm 46$  mg/g de lipides totaux. Les acides gras saturés (AGS) représentent  $47,5 \pm 1,0$  g/100 g d'acides gras totaux, tandis que les acides gras insaturés (AGI) représentent  $52,5 \pm 1,1$  g/100g AG. Les acides gras majoritaires sont l'acide oléique (C18 : 1n-9 :  $45,4 \pm 0,8$  g/100 g AG) et l'acide palmitique (C16 :  $38,6 \pm 0,6$  g/100 g d'AG). Les acides gras polyinsaturés (AGPI) représentent  $4,0 \pm 0,2$  g/100 g AG. Les seuls AGPI identifiés sont l'acide linoléique ( $3,1 \pm 0,0$  g / 100 g AG) et l'acide  $\alpha$ -linoléique ( $0,9 \pm 0,1$  g/100 g AG). La composition en acides gras des lipides neutres est proche de celle de lipides totaux. Dans la fraction glycolipides, les acides gras C22 :0 et C18 :1n-7 absents chez les lipides neutres ont été identifiés. Par contre, le C12 est absent. Chez les larves de *Rhynchophorus phoenicis*, la fraction phospholipidique est constituée de  $36,2 \pm 1,3$  g/100 g d'acides gras saturés, et majoritairement de  $63,8 \pm 2,8$  g/100 g d'acides gras insaturés. Les trois principaux acides gras sont l'acide oléique ( $27,2 \pm 1,2$  g/100 g AG), l'acide linoléique ( $22,2 \pm 0,4$  g/100 g AG) et l'acide palmitique ( $19,8 \pm 0,4$  g/100 g AG). Les AGPI représentent  $30,7 \pm 1,0$  g/100 g AG sont présents en des proportions plus élevées que dans les lipides totaux et neutres. Les AGPI des phospholipides sont composés exclusivement d'acide linoléique ( $22,1 \pm 0,3$  g/100 g AG), d'acide  $\alpha$ -linoléique ( $8,2 \pm 0,5$  g/100 g AG) et de C22 : 2 n-6 ( $0,4$  g/100 g AG). On note cependant l'absence des acides gras polyinsaturés à longue chaîne tels que l'acide arachidonique (AA), l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA). Les autres spécificités de la composition en AG des phospholipides sont l'absence de l'acide laurique (C12: 0) présente dans les lipides totaux ( $0,1$  g/100 g AG) et dans la fraction lipides neutres ( $0,2$  g/100 g AG). On note également la présence des acides gras tels que l'acide uncosanoïque (C21 : 0), l'acide docosanoïque (C22 : 0), l'acide tricosanoïque (C23 : 0) ; l'acide érucique (C22 : 1n-9) et l'acide docosadiénoïque (C22 : 2 n-6). Le rapport n6/n3 des AGPI est de 3,5 et est très intéressant sur le plan alimentaire.

### III.1.1.3. Composition chimique des larves d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea*

#### III.1.1.3.1. Facteur de conversion azote protéine et teneur en azote non protéique des chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea*

Le tableau XX présente les facteurs de conversion azote protéine des chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea* ; et les pourcentages en azote protéique et non

protéique présents dans les insectes. Les facteurs de conversion ont été calculés à partir de la somme des résidus d'acides aminés et la teneur en azote total obtenue par la méthode de Dumas (Annexe 5 ; Tableau 1).

**Tableau XX :** facteur de conversion azote protéine et azote non protéique des chenilles d'*Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea*.

	TRAA (g/100 g FI)	N (g/100 g FI)	FC	N TRAA (g/100 g FI)	AP (g/100 g N)	ANP (g/100 g N)
<i>Imbrasia truncata</i>	61,56	10,26 ± 0,35	6,01 ± 0,21 <sup>a</sup>	2,92	91,88	8,12
<i>Imbrasia epimethea</i>	66,81	10,66 ± 0,25	6,27 ± 0,15 <sup>a</sup>	3,13	97,72	2,28

FI : farine insecte ; N: azote; MH: matière humide; TRAA: total résidus d'acides aminés; FC: facteur de conversion N → P; AP: azote protéique ; ANP : azote non protéique

Des facteurs de conversion azote-protéines de  $6,01 \pm 0,21$  et  $6,27 \pm 0,15$  ont été trouvés respectivement chez *Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea*. Le pourcentage en azote non protéique a été déterminé en soustrayant la masse d'azote calculée à partir des résidus d'acides aminés de la masse d'azote total déterminée par la méthode de Dumas. L'azote non protéique représente 2,28 g/100 g d'azote total chez *I. epimethea* et 8,12 g/100 g d'azote total dans *I. truncata*.

### III.1.1.3.2. Composition centésimale des chenilles d'*Imbrasia epimethea* et d'*Imbrasia truncata*

La composition centésimale des chenilles d'*Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea* est présentée dans le tableau XXI.

**Tableau XXI:** Composition proximale des chenilles *Imbrasia epimethea* et *Imbrasia truncata*

	Eau	Lipides	Protéines	Glucide*	Cendres	Énergie kJ (kcal)
<b>g/100 g MH</b>						
<i>I. truncata</i>	69,7 ± 1,5 <sup>Aa</sup>	6,8 ± 0,6 <sup>Ab</sup>	19,1 ± 0,7 <sup>Ac</sup>	3,37	1,03 ± 0,01 <sup>A</sup>	632,1 (151,1)
<i>I. epimethea</i>	70,7 ± 0,9 <sup>Aa</sup>	6,7 ± 0,2 <sup>Ab</sup>	20,1 ± 0,5 <sup>Ac</sup>	1,53	0,97 ± 0,01 <sup>B</sup>	614,3 (146,8)
<b>g/100 g MS</b>						
<i>I. truncata</i>	/	22,6 ± 2,1 <sup>Ba</sup>	62,9 ± 2,1 <sup>Bb</sup>	11,09	3,41 ± 0,03 <sup>E</sup>	2089,3 (499,4)
<i>I. epimethea</i>	/	22,8 ± 0,8 <sup>Ba</sup>	68,6 ± 1,6 <sup>Cb</sup>	5,28	3,32 ± 0,04 <sup>F</sup>	2095,0 (500,7)

\*Les teneurs en glucides ont été obtenues par différence. MH : matière humide ; MS : matière sèche

Pour une teneur en nutriment donné, les moyennes avec différentes lettres majuscules à l'intérieur d'une colonne sont significativement différentes ( $p < 0,05$ )

Pour une espèce d'*Imbrasia* donné, les moyennes avec différentes lettres minuscules à l'intérieur d'une ligne sont significativement différentes ( $p < 0,05$ )

Les teneurs en eau des deux chenilles sont statistiquement égales et sont respectivement de  $69,7 \pm 1,5$  g/100 g de matière humide (MH) pour *Imbrasia truncata* et  $70,7 \pm 0,9$  g/100 g MH pour *I. epimethea*. Sur la base du poids frais, les protéines représentent le deuxième composant principal des chenilles *I. truncata* et *I. epimethea*. Leurs teneurs en protéines sont statistiquement égales, soit  $19,1 \pm 0,7$  g/100 g MH pour *I. truncata* et  $20,1 \pm 0,5$  g/100 g MH pour *I. epimethea*. Les lipides totaux représentent après les protéines, la troisième composante principale des chenilles d'*I. truncata* et *I. epimethea*. Leurs teneurs en lipides totaux sont également statistiquement égales et sont de  $6,8 \pm 0,6$  g/100g MH pour *I. truncata* et de  $6,7 \pm 0,2$  g/100 g MH pour *I. epimethea*. Les deux chenilles ont des valeurs énergétiques très proches, respectivement de 632,1 kJ/100 g MH (151,1 kcal/100 g MH) pour *I. truncata* et 614,3 kJ/100 g MH (146,8 kcal/100 g MH) pour *I. epimethea*.

#### III.1.1.3.3. Composition en acide aminés des chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea*

Les compositions des acides aminés des chenilles *Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea* sont présentées dans le tableau XXII. Les deux insectes contiennent dix-huit acides aminés connus, dont tous les acides aminés indispensables (AAI). L'acide glutamique est l'acide aminé majoritaire : 145,4 mg/g de protéine chez *I. truncata* et 138,8 mg/g de protéine chez *I. epimethea*. L'acide aminé le moins abondant est la cystéine avec une teneur de 10,2 mg/g de protéine chez *I. truncata* et une teneur de 12,4 mg/g de protéine chez *I. epimethea*. En dehors de l'acide aspartique, la valine, la phénylalanine et la tyrosine, les autres acides aminés ont des teneurs très proches lorsqu'on compare la composition en acide aminés des deux chenilles. Chez *I. epimethea*, la somme des acides aminés indispensables est de 513,2 mg / g de protéine (10310 mg/100 g MH) tandis que chez *I. truncata*, elle est de 536,6 mg / g de protéine (10228 mg/100 g MH). Ces résultats montrent que les protéines de ces deux chenilles ont une composition en acide aminés très voisine et qu'elles contiennent des acides aminés indispensables en quantité très appréciables.

Tableau XXII: Composition en acides aminés des chenilles *Imbrasia epimethea* et *Imbrasia truncata*

	<i>Imbrasia epimethea</i>	<i>Imbrasia truncata</i>	protéine (1)	<i>Imbrasia epimethea</i>	<i>Imbrasia truncata</i>	<i>Imbrasia epimethea</i>	<i>Imbrasia truncata</i>	Poisson (chair)(2)	Bœuf/veau (2)	Poulet (chair)(2)	OMS RV(3)	
	(mg/g protéine)			score AAI				(mg/100g MH)				
AANI	Alanine	46,3	37,6			930	716	1126	1033	682		
	Arginine	54,8	50,9			1100	971	1066	1118	1114		
	Acide aspartique	101,0	87,5			2029	1668	1947	1590	1834		
	Acide glutamique	138,8	145,4			2789	2772	2655	2703	3002		
	Glycine	42,7	44,1			858	840	906	860	1059		
	Proline	54,7	53,4			1098	1018	692	628	829		
	Serine	48,3	43,8			970	834	816	713	781		
	<b>Total AANI</b>	<b>486,5</b>	<b>462,7</b>			<b>9773</b>	<b>8819</b>					
AAI	Histidine	34,1	34,9	15	2,27	2,33	685	666	665	603	525	<b>690</b>
	Isoleucine	43,0	42,4	30	1,43	1,41	865	809	900	852	1069	<b>1380</b>
	Leucine	62,2	60,2	59	1,05	1,02	1250	1148	1445	1435	1472	<b>1794</b>
	Lysine	73,6	76,0	45	1,64	1,69	1479	1449	1713	1573	1590	<b>2070</b>
	Thréonine	60,1	54,4	23	2,61	2,36	1207	1036	861	812	794	<b>1058</b>
	Valine	52,2	45,3	39	1,34	1,16	1049	864	1150	886	1018	<b>1794</b>
	Phénylalanine	55,5	41,9	30	1,85	1,40	1114	799	737	778	800	
	Tryptophane	13,2	12,9	6	2,21	2,15	266	245			205	<b>276</b>
	Tyrosine	90,7	138,9				1821	2647	689	637	669	
	<b>AAA *</b>	<b>159,3</b>	<b>193,7</b>	<b>30</b>	<b>5,31</b>	<b>6,46</b>	<b>3201</b>	<b>3692</b>	<b>1426</b>	<b>1415</b>	<b>1469</b>	<b>1748</b>
	Cystéine	10,2	12,4	6	1,70	2,07	205	237	220	226	262	
	Méthionine	18,4	17,1	16	1,15	1,07	370	326	539	478	502	
	<b>AAS**</b>	<b>28,6</b>	<b>29,6</b>	<b>22</b>	<b>1,30</b>	<b>1,34</b>	<b>575</b>	<b>564</b>	<b>759</b>	<b>704</b>	<b>764</b>	<b>1012</b>
	<b>Total AAI</b>	<b>513,2</b>	<b>536,6</b>	<b>269</b>			<b>10310</b>	<b>10228</b>	<b>8919</b>	<b>8280</b>	<b>8906</b>	<b>9062</b>
	<b>Total AA</b>	<b>999,6</b>	<b>999,2</b>				<b>22084</b>	<b>23312</b>	<b>18338</b>	<b>17163</b>	<b>18206</b>	

\*AAA: acide amines aromatique (Phénylalanine + tyrosine). \*\* AAS: acides amines soufrés (Méthionine + cystéine); a.a. = acides aminés, (WHO, 2007);

(1) Protéine de référence FAO/WHO/UNU (2007); (2) : (FAO, 1970); (3) OMS VR: Valeur de référence (FAO/WHO/UNU, 2007) besoin journalier en acide aminés pour une femme de 55Kg consommant 46g de protéine par jour.

AA : acide aminé; AAI: acide aminé indispensable; AANI: acide aminé non indispensable; AAS: acide aminé soufré; AAA: acide aminé aromatique; FAO: Food and Agriculture Organisation, WHO: World Health Organization; UNU: United Nations University

#### III.1.1.3.4. Composition en potassium, calcium et magnésium des chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea*

Le tableau XXIII présente la teneur en potassium, calcium et magnésium des chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea*. Les résultats présentés sont la moyenne de deux analyses.

**Tableau XXIII :** Teneurs en potassium, calcium et magnésium des chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea* (n=2) comparé aux apports journaliers recommandés

Chenilles	Potassium	Calcium	Magnésium
<i>Imbrasia truncata</i> (mg/100 g MH)	346,2 <sup>B</sup> (357,2 ; 335,2)	22,2 <sup>B</sup> (22,1 ; 22,2)	47,5 <sup>B</sup> (47,3 ; 47,7)
<i>Imbrasia epimethea</i> (mg/100 g MH)	415,1 <sup>A</sup> (421,9 ; 408,3)	39,8 <sup>A</sup> (41,1 ; 38,4)	65,7 <sup>A</sup> (65,7 ; 65,6)
<i>Imbrasia truncata</i> (mg/100 g MS)	1142,6 <sup>B</sup> (1178,9 ; 1106,2)	73,2 <sup>B</sup> (73,0 ; 73,4)	156,8 <sup>B</sup> (156,1 ; 157,5)
<i>Imbrasia epimethea</i> (mg/100 g MS)	1417,7 <sup>A</sup> (1440,9 ; 1394,4)	135,8 <sup>A</sup> (140,5 ; 131,1)	224,3 <sup>A</sup> (224,3 ; 224,2)
‘source de’ (mg/100 g MH) (WHO/FAO, 2007)		120	45
‘élevé en ’ (mg/100 g MH) (WHO/FAO, 2007)		240	90
<b>Apport Journalier Recommandé (mg/jour)</b>	4700	1000	220 <sup>a</sup> /260 <sup>b</sup>

\*FAO (2001); valeur recommandé pour un adulte (a) femme (19 – ménopause); (b) homme (19 - 65 ans)

Les valeurs entre parenthèses sont les données individuelles des duplicates

Pour un minéral donné, et pour chaque état (matière fraîche ou matière sèche), les valeurs moyennes surmontées de lettres majuscules, sont significativement différentes ( $p < 0,05$ )

MH : matière humide; MS: matière sèche

Parmi les trois minéraux déterminés, le potassium est le plus abondant chez les deux insectes avec une teneur allant de 346,2 mg/100 g MH chez *Imbrasia truncata* à 415,1 ± 9,6 mg/100 g MH chez *I. epimethea*. Le calcium est le minéral retrouvé en plus petite proportion avec une teneur allant de 22,2 ± 0,1 mg /100 g MH chez *I. truncata* à 39,8 ± 1,9 mg/100 g MH chez *I. epimethea*.

#### III.1.1.3.5. Composition en tocophérols des chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea*

Les compositions en tocophérols des chenilles d'*Imbrasia epimethea* et d'*I. truncata* sont présentées dans le tableau XXIV.

Tableau XXIV: Composition en tocophérols des lipides des chenilles *Imbrasia truncata* and *Imbrasia epimethea*

	<i>Imbrasia truncata</i>	<i>Imbrasia epimethea</i>	ANC
<b>a-tocophérol (µg/g lipid)</b>	76,6 ± 11,2 <sup>A</sup>	62,1 ± 9,0 <sup>A</sup>	
<b>b-tocophérol (µg/g lipide)</b>	10,9 ± 2,3 <sup>A</sup>	3,3 ± 1,0 <sup>B</sup>	
<b>g-tocophérol (µg/g lipide)</b>	21,9 ± 3,3 <sup>A</sup>	149,7 ± 12,1 <sup>B</sup>	
<b>d-tocophérol (µg/g lipide)</b>	10,4 ± 1,1 <sup>A</sup>	9,2 ± 0,8 <sup>A</sup>	
<b>Tocos totaux(µg/g lipide)</b>	119,7 ± 16,5 <sup>A</sup>	224,4 ± 22,5 <sup>B</sup>	
<b>a-tocophérol (mg/100g MH)</b>	0,52 ± 0,08 <sup>A</sup>	0,41 ± 0,06 <sup>A</sup>	12-15
<b>b-tocophérol ((mg/100g MH)</b>	0,07 ± 0,02 <sup>A</sup>	0,02 ± 0,01 <sup>B</sup>	
<b>g-tocophérol (mg/100g MH)</b>	0,15 ± 0,02 <sup>A</sup>	1,00 ± 0,08 <sup>B</sup>	
<b>d-tocophérol (mg/100g MH)</b>	0,07 ± 0,01 <sup>A</sup>	0,06 ± 0,01 <sup>A</sup>	
<b>Tocos totaux (mg/100g MH)</b>	0,82 ± 0,11 <sup>A</sup>	1,50 ± 0,15 <sup>B</sup>	

MH: matière humide ; ANC : apport nutritionnel conseillé

Pour une composition donnée en tocophérol, les moyennes avec différentes lettres majuscules à l'intérieur des lignes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ )

Parmi les isomères de tocophérols rencontrés chez les lipides de ces insectes, l' $\alpha$ -tocophérol est l'isomère majeur chez *I. truncata* ( $76,6 \pm 11,2 \mu\text{g/g}$  lipide) et le  $\gamma$ -tocophérol ( $149,7 \pm 12,1 \mu\text{g/g}$  lipide) l'isomère majeur chez *I. epimethea*. Les quantités d' $\alpha$ -tocophérol varient entre  $62,1 \pm 9,0 \mu\text{g/g}$  de lipides chez *I. truncata* à  $76,6 \pm 11,2 \mu\text{g/g}$  de lipides chez *I. epimethea*. Les quantités de  $\gamma$ -tocophérol varient de  $21,9 \pm 3,3 \mu\text{g/g}$  de lipides chez *I. truncata* à  $149,7 \pm 12,1 \mu\text{g/g}$  de lipide chez *I. epimethea*. La teneur en tocophérol totaux est de  $119,7 \pm 16,5 \mu\text{g/g}$  de lipide chez *I. truncata* et  $224,4 \pm 22,5 \mu\text{g/g}$  de lipide chez *I. epimethea*. En fonction du poids frais, les teneurs en  $\alpha$ -tocophérol étaient significativement différentes, respectivement de  $0,52 \pm 0,08 \text{ mg/100 g MH}$  chez *I. truncata* et de  $0,41 \pm 0,06 \text{ mg/100 g MH}$  chez *I. epimethea*. Les tocophérols totaux représentent  $0,82 \pm 0,11 \text{ mg/100 g MH}$  chez *I. epimethea* et  $1,50 \pm 0,15 \text{ mg/100 g MH}$  chez *I. truncata*.

#### III.1.1.3.6. Fraction des lipides totaux des chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea*

Les distributions des fractions lipidiques d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea* sont présentées dans le tableau XXV.



**Tableau XXV:** Fraction des lipides des chenilles de *Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea*

Types d'insectes	Lipides neutres	Glycolipides	Phospholipides
<i>Imbrasia truncata</i> (g/100g lipides)	96,23 ± 0,22 <sup>A</sup>	2,25 ± 0,44 <sup>A</sup>	1,52 ± 0,24 <sup>A</sup>
<i>Imbrasia epimethea</i> (g/100g lipides)	94,07 ± 1,07 <sup>B</sup>	3,26 ± 0,86 <sup>A</sup>	2,67 ± 0,27 <sup>B</sup>
<i>Imbrasia truncata</i> (g/100g MH)	6,58 ± 0,02 <sup>C</sup>	0,15 ± 0,03 <sup>B</sup>	0,10 ± 0,02 <sup>C</sup>
<i>Imbrasia epimethea</i> (g/100g MH)	6,27 ± 0,07 <sup>D</sup>	0,22 ± 0,06 <sup>B</sup>	0,18 ± 0,02 <sup>D</sup>

MH: matière humide

Pour une fraction lipidique donnée, les moyennes avec différentes lettres majuscules à l'intérieur d'une colonne sont significativement différentes pour les deux espèces d'*Imbrasia* ( $p < 0.05$ ).

Les différentes fractions obtenues après séparation chromatographique des lipides totaux sont les lipides neutres et les lipides polaires. La fraction lipides neutres est la fraction majoritaire des lipides totaux de ces insectes. *Imbrasia truncata* possède la fraction lipides neutres en quantité plus élevée ( $96,23 \pm 0,22$  g/100 g de lipides) que *Imbrasia epimethea* ( $94,07 \pm 1,07$  g/100 g de lipides). Les glycolipides (GL) et les phospholipides (PL) sont les fractions mineures avec des teneurs inférieures à 4 g/100 g lipides. Chez *I. truncata*, la fraction GL représente  $2,25 \pm 0,44$  g/100 g de lipides et tandis que la fraction PL représente  $3,26 \pm 0,86$  g/100 g de lipides. Chez *I. epimethea*, la fraction GL représente  $1,52 \pm 0,24$  g/100 g de lipides tandis que la fraction PL représente  $2,67 \pm 0,27$  g/100 g de lipides.

#### III.1.1.3.7. Composition des fractions des lipides totaux des chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea*

Les compositions en classe des différentes fractions de lipides des deux insectes sont présentées dans les parties suivantes.

##### III.1.1.3.7.1. Composition en classe des lipides neutres des chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea*

L'analyse de la composition en classe des lipides neutres chez les chenilles sacrifiées, congelées, dégelées et éviscérées a montré la présence majoritaire des acides gras libres (Annexe 7, Figure c). L'analyse effectuée chez les lipides neutres des chenilles sacrifiées, congelées, dégelées et ébouillantées avant éviscération a montré la présence des triacylglycérols et des acides gras libres (Annexe 7, Figure d). Ce résultat a laissé suggérer que les lipides totaux ont été hydrolysés soit pendant l'étape de stockage ou alors pendant l'étape d'extraction.

### III.1.1.3.7.2. Composition en classes des phospholipides des chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea*

Le tableau XXVI présente les classes de phospholipides présentent chez les chenilles *Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea*.

**Tableau XXVI:** Composition en phospholipides d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea* (g/100 g de phospholipide)

	<i>Imbrasia truncata</i>	<i>Imbrasia epimethea</i>
PE	7,5 ± 1,7 <sup>A</sup>	6,7 ± 1,1 <sup>A</sup>
LPE + PI	2,9 ± 0,2 <sup>A</sup>	3,3 ± 0,9 <sup>A</sup>
PC	25,5 ± 1,5 <sup>A</sup>	13,4 ± 4,6 <sup>B</sup>
SPH	61,8 ± 2,2 <sup>A</sup>	71,0 ± 9,3 <sup>A</sup>
LPC	2,3 ± 1,1 <sup>A</sup>	5,6 ± 6,2 <sup>A</sup>

PE: phosphatidylethanolamine; LPE: lyso-phosphatidylethanolamine; PS: phosphatidylserine; PI: phosphatidylinositol; PC: phosphatidylcholine; SPH: sphingomyeline; LPC: lysophosphatidylcholine.

Pour une classe de phospholipide donnée, les moyennes avec différentes lettres majuscules à l'intérieur d'une ligne sont significativement différentes pour les deux espèces d'*Imbrasia* (p < 0.05).

Les deux espèces de chenilles sont composées en majorité de sphingomyéline dont la teneur est de 61,8 ± 2,2 g/100 g phospholipide chez *Imbrasia truncata* et 71,0 ± 9,3 g/100 g phospholipide chez *Imbrasia epimethea* respectivement. Les autres composés sont présents mais en faible quantité. Les lysophospholipides représentent moins de 10 g/100 g de PL chez ces deux chenilles.

### III.1.1.3.8. Composition en acides gras des lipides totaux et fractions lipidiques des chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea*

Les compositions et concentrations en acides gras des extraits lipidiques des chenilles d'*Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea* sont présentées dans le tableau XXVII. Les mêmes acides gras ont été identifiés chez les deux insectes à une différence près. *I. truncata* contient 16 acides gras identifiés tandis qu'*I. epimethea* en contient 17 avec comme acide gras supplémentaire le C20: 1n-9. La teneur en acides gras totaux varie de 664,1 ± 53,7 mg/g de lipides chez *I. truncata* à 755,4 ± 4,3 mg/lipide chez *I. epimethea*. Les acides gras insaturés sont retrouvés majoritairement chez ces insectes représentant entre 59,13 ± 0,29 et 64,76 ± 3,87 g/100 g des acides gras totaux. Les teneurs en acides gras polyinsaturés (AGPI) de ces insectes sont significativement différentes et varient de 48,68 ± 0,25 g/100 g AG (2,78 ± 0,19 g/100 g MH) chez *I. truncata* à 55,17 ± 3,51 g/100 g AG (2,21 ± 0,18 g/100 g MH) chez *I.*

*epimethea*. Leurs AGPI sont constitués en majorité de l'acide  $\alpha$ -linoléique (C18:3n-3) qui représente  $41,70 \pm 0,17$  g/100 g AG ( $1,89 \pm 0,15$  g/100 g MH) chez *I. truncata* et  $42,87 \pm 2,34$  g/100 g AG ( $2,16 \pm 0,13$  g/100 g MH) chez *I. epimethea*. L'acide linoléique (C18:2n-6) et l'acide  $\gamma$ -linoléique (C18:3n-6) sont faiblement représentés.

Les rapports n3 /n6 obtenus sont très faibles et sont de 0,16 chez *Imbrasia truncata* et  $0,28 \pm 0,02$  chez *Imbrasia epimethea*. L'analyse de la fraction lipide neutre montre une composition en acides gras identique à celle des lipides totaux. Ce résultat n'est pas surprenant quand on sait que les lipides neutres de ces insectes représentent plus de 94g/100g des lipides totaux chez ces insectes. La composition en AG des phospholipides de ces insectes est tout à fait particulière. On note en effet l'apparition de nombreux acides gras tels que l'acide uncosanoïque (C21); l'acide docosanoïque (C22); l'acide tricosanoïque (C23); tetracosanoïque (C24); acide eicosaénoïque (C20: 1n-9); docosaénoïque (C22: 1n-9); acide eicosadiénoïque (C20: 2); acide docosadiénoïque (C22: 2) et l'acide eicosapentaénoïque (C20:5n-3) uniquement présent chez *I. epimethea* ( $0,45 \pm 0,12$  g/100 g AG). La teneur en AG des phospholipides chez ces insectes est similaire et varie de  $182,2 \pm 42,4$  g/100 g AG chez *I. epimethea* à  $228,6 \pm 77,9$  g/100 g AG chez *I. truncata*. L'acide gras majoritaire des phospholipides de ces insectes est comme chez les lipides neutres, l'acide  $\alpha$ -linoléique (C18: 3n-3) avec des teneurs similaires qui varient de  $25,88 \pm 2,46$  à  $26,73 \pm 2,21$  g/100 g AG. La composition en acides gras de la fraction glycolipidiques de ces insectes est tout aussi particulière. On y retrouve toujours et en majorité les AGPI avec des teneurs qui varient de  $39,54 \pm 2,66$  g/100 g AG chez *I. truncata* à  $43,47 \pm 1,03$  g/100 g AG chez *I. epimethea*. L'acide  $\alpha$ -linoléique demeure l'AG majoritaire chez les glycolipides avec des teneurs similaires chez *I. truncata* ( $33,26 \pm 2,27$  g/100 g AG) et chez *I. epimethea* ( $32,75 \pm 1,29$  g/100 g AG). L'EPA qui est un acide gras polyinsaturé à longue chaîne (AGPI-LC) très prisé sur le plan alimentaire est également rencontré dans la fraction GL de ces insectes avec des teneurs variant de  $0,15 \pm 0,05$  chez *I. epimethea* à  $0,16 \pm 0,07$  g/100 g AG chez *I. truncata*. Ces résultats montrent que les lipides de ces insectes contiennent des acides gras de haute valeur alimentaire.

Tableau XXVII: Composition en acide gras de fractions lipidiques d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea*

acides gras	LT	LT	LN	LN	GL	GL	PL	PL	LT	LT
	<i>Imbrasia truncata</i>	<i>Imbrasia epimethea</i>	<i>Imbrasia truncata</i>	<i>Imbrasia epimethea</i>	<i>Imbrasia truncata</i>	<i>Imbrasia epimethea</i>	<i>Imbrasia truncata</i>	<i>Imbrasia epimethea</i>	<i>Imbrasia truncata</i>	<i>Imbrasia epimethea</i>
	(g/100 g AG)								(g/100 g MH)	
<b>Qtt AG (µg)</b>	<b>664,1 ± 53,7AB</b>	<b>755.4 ± 4.3A</b>	<b>793,9 ± 24.8A</b>	<b>644.4 ± 38.9AB</b>	<b>526.1 ± 211.7BC</b>	<b>449.0 ± 60.8C</b>	<b>228.6 ± 77,9D</b>	<b>182,2 ± 42,4D</b>		
<b>C14</b>	0,40 ± 0,02A	0,30 ± 0,01A	0,39 ± 0,01A	0,29 ± 0,01A	0,73 ± 0,08B	0,65 ± 0,11B	0,27 ± 0,21A	0,43 ± 0,09A	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00
<b>C15</b>	0,21 ± 0,01A	0,18 ± 0,01A	0,20 ± 0,00A	0,19 ± 0,00A	0,45 ± 0,22B	0,35 ± 0,06AB		0,49 ± 0,07B	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
<b>C16</b>	24,33 ± 0,44A	15,76 ± 1,32B	24,02 ± 0,16A	16,44 ± 0,35B	30,22 ± 2,15C	22,31 ± 0,69A	8,29 ± 0,84D	7,59 ± 2,77D	1,11 ± 0,10	0,79 ± 0,06
<b>C18</b>	15,72 ± 0,19A	18,60 ± 2,49AB	15,84 ± 0,10AC	20,08 ± 0,48B	17,07 ± 0,46A	22,01 ± 1,17C	15,96 ± 0,28A	16,12 ± 1,40A	0,71 ± 0,06	0,94 ± 0,12
<b>C20</b>	0,21 ± 0,03A	0,40 ± 0,06A	0,23 ± 0,02A	0,41 ± 0,03A	0,69 ± 0,03B	0,66 ± 0,06B	10,28 ± 0,23A	13,56 ± 2,03A	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,00
<b>C21</b>					0,21 ± 0,04A	0,68 ± 0,28B	1,23 ± 0,11C	1,16 ± 0,32C		
<b>C22</b>					0,53 ± 0,01A	0,47 ± 0,16A	13,97 ± 0,26B	15,01 ± 2,08B		
<b>C23</b>					0,18 ± 0,09A		1,17 ± 0,02B	0,86 ± 0,19C		
<b>C24</b>							1,15 ± 0,19A	1,61 ± 0,48B		
<b>C15:1</b>	0,39 ± 0,02A	0,40 ± 0,02A	0,38 ± 0,01A	0,38 ± 0,01A					0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00
<b>C16:1n-9</b>	0,15 ± 0,02A	0,17 ± 0,03A	0,15 ± 0,00A	0,00 ± 0,00B	0,26 ± 0,04C	0,26 ± 0,06C	0,32 ± 0,05CD	0,38 ± 0,08D	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
<b>C16:1n-7</b>	0,68 ± 0,02A	0,32 ± 0,01B	0,53 ± 0,10A	0,30 ± 0,01B	1,33 ± 0,19C	0,65 ± 0,03A			0,03 ± 0,00	0,02 ± 0,00
<b>C17:1</b>	0,15 ± 0,00A	0,14 ± 0,00A	0,17 ± 0,02A				1,38 ± 0,46B	0,96 ± 0,13C	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
<b>C18:1n-9</b>	8,53 ± 0,09A	8,03 ± 0,39A	8,59 ± 0,07A	7,85 ± 0,09A	7,22 ± 0,28A	7,24 ± 0,49A	5,04 ± 0,68B	5,58 ± 1,45C	0,39 ± 0,03	0,40 ± 0,02
<b>C18:1n-7</b>	0,55 ± 0,01A	0,35 ± 0,01B	0,55 ± 0,01A	0,35 ± 0,01B	0,49 ± 0,02A	0,28 ± 0,03C	0,43 ± 0,08D		0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00
<b>C20:1n-9</b>		0,18 ± 0,03A		0,21 ± 0,02A	0,34 ± 0,05B	0,44 ± 0,08B	0,43 ± 0,16B			0,01 ± 0,00
<b>C22:1n-9</b>					0,75 ± 0,17A	0,54 ± 0,20A	1,59 ± 0,63B	1,70 ± 0,57B		
<b>C20:2</b>						0,15 ± 0,02A		0,44 ± 0,14B		
<b>C20:4</b>					0,26 ± 0,04A	0,45 ± 0,22A				
<b>C22:2</b>					0,21 ± 0,12A		0,51 ± 0,29B			
<b>C18:2n-6</b>	6,28 ± 0,05AC	11,61 ± 1,27B	6,28 ± 0,02AC	11,25 ± 0,71B	5,06 ± 0,27AC	9,50 ± 1,88BC	10,71 ± 1,35B	7,78 ± 2,78ABC	0,29 ± 0,02	0,59 ± 0,07
<b>C18:3n-6</b>	0,28 ± 0,00AB	0,32 ± 0,01A	0,27 ± 0,01B	0,33 ± 0,01A	0,25 ± 0,04B	0,27 ± 0,04AB			0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,00
<b>C18:3n-3</b>	41,70 ± 0,17A	42,87 ± 2,34A	41,98 ± 0,11A	41,53 ± 0,19A	33,26 ± 2,27B	32,75 ± 1,29B	26,73 ± 2,21C	25,88 ± 2,46C	1,89 ± 0,15	2,16 ± 0,13

<b>C20:3n-3</b>	0,42 ± 0,10AB	0,37 ± 0,06B	0,43 ± 0,02AB	0,40 ± 0,02AB	0,34 ± 0,07B	0,19 ± 0,04C	0,51 ± 0,06A		0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,00
<b>C20:5n-3</b>					0,16 ± 0,07A	0,15 ± 0,05A		0,45 ± 0,12B		
<b>SFA</b>	40,89 ± 0,29A	35,25 ± 3,87B	40,68 ± 0,15A	37,40 ± 0,82AB	50,07 ± 2,84CD	47,12 ± 1,55C	52,32 ± 1,35D	56,84 ± 2,38E	1,86 ± 0,16	1,77 ± 0,19
<b>MUFA</b>	10,45 ± 0,07A	9,59 ± 0,37A	10,37 ± 0,07A	9,09 ± 0,10A	10,39 ± 0,42A	9,41 ± 0,82A	9,20 ± 0,93A	8,62 ± 1,87A	0,47 ± 0,04	0,48 ± 0,02
<b>PUFA</b>	48,68 ± 0,25A	55,17 ± 3,51B	48,95 ± 0,11A	53,51 ± 0,88B	39,54 ± 2,66C	43,47 ± 1,03D	38,47 ± 0,92C	34,54 ± 1,65E	2,21 ± 0,18	2,78 ± 0,19
<b>UFA</b>	59,13 ± 0,29A	64,76 ± 3,87B	59,32 ± 0,15A	62,60 ± 0,82AB	49,93 ± 2,84CD	52,88 ± 1,52C	47,67 ± 1,35D	43,16 ± 2,48E	2,69 ± 0,21	3,26 ± 0,21
<b>n3</b>	42,12 ± 0,23A	43,24 ± 2,31A	42,40 ± 0,13A	41,93 ± 0,16A	33,60 ± 2,26B	32,94 ± 1,25B	27,24 ± 2,23C	25,88 ± 2,46C	1,91 ± 0,15	2,18 ± 0,13
<b>n6</b>	6,56 ± 0,05A	11,93 ± 1,26B	6,54 ± 0,03AB	11,58 ± 0,72	5,31 ± 0,25A	9,78 ± 1,86BC	10,71 ± 1,35B	7,78 ± 2,78AC	0,30 ± 0,03	0,60 ± 0,07
<b>n6/n3</b>	0,16	0,28	0,15	0,28	0,16	0,30	0,40	0,31	0,16	0,28

LT: lipides totaux; LN: lipides neutres; GL: glycolipides; PL: Phospholipides; AG: acides gras; AGS: acides gras saturés; AGI: acide gras insaturé ; AGMI: Acide gras monoinsaturé; AGPI: Acide gras polyinsaturé.

Pour une fraction lipidique donnée, les moyennes avec différentes lettres majuscule à l'intérieur des colonnes sont significativement différents (P <0,05).

### III.1.2. Discussion

Les teneurs en eau des larves de *Rhynchophorus phoenicis* ( $69,5 \pm 0,7$  g/100 g MS), des chenilles de *Imbrasia truncata* ( $69,7 \pm 1,5$  g/100 g MS) et *Imbrasia epimethea* ( $70,7 \pm 0,9$  g/100 g MS) sont proches de celles des autres viandes telles que poulet (viande, chair, crue): 66,5 g/100 g MH; viande bovine (désossée, brute): 73,2 g/100g MH (Charrondière *et al.*, 2012). Ces fortes teneurs en eaux montrent que pour être conservés, ces insectes doivent être au préalable déshydratés pour éviter des dégradations dues à l'action des microorganismes. Les protéines représentent le second composant nutritionnel chez les larves de *R. phoenicis*, tandis que chez les chenilles d'*I. truncata* et d'*I. epimethea*, ce sont les composants principaux.

Chez *Rhynchophorus phoenicis*, les protéines représentent  $24,5 \pm 2,4$  g/100 g MS. Cette teneur est dans l'intervalle (10,3 à 35,6 g/100 g MS) des données de la littérature sur la teneur en protéines des larves de *R. phoenicis* (Rumpold & Schlüter, 2013). Les teneurs en protéines des chenilles *Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea* ( $62,9 \pm 2,1$  g/100g MS et  $68,6 \pm 1,6$  g/100g MS) sont plus élevées que celles des larves de *R. phoenicis*. Elles sont également supérieures à celles d'*I. oyemensis* ( $51,96 \pm 0,25$  g/100g MS (Akpossan *et al.*, 2014); de *Gonimbrasia belina* (55,41 g/100 g MS)(Kwiri *et al.*, 2014); de *I. truncata*: 60 g/100 g MS et *I. epimethea*: 58,1 g/100 g MS (Bukkens, 1997). Sur la base fraîche, la teneur en protéines des chenilles fraîches d'*I. truncata* ( $19,1 \pm 0,7$  g/100g MH) et d'*I. epimethea* ( $20,1 \pm 0,5$  g/100g MH) est proche de celle du poisson (maquereau): 19,7 g/100g MH; supérieure à celle de l'œuf (poulet): 12,6 g/100g MH; de la viande de bœuf (15-20% de matière grasse, désossée, crue): 18,4 g/100g MH; du poulet (chair et peau, crue): 16,7 g/100g MH (Charrondière *et al.*, 2012), tandis celle des larves de *R. phoenicis* sont inférieure. Étant donné que la limite inférieure de l'étiquette alimentaire « source de protéines » est de 5g/100g de portion comestibles et celle de l'étiquette « riche en protéines » est de 10 g/100 g portion comestible (Nowak *et al.*, 2016), les larves de *R. phoenicis* sont des sources de protéines et les chenilles d'*I. truncata* et d'*I. epimethea* sont riches en protéines. Chez un adulte en bonne santé, l'apport journalier recommandé en protéines est estimée à 0,83 g de protéines/Kg de poids corporel (EFSA, 2012). Pour un adulte de 75 Kg, cet apport sera de 62,25 g. Sur la base du poids humide, une consommation de 100 g de chenilles d'*I. truncata* ou d'*I. epimethea* (14 à 17 chenilles) représentera environ 32% de l'apport journalier recommandé en protéines pour

un adulte de 75 Kg, tandis qu'une consommation de 100 g de larves de *R. phoenicis* (20 larves environ) fournira environ 12 % de l'apport journalier recommandé.

Les lipides représentent après les protéines le deuxième composant majeur des chenilles *Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea* tandis que chez les larves de *Rhynchophorus phoenicis*, c'est le premier composant majeur. La teneur en lipides totaux chez les larves de *R. phoenicis*  $65,2 \pm 9,2$  g/100 g MS est de loin plus élevée que celles des chenilles d'*I. truncata* ( $22,6 \pm 2,1$  g/100 g MS) et *I. epimethea* ( $22,8 \pm 0,8$  g/100 g MS). La teneur en lipides des larves de *R. phoenicis* est similaire à la valeur de  $66,6 \pm 0,3$  g/100 g MS obtenue par Ekpo *et al.* (2009) chez le même insecte. Elle est supérieure à celle de  $56,44$  g/100g MS obtenue par Achu Mercy *et al.* (2017) ; et inférieure à celle de  $31,4$  g/100 g MS obtenue par Banjo *et al.* (2006). Les teneurs en lipides totaux des chenilles d'*I. truncata* ( $22,6 \pm 2,1$  g/100 g MS) et d'*I. epimethea* ( $22,8 \pm 0,8$  g/100 g MS) sont plus élevées que les teneurs obtenues précédemment sur *I. epimethea* soit  $12,4$  g/100 g MS et sur *I. truncata* soit  $15,2$  g/100 g MS (Bukkens, 1997); sur *Gonimbrasia belina* soit  $16,37$  g/100 g MS (Kwiri *et al.*, 2014). La teneur en lipides de ces deux chenilles est similaire à celle d'*I. oyemensis* soit  $23,10 \pm 0,65$  g/100 g MS (Foua *et al.*, 2016). Sur la base fraîche, les teneurs en lipides des chenilles *I. truncata* ( $6,8 \pm 0,6$  g/100 g MH) et *I. epimethea* ( $6,7 \pm 0,2$  g/100 g MH) comparées à celles d'autres sources animales, sont supérieures à celles du poisson (maquereau /carpe) soit  $5,6$  g/100 g MH; de la viande de bœuf (maigre, désossée, crue) soit  $4,3$  g/100 g MH. Cependant, ces teneurs sont inférieures à celle de l'œuf de poule soit  $9,5$  g/100 g MH; celle du poulet (viande brune, chair et peau, cru) soit  $18,8$  g/100 g MH; celle de la viande de porc (environ 20% de gras, désossé, cru) soit  $22$  g/100 g MH (Charrondièrre *et al.*, 2012). Ces résultats ont montré que les lipides totaux d'*I. truncata* et d'*I. epimethea* sont comparables à ceux du bœuf et du poisson, mais sont bien inférieurs à ceux des autres produits carnés (œuf, poulet, porc).

La valeur énergétique des chenilles de *I. truncata* [ $632,1(151,1)$  kJ (kcal)/100 g MH] et *I. epimethea* [ $614,3 (146,8)$  kJ (kcal)/100 g MH] sont inférieures à celles des larves de *R. phoenicis* [ $911,7 (217,9)$  kJ (kcal)/100 g MH]. Ces valeurs énergétiques sont supérieures à celles du poisson (thon) soit  $568$  kJ ( $139$  kcal)/100 g MH; de l'œuf de poule soit  $578$  kJ ( $139$  Kcal)/100 g MH. Elles sont inférieures à celles de la viande de bœuf (15 - 20% de matières grasses, désossée, crue) soit  $978$  kJ ( $235$  Kcal)/100 g MH; de la viande de porc (20% de matières grasses, désossée, crue) soit  $1100$  kJ ( $265$  kcal)/100 g MH (Charrondièrre *et al.*, 2012). L'ensemble des résultats sur l'étude de la composition nutritionnelle montrent que les

chenilles d'*I. truncata* et *I. epimethea* sont d'excellentes sources de protéines tandis que les larves de *R. phoenicis* sont d'excellentes sources de lipides et d'énergie.

Les acides aminés et en particulier les acides aminés indispensables (AAI) sont importants pour le corps humain. En effet, les AAI ne peuvent pas être synthétisés par le corps humain et sont fournis par l'alimentation. Outre leur rôle en tant que constituants de protéines et de polypeptides, certains acides aminés sont importants pour la croissance, la reproduction et l'immunité dans l'organisme (Wu, 2009). Elles permettent également à certaines vitamines et certains minéraux d'effectuer toutes leurs fonctions, et sans eux, le corps humain serait incapable de fonctionner normalement et dans certains cas extrêmes, leur absence pourrait causer la mort. Les teneurs en AAI des protéines des chenilles d'*I. truncata* (536,6 mg/g de protéine) et d'*I. epimethea* (513,2 mg/g de protéine), des larves de *R. phoenicis* (525,7 mg/g de protéines) sont proches. Ces résultats sont de loin plus élevés que la valeur de référence en AAI d'une protéine : 269 mg/g protéine (WHO/FAO/UNU, 2007). Par comparaison à d'autres études, les valeurs en AAI obtenues sont supérieures à celle de 369,8 mg/g de protéine obtenue par Ekpo & Onigbinde (2005) et celle de 394,3 mg/g de protéine obtenue par Womeni *et al.* (2012) sur les larves de *R. phoenicis*. Il faut remarquer que Womeni *et al.* (2012), n'ont pas analysé le tryptophane et la cystéine dans leur étude, ce qui pourrait expliquer la teneur plus faible que la notre obtenue. Les valeurs en AAI obtenues sont également supérieures à celles de 437 mg/g de protéine chez le ver de farine (*Tenebrio molitor*) (Yi *et al.*, 2013), 304 mg/g protéine chez *Gryllodes sigillatus*, 317 mg/g protéine *Schistocerca gregaria* (Zielińska *et al.*, 2015). Sur la base fraîche, les teneurs en AAI des larves des chenilles d'*I. truncata* (10228 mg/100 g MH) et d'*I. epimethea* (10310 mg/100 g MH) sont de loin supérieures à celles de produits carnés tels que la viande de bœuf (8280 mg/100 g MH), le poisson (8919 mg/100 g MH), la viande de poule (8906 mg/100 g MH) (FAO, 1970) et celle de la protéine de référence (9062 mg/100 g MH) (WHO/FAO/UNU, 2007), tandis que celle des larves de *R. phoenicis* (3926 mg/100 g MH) sont inférieures. Les larves de *R. phoenicis* et les chenilles de *I. truncata* et *I. epimethea* ont des scores des AAI sont supérieurs à 1, indiquant qu'ils sont présents en quantité supérieure à celle de la protéine de référence. Les acides aminés tels que la lysine très limitant dans les céréales en particulier le blé sont bien représentés chez les insectes étudiés. La lysine permet la synthèse de la carnitine, qui joue un rôle important dans la production d'hormones, d'anticorps et d'enzymes. Une alimentation pauvre en lysine peut conduire à une carence en niacine et causer la pellagre (Bender, 2003). Le tryptophane est également présent en quantité intéressante chez ces



insectes. Cet acide aminé est nutritionnellement important parce qu'il est presque absent dans les céréales, en particulier le maïs, où il est l'acide aminé limitant. Le tryptophane est un précurseur de la sérotonine et de la mélatonine, ce qui signifie qu'il peut réguler l'humeur et le sommeil (WHO/FAO/UNU, 2007). Pour les acides aminés soufrés, la teneur en cystéine varie de 10,2 mg/g de protéine chez *I. epimethea* à 32,1 mg/g de protéine chez les larves de *R. phoenicis*. La teneur en méthionine quant à elle varie de 17,1 mg/g de protéine dans *I. truncata* à 47,8 mg/g de protéine chez les larves de *R. phoenicis*. Ces deux acides aminés sont importants parce qu'ils sont impliqués dans les mécanismes de détoxification et leurs concentrations sont marginales dans les protéines de légumineuses (WHO/FAO/UNU, 2007). La méthionine aide également à la production de soufre, ce qui est nécessaire pour le métabolisme normal. Il est également essentiel pour la synthèse de l'hémoglobine et du glutathion qui lutte contre les radicaux libres. Les acides aminés aromatiques (tyrosine et phénylalanine) sont particulièrement abondants chez les insectes étudiés. La tyrosine varie entre 85,4 mg/g de protéine chez *R. phoenicis* et d'*I. truncata* et de 138,9 mg/g de protéine d'*I. truncata*. Ces teneurs en tyrosine sont supérieures à celles de 76,5 et 75,0 mg/g de protéine, rapportées précédemment chez *I. truncata* et *I. epimethea* (Bukkens, 1997), celles de 20,2 ; 25,2 ; 28,9 et 60 mg/g protéine, rapportées précédemment chez *R. phoenicis* (Ekpo & Onigbinde, 2005; Elemo *et al.*, 2011; Okaraonye & Ikewuchi, 2008; Womeni *et al.*, 2012). La teneur en phénylalanine obtenue est de 41,9 mg/g de protéine d'*I. truncata* et de 55,5 mg/g de protéine dans *I. epimethea*. Ces valeurs sont supérieures à celle de 37,9 mg/g de protéine obtenues chez les larves de *R. phoenicis*. La phénylalanine est importante car elle est un précurseur des catécholamines qui régulent le système nerveux central et périphérique. La qualité des acides aminés des protéines des larves de *R. phoenicis* et des chenilles d'*I. truncata* et d'*I. epimethea* encourage leur utilisation pour compléter des régimes alimentaires riches en céréales, mais déficients en certains acides aminés indispensables tels que la lysine, la thréonine et le tryptophane.

L'analyse des tocophérols montre que l'huile d'*I. truncata* contient la plus faible teneur en tocophérols ( $119,7 \pm 16,5$  µg/g de lipide) tandis que l'huile d'*I. epimethea* ( $224,4 \pm 22,5$  µg/g de lipide) contient la plus forte teneur en tocophérols. La teneur en tocophérols des larves de *R. phoenicis* est de  $145 \pm 13$  µg/g lipide. Ces teneurs en tocophérols sont plus élevées que celle du ver de farine *Tenebrio molitor* (45 µg/g de lipide) (Barker *et al.*, 1998) et de la chenille d'*I. belina* (73,05 µg/g de lipide) (Yeboah & Mitei, 2009) ; plus faibles que celle de *Galleria mellonella* soit 758 µg/g lipide (509 IU/Kg) (Barker *et al.*, 1998). L' $\alpha$ -tocophérol

étant la fraction active des isomères de tocophérols, la teneur en  $\alpha$ -tocophérol des lipides totaux des larves de *R. phoenicis* ( $95 \pm 9 \mu\text{g/g}$  de lipide) est supérieure à celle des chenilles *I. truncata* ( $62,1 \pm 9,0 \mu\text{g/g}$  de lipides) et *I. epimethea* ( $76,6 \pm 11,2 \mu\text{g/g}$  de lipide). Ces dernières sont proches de celles de l'huile d'*I. belina* soit  $71,39 \mu\text{g/g}$  de lipide (Yeboah & Mitei, 2009). Sur la base de la matière fraîche, les teneurs en  $\alpha$ -tocophérol d'*I. truncata* ( $0,52 \pm 0,08 \text{ mg/100 g MH}$ ) et d'*I. epimethea* ( $0,41 \pm 0,06 \text{ mg/100g MH}$ ) sont inférieures à celles des larves de *R. phoenicis* de la présente étude soit  $1,9 \pm 0,2 \text{ mg/100 g MH}$ . La teneur en  $\alpha$ -tocophérol des larves de *R. phoenicis* est similaires à celles des larves de *Tenebrio molitor* ( $1,9 \text{ mg/100g MH}$ ) (Nowak *et al.*, 2016). La teneur tocophérol totaux des chenilles d'*I. truncata* ( $1,50 \pm 0,15 \text{ mg/100g MH}$ ) et d'*I. epimethea* ( $0,82 \pm 0,11 \text{ mg/100 g MH}$ ) était également inférieure à celle des larves de *R. phoenicis* soit  $2,9 \pm 0,3 \text{ g/100g MH}$ . Ces teneurs sont différentes de celles du cricket ( $2,26 \pm 1,77 \text{ mg/100 g MH}$ ) et de la mouche soldats noirs ( $0,62 \text{ mg/100 g MH}$ ) (Payne *et al.*, 2015). Comme l'apport journalier recommandé en  $\alpha$ -tocophérol est de  $10 \text{ mg/jours}$  (FAO & WHO, 2001), la consommation de  $100\text{g}$  des chenilles pourra contribuer jusqu'à  $15 \%$  des apports journaliers recommandé en vitamine E, tandis que celles des larves pourra contribuer à environ  $30\%$  des apport journalier recommandé. Ces insectes peuvent être considérés comme des sources de vitamines E. La présence de tocophérols dans ces insectes peut être utile dans la protection de leur lipide contre l'oxydation pendant les différentes étapes de traitements et de transformation (friture, cuisson) de ces insectes en produits dérivés.

Après les tocophérols, les fractions lipidiques ont été analysées. La connaissance de la composition de l'extrait lipidique est importante pour prédire son utilisation comme ingrédient dans des produits alimentaires. On sait par exemple que les phospholipides possèdent des propriétés émulsifiantes. Ils peuvent également être utilisés comme véhicule pour la distribution des constituants liposolubles (Genot *et al.*, 2013). Il est également avéré que les phospholipides ont des effets bénéfiques sur la santé. Ils interviennent notamment au niveau de la régulation des réactions inflammatoires, possèdent une activité thérapeutique sur certains types de cancer, peuvent réduire l'effet de certains médicaments (Küllenbergh *et al.*, 2012). L'analyse des résultats des différentes fractions lipidiques montre que les larves de *R. phoenicis* possèdent une fraction en lipides neutres plus importante que celles des deux chenilles ( $94,07 \pm 1,07$  à  $96,23 \pm 0,22 \text{ g/100 g}$  de lipides). La teneur en lipides neutres des larves de *R. phoenicis* est supérieure à la valeur de  $88,4 \text{ g/100 g}$  lipides obtenue par Ekpo *et al.* (2009). Elle est cependant très proche de la valeur de  $98 \text{ g/100 g}$  de lipide obtenue par

Gbogouri *et al.* (2013) sur les larves de *R. palmarum*. Les lipides de *I. truncata* et *I. epimethea* sont quant' à eux plus élevés que celles des lipides neutres d'*I. belina* ( $85,10 \pm 0,31$  g/100 g de lipides) (Ekpo *et al.*, 2009).

Les lipides neutres des larves de *Rhynchophorus phoenicis* sont composés uniquement de triglycérides (TAG) (seule classe décelable), tandis que ceux des chenilles d'*Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea* sacrifiées, stockées et éviscérées avant analyse, sont composés uniquement d'acides gras libres (Annexe 8, Figure 49). La présence exclusive de TAG dans les LN de *Rhynchophorus phoenicis* signifie d'une part l'absence de toute hydrolyse durant les étapes de traitement, et d'autre part qu'il pourrait bien y avoir d'autres classes de molécules, mais en quantité non détectable par HPLC. La présence exclusive des acides gras libres et l'absence de triglycérides dans les lipides neutres des chenilles *I. truncata* et *I. epimethea* ont permis de suggérer une lipolyse de ces lipides durant les étapes de conservation des larves et d'extraction des lipides. En effet, la fraction lipides neutres extraite de chenilles sacrifiées par congélation, et stockés à l'état, était majoritairement composée d'acides gras libres. Aussi bien dans le règne animal que dans le règne végétal, les formes majoritaires de stockage des lipides sont les triglycérides. Ces molécules de stockage sont ultérieurement hydrolysées pour libérer les acides gras libres nécessaires pour les besoins physiologiques. Cette hydrolyse a également lieu lorsque les dommages cellulaires et tissulaires provoquent des contacts entre les enzymes lipolytiques et leurs substrats. Nous admettons que la présence des acides gras libres a été due à l'hydrolyse des triglycérides se déroulant entre la récolte et l'extraction des lipides. Nous admettons également que les viscères et autres organes des chenilles *I. truncata* et *I. epimethea* contiennent des lipases hautement actives capables d'hydrolyser efficacement les lipides. L'ébouillantage pendant 15 min des insectes immédiatement après leur sacrifice a permis de réduire considérablement le taux d'acides gras libres dans les lipides neutres des chenilles *I. truncata*, avec une apparition en quantité égale de triglycérides (Annexe 8, Figure 50 B). Chez *I. epimethea*, on note une légère apparition en TAG chez les LN des insectes ébouillantés, cependant leur teneur AG reste très élevée (Annexe 8, Figure 50 A). L'apparition des AG après ébouillantage montre que l'ébouillantage réduirait l'activité des enzymes lipolytiques qui sont fortement actives contre les triglycérides. Les acides gras libres sont généralement reconnus pour leur aptitude à abaisser la qualité des aliments. En effet, ils favorisent les oxydations enzymatiques et non enzymatiques des AGPI. Ainsi, la possibilité d'inactiver efficacement les activités lipolytiques dans les chenilles d'*Imbrasia*, juste après leur récolte doit être investiguée.

L'analyse de la composition en classe de lipides et notamment des phospholipides à révélé une différence entre les chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea* et les larves de *R. phoenicis*. La sphingomyeline (62 – 71 g/100 g de phospholipides) est le phospholipide majoritaire chez les chenilles tandis que ce sont les phosphoethanolamines sont majoritaires chez les larves de *R. phoenicis*. Cette teneur en sphingomyeline chez les *Imbrasia* est très élevée que celle rencontrée chez la plupart des animaux et aliments (Weihrauch & Son, 1983). Toutefois, les deux compositions en classes de phospholipides chez ces insectes diffèrent de celles obtenues sur les larves de *Tenebrio molitor* (Coleoptera), soit une teneur en PC de 39,8 g/100 g PL) et une teneur en PE de 41,7 g/100 g PL (Fast, 1966). Chez les deux chenilles, on obtient des faibles proportions en lysophospholipides (< 10 g/100g PL), ce qui laisse penser que l'hydrolyse précédemment mentionnée des lipides totaux ne touche pas de façon remarquable les phospholipides. Par contre chez *R. phoenicis*, les teneurs assez élevées de LPC (près de 20%) et de LPE (près de 17%) peuvent correspondre à des caractéristiques structurales spécifiques des membranes des larves de *R. phoenicis* (nous pensons que la LPE et la LPC pourrait être des constituants membranaires des larves de *R. phoenicis*), ou peuvent indiquer une hydrolyse de la PC et de la PE à un stade où un autre de la préparation de l'extrait lipidique ou des fractions, soit pourrait). Toutefois, les acides gras libres qui pourraient être issue de l'hydrolyse de la PE et de la PC n'ont pas été détectés dans la fraction lipidique neutre, ce qui n'est pas surprenant lorsqu'on prend en compte la faible teneur en LPC et LPE dans les lipides totaux. Des études supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre la raison de la présence de lysophospholipides dans les extraits lipidiques des larves.

L'apport en acides gras joue un rôle important en nutrition, car ils participent à plus de 30% à la couverture énergétique de l'organisme. Les acides gras représentent  $803 \pm 46$  mg/g de lipides chez *Rhynchophorus phoenicis*,  $664,1 \pm 53,7$  mg/g de lipides chez *I. truncata* et  $755,4 \pm 4,3$ mg/g de lipides chez *I. epimethea*. Ces valeurs obtenues sont normales quand on sait que les lipides ne sont pas uniquement constitués d'acides gras. D'autres éléments n'ont pas été pris en compte dans ce calcul. Il s'agit entre autre du squelette de glycérol dans les triglycérides, des groupes chimiques des lipides polaires, de la fraction insaponifiable qui n'a pas été évaluée dans la présente étude (à l'exception des tocophérols). L'intérêt de la composition en acides gras réside également en leur apport en acides gras essentiels pour l'homme. Les concentrations en acide linoléique (C18:3n-3) des lipides *I. truncata* et *I. epimethea* ( $41,7 \pm 0,2$  à  $42,9 \pm 2,3$  g/100 g AG) étaient supérieures à celles des chenilles de *I.*

*belina* ( $19,6 \pm 0,1$  g/100 g AG) (Ekpo *et al.*, 2009) et d'*I. oyemensis* ( $0,82 \pm 0,02$  g/100 g AG) (Foua *et al.*, 2016). La concentration en acide  $\alpha$ -linoléique (18: 2n-6) chez *I. epimethea* ( $6,3 \pm 0,1$  g/100g AG) et *I. truncata* ( $11,6 \pm 1,3$  g/100g AG) était différente de celles des chenilles d'*I. oyemensis* ( $6,58 \pm 0,03$  g/100g AG) (Foua *et al.*, 2016) et d'*I. belina* ( $6,02$  g/100g AG) des larves d'*I. belina* (Ekpo *et al.*, 2009). Chez les larves de *Rhynchophorus phoenicis*, les teneurs en acide linoléique ( $3,1$  g  $\pm$   $0,0$  g/100 g AG) et  $\alpha$ -linoléique ( $0,9 \pm 0,1$  g/100 g AG) obtenues sont inférieures à celles obtenues par (Ekpo *et al.*, 2009) soit  $45,46$  g/100 g d'acide linoléique (C18:2n-6) et  $4,19$  g/100 g AG d'acide  $\alpha$ -linoléique. Cette différence peut être due à l'origine des insectes, à l'alimentation ou à l'environnement (Oonincx, 2015). Il a été également reporté que la méthode d'extraction des lipides peut également affecter leurs profils d'acides gras (Tzompa-Sosa *et al.*, 2014). Les acides gras essentiels n-3 et n-6 sont importants car ne peuvent être synthétisés par les humains et d'autres mammifères en raison de l'absence d'enzymes endogènes pour sa synthèse. Ils doivent par conséquent être apportés à l'organisme par l'alimentation. Ces acides gras chez les hommes, les animaux, les plantes, les micro-algues et chez certains insectes sont précurseurs des AGPI – LC n-3 et n-6 chez les humains. L'acide  $\alpha$ -linoléique (C18: 3n-3) est l'acide gras parent de la famille des n-3 (EPA et DHA), tandis que l'acide linoléique (C18: 2n-6) est le précurseur de l'acide arachidonique (C20:4n-6) (EFSA, 2010 ; Stanley-Samuelson *et al.*, 1988). L'abondance de l'acide linoléique chez les lipides d'*I. truncata* et d'*I. epimethea* est intéressante du point de vue alimentaire. En effet, les acides gras essentiels et notamment l'oméga 3 sont reconnus pour leurs propriétés anti-inflammatoires, et autres effets positifs sur la santé. Les apports journaliers des aliments en AGPI, notamment les n-6 et n-3 sont intéressants quand on sait que certaines populations souffrent d'une déficience en n-3 dans leur alimentation. Les apports journaliers recommandés pour ces AGPI sont de  $4,4$  g/jour pour l'acide linoléique et  $1,8$  g/jour pour l'acide  $\alpha$ -linoléique (Anses, 2011). Les résultats obtenus dans notre étude montrent que  $100$  g de larves frais ( $20$  larves environ) de *R. phoenicis* apporteront  $0,5$  g d'acide linoléique (ou  $1,6$  g pour  $100$  g de larves séchées) et  $0,14$  g d'acide  $\alpha$ -linoléique (ou  $0,47$  g pour  $100$  g de larves séchées). Quantités qui représentent respectivement  $11,4\%$  et  $8\%$  de l'apport journalier recommandé en acide linoléique et  $\alpha$ -linoléique. Dans les mêmes conditions,  $100$  g de chenilles fraîches d'*I. truncata* et d'*I. epimethea* ( $14$  à  $17$  chenilles) fourniront respectivement  $1,91 \pm 0,15$  g et  $2,18 \pm 0,13$  g d'acide  $\alpha$ -linoléique, ce qui représente  $106,1 \%$  et  $121,1 \%$  des apports journaliers recommandés en acide  $\alpha$ -linoléique pour *I. truncata* et *I. epimethea*. Ces apports sont plus faibles en acide linoléique. En effet,  $100$  g de chenilles fraîches d'*I.*

*epimethea* et d'*I. truncata* (14 à 17 chenilles) apporteront respectivement  $0,29 \pm 0,02$  et  $0,59 \pm 0,07$  g d'acide linoléique, ce qui représente 6,59 % et 13,41% de l'apport journalier recommandé respectivement pour *I. truncata* et *I. epimethea*. Ces résultats montrent que parmi ces insectes, les chenilles d'*I. truncata* et d'*I. epimethea* sont plus aptes à être utilisées comme sources alternatives d'acides gras essentiels dans le cas des alimentations déséquilibrées et pauvres en AGPI. Le rapport n-6/n-3 des AGPI est aussi essentiel pour l'équilibre alimentaire. Ce rapport est de 3,5 pour les lipides totaux des larves de *R. phoenicis* tandis qu'il est de 0,16 chez *I. truncata* et 0,28 chez *I. epimethea*. Un ratio n-6/n-3 inférieur à 5 est intéressant du point de vue nutritionnel, car participe à l'équilibre global de l'alimentation. En effet, un bon ratio n-6/n-3 est d'un effet bénéfique dans la prévention des maladies auto-immunes et éventuellement neurodégénératives, des maladies cardiovasculaires et de nombreuses autres maladies métaboliques (Simopoulos, 2004, 2006, 2008, 2010 & 2016).

Chez les trois espèces d'insectes, on retrouve une composition en acide gras des lipides neutres, proche de celle des lipides totaux. Ce résultat n'est pas surprenant quand on sait que les lipides neutres représentent au moins plus de 94 g/100 g de lipides totaux chez ces insectes. En ce qui concerne les phospholipides, à notre connaissance, notre étude est celle qui rapporte pour la première fois la composition en acides gras de la fraction phospholipide des extraits lipidiques de ces différents insectes. Par comparaison avec leurs lipides neutres, les phospholipides des chenilles *Imbrasia* contiennent des taux plus faibles en AGI. Ce faible taux en AGI pourrait s'expliquer par l'abondance des phospholipides dans leurs lipides polaires tel que observé précédemment. Des études doivent être faites pour clairement définir si la forte teneur en sphingomyéline chez cet insecte est liée à l'espèce ou à son stade de développement. Comme autre particularité, les phospholipides des larves de *R. phoenicis* et des chenilles d'*I. truncata* ne contiennent pas les acides gras polyinsaturés à longue chaîne (AGPI-LC) tels que l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA) qui sont cependant présents chez les phospholipides de nombreux autres coléoptères (Fast, 1966). Ces résultats sont différents de ceux reportés par Rumpold and Schlüter (2013) indiquant la présence des AGPI-LC dans différents insectes comestibles, incluant différents coléoptères. Ces auteurs ont reportés la quantification de l'acide arachidonique (AA, C20 :4n-6) dans les larves de *R. phoenicis*. Les AGPI -LC tels que l'AA, l'EPA et le DHA ont été détectés chez plusieurs insectes tels que les moustiques, les insectes terrestres (abeilles, termites, criquets), les insectes aquatiques (Sushchik *et al.*, 2013; Raksakantong *et al.*, 2010;

Yang *et al.*, 2006; Ghioni *et al.*, 1996 ; Maldjian *et al.*, 1996). Selon Sánchez-muros *et al.* (2014), les insectes terrestres sont déficients en EPA et DHA alors que chez les insectes aquatiques, l'EPA est présent. Une explication possible de l'absence des AGPI-LC dans les extraits lipidiques des larves de *R. phoenicis* serait que les enzymes delta-5 et delta-6 désaturases soient absents ou faiblement actifs. Chez d'autres insectes, animaux et certaines micro-algues, ces enzymes sont utilisées pour la conversion du C18 :2n-6 et du C18 :3n-3 en AGPI tels que l'acide arachidonique, l'EPA et le DHA (Yang *et al.*, 2006; Hashimoto *et al.*, 2008; Stanley-Samuelson *et al.*, 1988). Chez certains insectes, le gène de la pseudo-genizedacyl-CoA désaturase a été totalement ou partiellement séquencé (Helmkamp *et al.*, 2014). Chez les insectes tels que les crickets et les scarabées de ver de farine, la conversion efficace de C18 :3n-3 en EPA est très faible, comparé au poulet et caille (Komprda *et al.*, 2013). Ces enzymes seraient par contre présents chez *I. truncata* où on retrouve l'acide arachidonique chez leurs phospholipides. Ce dernier résultat est en accord avec les connaissances générales sur la composition en acides gras des phospholipides d'insectes qui sont supposées être riches en AGPI-LC (Sushchik *et al.*, 2013; Raksakantong *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2006; Ghioni *et al.*, 1996 ; Maldjian *et al.*, 1996). De manière générale, la connaissance des classes lipidiques et de leur composition en acides gras des huiles est importante parce qu'elle peut affecter les fonctions nutritionnelles des lipides alimentaires (Meynier & Genot, 2017). Les lipides peuvent avoir une importance dans la valorisation et la transformation des insectes pour le commerce et autres applications industrielles. En effet, les lipides alimentaires ne sont pas seulement des sources d'énergies et de nutriments, mais sont également impliqués dans des propriétés telles que la texture et les propriétés sensorielles ; ils participent à l'acceptabilité générale de l'aliment (Meynier & Genot, 2017).

En ce qui concerne les glycolipides, les chenilles d'*I. truncata* et *I. epimethea* contiennent un AGPI-LC notamment l'AA contrairement aux larves de *R. phoenicis* qui n'en contiennent pas.

La composition en acides gras des triglycérides et les propriétés thermiques des LN ont uniquement été effectuées sur les larves de *Rhynchophorus phoenicis*. Les LN des deux chenilles (*Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea*) ayant fait l'objet d'une lipolyse, l'identification des TAG a été impossible et l'analyse thermique inappropriée. Les deux triglycérides identifiés chez *R. phoenicis* représentent à eux seuls 2/3 des structures triglycérides identifiées: POO ( $36,3 \pm 0,3$  g/100 g triglycérides) et OPP ( $30,3 \pm 0,3$  g/100 g triglycérides). Contrairement à nos résultats, Ali *et al.* (2006) ont identifié les triglycérides OOO (50 g/100 g de triglycérides) et POO (41,7 g/100 g de triglycérides 50 g/100 g de

triglycérides) chez les larves de *R. ferrugineus*. Dans notre étude, la trioléine (OOO) n'a pas été identifiée alors que l'acide oléique représentait 46 g/100 g des acides gras totaux. L'acide oléique et l'acide palmitique, les deux acides gras majeurs, entreraient en compétition pour composer des espèces moléculaires de triglycérides. Par MALDI TOF, OOP et OPP ont été identifiés avec les scores les plus élevés, respectivement 117,19 et 100. Deux triglycérides trisaturés (SPP et SSP) identifiés par HPLC n'ont pas été détectés par MALDI-TOF. Il est possible que les triglycérides trisaturés s'ionisent difficilement par MALDI-TOF. Ces résultats confirment la complémentarité des deux techniques pour l'identification et la quantification des espèces moléculaires de triglycérides. La nature et la position des acides gras dans les triglycérides peuvent être à l'origine de certaines de leurs propriétés thermiques. L'analyse des courbes de cristallisation et de fusion des extraits de lipides a montré des pics incluent dans une large plage de température et s'explique par le fait que les extraits lipidiques sont des mélanges complexes de triglycérides et de lipides polaires. Par conséquent, ils n'auraient pas de point de fusion unique comme pour les composés purs, mais plutôt des intervalles de fusion et de cristallisation (Michalski *et al.*, 2013). La plage de cristallisation des lipides des larves de *R. phoenicis* ( $7,8 \pm 0,4$  °C à  $-9,4 \pm 1,2$  °C) explique la nature liquide des lipides des larves de *R. phoenicis* lorsqu'ils sont laissés à température ambiante (20-25 °C). L'exotherme de la courbe de cristallisation correspondrait à la cristallisation des acides gras saturés quand on sait qu'ils représentent environ 50% des acides totaux de ces lipides. Deux pics de fusion identifiables dans la courbe de fusion correspondraient à la fusion de la POO ( $14,4 \pm 0,3$  °C) et celle de l'OPP ( $21,3 \pm 0,1$  °C). En effet, les températures de fusion des triglycérides standards sont de 25,3 °C pour OPP et 15,1 pour OOP (Che Man *et al.*, 1999). Contrairement à nos résultats, Nzikou *et al.* (2010) ont trouvé trois températures de fusion ( $-20,4$ °C,  $-21,3$  °C,  $+1,1$  °C) sur des extraits lipidiques des larves de *Rhynchophorus phoenicis*. Par comparaison avec d'autres huiles d'origine animales et végétales, on peut constater que la température de fusion des extraits lipidiques de larves de *R. phoenicis* est inférieure à celle des graisses de poulet (entre 30 et 34 °C) et de l'huile de palme (entre 33 et 40 °C); proche de celle de l'huile de coco (entre 23 et 26 °C) (Firestone, 2013). Ces résultats montrent que pour une application dans l'industrie, les lipides des larves de *R. phoenicis* doivent être utilisés comme huile et non comme graisse.



### III.1.3. Conclusion partielle

Les larves de *Rhynchophorus phoenicis* sont d'excellentes sources d'énergie du fait de leur teneur élevée en lipides, tandis que les chenilles d'*Imbrasia epimethea* et *Imbrasia truncata* sont riches en protéines. Si les larves de *R. phoenicis* peuvent être considérées comme source de protéines, elles ne peuvent cependant pas remplacer les sources de protéines conventionnelles. Les protéines des trois insectes ont une excellente qualité nutritionnelle du fait de leur richesse en acides aminés indispensables.

Le profilage des lipides a permis de caractériser la présence des tocophérols, et de différentes classes de phospholipides chez ces insectes. Des différences de composition en acides gras chez ces deux genres d'insectes sont à noter. Les lipides des larves de *R. phoenicis* contiennent très peu d'acides gras polyinsaturés (3% des acides gras totaux) tandis que celles des chenilles d'*I. truncata* et d'*I. epimethea* en contiennent dans des proportions particulièrement élevées (48 à 55 g/100 g AG) avec des proportions en acide linoléique particulièrement intéressante ( $41,70 \pm 0,17$  à  $42,87 \pm 2,34$  g/100 g AG). L'analyse des fractions a montré la présence d'un AGPI-LC (l'acide arachidonique) chez les phospholipides et glycolipides des deux chenilles *I. truncata* et *I. epimethea*.

L'analyse de la fraction lipides neutre a montré que seul des triglycérides ont été identifiés chez les lipides neutres des larves de *Rhynchophorus phoenicis* à hauteur de 98 g/100 g lipides. Les compositions en acides gras de ces triglycérides ont été identifiées pour la première fois. L'OOP et l'OPP représentent à eux seuls plus de 2/3 des espèces moléculaires de triglycérides, et influencent particulièrement la température de fusion des lipides des larves de *R. phoenicis* qui se situe entre 4 et 30 °C. Sur les lipides neutres d'*Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea*, la présence des acides gras libres a permis de conclure de la présence des lipases actives hydrolysant les triacylglycérols durant les étapes de stockage et d'eviscération des insectes. L'activité de ces lipases est cependant réduite par ébouillantage des insectes avant extraction des lipides.

De manière générale, les insectes étudiés présentent des bonnes valeurs alimentaires et des aptitudes pour être utilisé comme complément alimentaire. Toutefois, pour leur durabilité, il se pose la question de la maîtrise de leur production à grande échelle, d'où l'intérêt de déterminer leur conditions de croissance et l'influence de ces conditions de croissance sur leurs paramètres nutritionnels.

## III.2. INFLUENCE DES CONDITIONS DE CROISSANCE ET DU MORPHOTYPE DE LARVES DE *RHYNCHOPHORUS PHOENICIS* SUR CERTAINS DE LEURS PARAMETRES MORPHOLOGIQUES ET NUTRITIONNELS

### III.2.1. Résultats

#### III.2.1.1. Paramètres morphologiques des différents morphotypes de larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Les paramètres morphométriques des différents morphotypes de larves de *Rhynchophorus phoenicis*, se développant sur différents types de palmier raphia, et récoltés en milieu sauvage ou élevés, sont présentés dans le tableau XXVIII.

**Tableau XXVIII:** Paramètres morphologiques des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

	Longueur (mm)	Largeur (mm)	Capsule céphalique (mm)	Masse (g)
<b>Lot 1</b>	42,1 ± 4,8 <sup>b</sup>	16,4 ± 1,5 <sup>a</sup>	8,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	3,9 ± 1,4 <sup>b</sup>
<b>Lot 2</b>	47,2 ± 5,9 <sup>a</sup>	17,9 ± 1,1 <sup>a</sup>	8,6 ± 0,5 <sup>a</sup>	6,5 ± 1,8 <sup>a</sup>
<b>Lot 3</b>	49,9 ± 4,9 <sup>a</sup>	17,6 ± 1,5 <sup>a</sup>	8,8 ± 0,4 <sup>a</sup>	7,2 ± 2,2 <sup>a</sup>
<b>Jaunes sauvages</b>	<b>46,4 ± 6,0<sup>A</sup></b>	<b>17,3 ± 1,5<sup>B</sup></b>	<b>8,6 ± 0,5<sup>A</sup></b>	<b>5,9 ± 2,3<sup>A</sup></b>
<b>Lot 1</b>	44,7 ± 3 <sup>a</sup>	18,5 ± 2,7 <sup>a</sup>	8,6 ± 0,7 <sup>a</sup>	6,4 ± 0,7 <sup>a</sup>
<b>Lot 2</b>	46,0 ± 4,8 <sup>a</sup>	19,4 ± 1,5 <sup>a</sup>	9,0 ± 0,9 <sup>a</sup>	6,7 ± 1,6 <sup>a</sup>
<b>Lot 3</b>	42,7 ± 6,4 <sup>a</sup>	17,9 ± 3,3 <sup>a</sup>	9,1 ± 0,7 <sup>a</sup>	6,8 ± 1,2 <sup>a</sup>
<b>Blanches sauvages</b>	<b>44,4 ± 5,0<sup>A</sup></b>	<b>18,6 ± 2,5<sup>A</sup></b>	<b>8,9 ± 0,8<sup>A</sup></b>	<b>6,6 ± 1,2<sup>A</sup></b>
<b>Lot 1</b>	36,9 ± 1,9 <sup>a</sup>	16,8 ± 0,8 <sup>a</sup>	7,4 ± 0,8 <sup>a</sup>	3,7 ± 1,4 <sup>b</sup>
<b>Lot 2</b>	35,5 ± 3,4 <sup>a</sup>	17,1 ± 1,4 <sup>a</sup>	7,9 ± 0,3 <sup>a</sup>	4,8 ± 1,1 <sup>a</sup>
<b>Lot 3</b>	36,7 ± 3,8 <sup>a</sup>	16,8 ± 1,3 <sup>a</sup>	7,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	5,0 ± 1,1 <sup>a</sup>
<b>Blanches élevés</b>	<b>36,4 ± 3,1<sup>B</sup></b>	<b>16,9 ± 1,2<sup>B</sup></b>	<b>7,7 ± 0,6<sup>B</sup></b>	<b>4,5 ± 1,3<sup>B</sup></b>

Les lots 1, 2 et 3 représentent trois échantillons différents de larves de même type collectés sur des troncs de palmier raphia différents ou élevés dans des cuvettes différentes.

Pour chaque lot, la valeur indiquée est la moyenne ± l'écart type des mesures effectuées sur 10 larves.

Pour un paramètre morphologique donné, et chez un type de larve, les moyennes avec différentes lettres minuscules en exposant, sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) (effet lot).

Pour un paramètre morphologique donné, les moyennes (gras) avec différentes lettres majuscules en exposant sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) (effet type de larves).

Les larves de *Rhynchophorus phoenicis* ont une longueur qui varie de 35,5 ± 3,4 à 49,9 ± 4,9 mm ; une largeur qui varie de 16,4 ± 1,5 à 19,4 ± 1,5 mm; une capsule céphalique qui varie de 7,4 ± 0,8 à 9,1 ± 0,7 mm et une masse qui varie de 3,7 ± 1,4 à 7,2 ± 2,2 g. Pour un groupe de larve donné, les paramètres morphologiques des insectes échantillonnés à partir

des différents lots étaient similaires ( $p < 0,05$ ), à l'exception du lot 1 des larves jaunes sauvages qui avaient une longueur et une masse différente de celles des autres lots ; et du lot 1 des larves blanches élevages qui avaient une masse moyenne inférieure à celle des autres lots (test de Neuman-Keuls,  $p < 0,05$ ). Cependant, ces différences sont mineures, ce qui montre l'homogénéité des conditions de croissance, de récolte et d'échantillonnage des larves. Plus intéressant encore, les paramètres morphométriques dépendent de la variété des larves et de leurs conditions de croissance (Tableau 27). Les résultats montrent également que les larves blanches élevages ont une longueur moyenne ( $36,4 \pm 3,1$  mm) ; une capsule céphalique moyenne ( $7,7 \pm 0,6$  mm) et une masse moyenne ( $4,5 \pm 1,3$  g), plus petite que les larves sauvages (jaunes et blanches). Ces paramètres sont statistiquement identiques pour ce qui concerne les larves blanches sauvages et jaunes sauvages. Cependant, les larves blanches sauvages ont des largeurs ( $18,6 \pm 2,5$  mm) significativement élevées comparées à celles des autres larves ( $17,3 \pm 1,5$  mm pour les larves jaunes sauvages et  $16,9 \pm 1,2$  mm pour les larves blanches élevages). Les larves blanches élevages ont les valeurs les plus faibles pour la plupart des paramètres morphométriques (en dehors de leur tour de taille), ce qui confirme le fait que les larves obtenues à partir du système d'élevage (collectées 25 jours après introduction des *R. phoenicis* adultes mâles et femelles pour la fécondation) sont plus jeunes que celles récoltées dans la nature (récoltées 30 jours après observation des œufs dans les palmiers raphia infestés). Cependant on peut aussi penser que des conditions de vie pas optimales de ces derniers auraient limité leur croissance. Les différents lots de larves blanches élevages, récoltés 25 jours après fécondation, étaient dans leur dernier stade de développement larvaire. Il est intéressant pour les éleveurs de larves, de réduire la durée de l'élevage pour limiter la quantité de substrat utilisée tout en conservant la qualité de la production. C'est la raison pour laquelle, nous avons dans la suite fait une comparaison entre la composition nutritionnelle des larves issues de l'élevage à celle des larves récoltées dans la nature et vendues localement dans des marchés. Les différents lots des larves blanches provenant de l'élevage ont présenté des paramètres morphométriques (excepté la masse) similaires et très homogènes (petits écarts types), ce qui indique un bon contrôle des conditions d'élevage influençant les paramètres morphologiques.

### III.2.1.2. Facteurs de conversion azote protéine des différents morphotypes de larves de *Rhynchophorus phoenicis*.

Le tableau XXIX présente les facteurs de conversion des différents morphotypes de larves de *Rhynchophorus phoenicis*, se développant sur différents types de palmier raphia, et récoltés en milieu sauvage ou élevés. Ils ont été calculés en divisant la somme des résidus d'acides aminés (Annexe 5 ; Tableau 2) par l'azote total mesuré par la méthode de Dumas.

**Tableau XXIX:** Facteur de conversion de chaque type de larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Type de larves	TRAA (g/100 g FI)	N method de Dumas (g/100 g FI)	N→ P FC
Lot 1	23,4	3,31 ± 0,12	7,07
Lot 2	25,7	3,50 ± 0,14	7,33
Lot 3	21,1	2,68 ± 0,08	7,86
<b>Jaunes sauvages</b>	<b>23,4 ± 2,3B</b>	<b>3,16 ± 0,43B</b>	<b>7,42 ± 0,40A</b>
Lot 1	26,0	4,50 ± 0,14	5,76
Lot 2	25,0	4,09 ± 0,05	6,11
Lot 3	24,2	3,80 ± 0,20	6,37
<b>Blanches sauvages</b>	<b>25,0 ± 0,9A</b>	<b>4,13 ± 0,35A</b>	<b>6,08 ± 0,30B</b>
Lot 1	27,7	3,92 ± 0,05	7,06
Lot 2	24,1	4,30 ± 0,07	5,60
Lot 3	26,3	4,45 ± 0,02	5,91
<b>Blanches élevages</b>	<b>26,0 ± 1,8A</b>	<b>4,22 ± 0,27A</b>	<b>6,19 ± 0,77B</b>

TRAA: Total résidu acides aminés; N: azote; P: Protéine ; FI : farine insecte

Les valeurs reportées sont moyennes ± écart-types calculées à partir de trois analyses séparées.

Les moyennes en gras, associées à différentes lettres majuscules à l'intérieur d'une colonne, sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ).

Le facteur de conversion azote protéine obtenu est similaire ( $p < 0,05$ ) chez les larves blanches élevages et blanches sauvages ( $6,19 \pm 0,77$  chez les larves blanches élevages et  $6,08 \pm 0,30$  chez les larves blanches sauvages). Celui des larves jaunes sauvage est significativement plus élevé ( $7,42 \pm 0,40$ ). Ces facteurs de conversion azote protéine ont été utilisés pour calculer la teneur en protéines à partir de l'azote total mesuré dans chaque lot de larves.

### III.2.1.3. Compositions centésimales des différents morphotypes de larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Les compositions centésimales des différents morphotypes de larves de *Rhynchophorus phoenicis*, se développant sur différents types de palmier raphia, et récoltés en

milieu sauvage ou élevés, sont présentées dans le tableau XXX. Les résultats sont exprimés sur la base fraîche comme recommandé par le programme FAO/INFOODS.

**Tableau XXX:** Composition nutritionnelles des différentes variétés des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Type de larve	Eau (g/100g MH)	Lipides totaux (g/100g MH)	Protéines totales (g/100g MH)	Cendres (g/100g MH)	Energie kJ (kcal)/100g MH
Lot 1	66,4 ± 0,2a	25,2 ± 0,7c	8,7 ± 0,3b	0,88 ± 0,03b	1096 (262)
Lot 2	63,58 ± 0,04b	30,5 ± 0,6a	9,7 ± 0,4a	1,00 ± 0,02a	1311 (313)
Lot 3	61,00 ± 0,09c	27,3 ± 0,3b	8,0 ± 0,2c	1,02 ± 0,02a	1162 (278)
<b>Jaunes sauvages</b>	<b>63,7 ± 2,3<sup>C</sup></b>	<b>27,7 ± 2,3<sup>A</sup></b>	<b>8,8 ± 0,9<sup>A</sup></b>	<b>1,0 ± 0,1<sup>A</sup></b>	<b>1190 ± 111<sup>A</sup></b> <b>(284 ± 26)</b>
Lot 1	71,01 ± 0,01a	22,6 ± 0,8a	8,1 ± 0,3a	0,60 ± 0,01a	986 (236)
Lot 2	69,83 ± 0,04b	21,7 ± 0,6a	7,7 ± 0,1a	0,61 ± 0,02a	946 (226)
Lot 3	70,6 ± 0,4a	22,2 ± 0,8a	7,7 ± 0,4a	0,53 ± 0,02b	964 (230)
<b>Blanches sauvages</b>	<b>70,5 ± 0,6<sup>A</sup></b>	<b>22,2 ± 0,8<sup>B</sup></b>	<b>7,8 ± 0,3<sup>B</sup></b>	<b>0,6 ± 0,0<sup>C</sup></b>	<b>965 ± 20<sup>B</sup></b> <b>(231 ± 5)</b>
Lot 1	68,75 ± 0,02a	17,4 ± 0,1b	7,8 ± 0,1b	0,91 ± 0,02a	788 (188)
Lot 2	67,98 ± 0,08c	20,9 ± 0,3a	9,1 ± 0,1a	0,81 ± 0,05b	940 (225)
Lot 3	68,53 ± 0,01b	13,9 ± 0,1c	9,1 ± 0,0a	0,8 ± 0,01b	677 (162)
<b>Blanches élevages</b>	<b>68,4 ± 0,3<sup>B</sup></b>	<b>17,4 ± 3,0<sup>C</sup></b>	<b>8,7 ± 0,7<sup>A</sup></b>	<b>0,8 ± 0,1<sup>C</sup></b>	<b>802 ± 132<sup>B</sup></b> <b>(192 ± 32)</b>

MH : matière humide ;

Les lots 1, 2 et 3 représentent trois différents échantillons de larves de même type collectés sur des troncs de palmier raphia différents ou élevés dans des cuvettes différentes.

Les valeurs reportées sont moyennes ± écart-types calculées à partir de trois analyses séparées.

A l'intérieur d'une colonne, les moyennes en gras, avec différentes lettres majuscules (effet type de larves) et les moyennes avec différentes lettres minuscules entre deux lignes (effet lots) sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ).

Comme chez la plupart des organismes vivants, l'eau est le composé chimique retrouvé majoritairement chez les larves de *Rhynchophorus phoenicis*. Des différences hautement significatives ( $p < 0,0001$ ) en teneurs en eaux ont été observées chez les différents morphotypes de larves. Les larves blanches sauvages ont présenté la plus forte teneur en eau ( $70,5 \pm 0,6$  g/100 g MH), suivies de larves blanches élevages ( $68,4 \pm 0,3$  g/100 g MH) et de larves jaunes sauvages ( $63,7 \pm 2,3$  g/100 g MH).

Les lipides représentent le deuxième composant majeur chez tous les groupes de larves de *Rhynchophorus phoenicis*. La teneur en lipides totaux varie de 13,9 g/100 g MH (lot 3 de larves blanches élevages) à 30,5 g/100 g MH (lot 2 des larves jaunes sauvages). Ces résultats obtenus sont compris dans la gamme des valeurs de la littérature (8,2 - 56,9 g/100 g MH) et confirment l'importante variabilité de la teneur en lipides totaux des larves de *R. phoenicis*.

En considérant les valeurs moyennes obtenues pour les différents groupes de larves, la plus forte teneur en lipides est observée chez les larves jaunes sauvages ( $27,7 \pm 2,3$  g/100 g MH). Cette valeur est significativement différente ( $p < 0,0001$ ) de la teneur en lipides des larves blanches sauvages ( $22,2 \pm 0,8$  g/100 g MH) et de larves de blanches élevages ( $17,4 \pm 3,0$  g/100 g MH). La faible teneur en lipides des larves blanches élevages est en accord avec sa faible masse, probablement parce que ces larves ont eu peu de temps pour accumuler les lipides (25 jours de croissance). De plus, les valeurs mesurées sur différents lots de larves jaunes sauvages et blanches élevages étaient significativement différentes, montrant une moindre homogénéité de ce paramètre par comparaison aux paramètres morphométriques.

La teneur en protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* a été calculée à partir de la teneur en azote total. Les résultats montrent que les protéines sont troisième composant majeur chez les larves de *R. phoenicis* avec des teneurs allant de  $7,7 \pm 0,1$  à  $9,7 \pm 0,4$  g/100 g MH. Statistiquement, il existe une différence significative entre la teneur en protéines des larves blanches sauvages ( $7,8 \pm 0,3$  g/100 g MH), des larves blanches élevages ( $8,7 \pm 0,7$  g/100 g MH) et des larves jaunes sauvages ( $8,8 \pm 0,9$  g/100 g MH).

Les teneurs en cendres des larves de *Rhynchophorus phoenicis* varient de  $0,53 \pm 0,02$  à  $1,02 \pm 0,02$  g/100 g MH. La teneur en cendres des larves blanches est similaire à celle des larves blanches élevages. Toutefois, ces teneurs en cendres des larves blanches sont significativement différentes de celle des larves jaunes. Les glucides n'ont pas été analysés, toutefois leurs teneurs ont été déterminées par différence. Ils sont présents en faible quantité chez les larves de *R. phoenicis* et par conséquent contribuent faiblement à la valeur énergétique des larves. Les protéines et lipides des larves de *R. phoenicis* représentent à eux seuls entre  $92,38 \pm 0,11$  et  $105,12 \pm 0,71$  g/100 g MH.

La teneur en énergie minimale des larves de *Rhynchophorus phoenicis* a été calculée en se basant uniquement sur les teneurs en lipides et en protéines. La valeur énergétique varie significativement avec le morphotype de larve. La teneur en énergie des larves blanches sauvages [ $965 \pm 20$  KJ / 100 g MH ( $231 \pm 5$  kcal/100 g MH)] est statistiquement identique à celle des larves blanches élevages [ $802 \pm 132$  kJ/100 g MH ( $192 \pm 32$  kcal/100 g MH)], tandis que la valeur énergétique des larves jaunes sauvages [ $1190 \pm 111$  kJ/100 g MH ( $284 \pm 26$  kcal/100 g MH)] est significativement plus élevée que celle des précédentes. Ces résultats sont en accord avec les teneurs en eau plus faibles et les teneurs en lipides plus élevées obtenues chez les larves jaunes sauvages, par comparaisons aux autres larves, ceci quelque soit leur conditions de croissance.

### III.2.1.4. Composition en tocophérols des différents morphotypes de larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Le tableau XXXI présente les compositions en tocophérols des différents morphotypes de larves de *Rhynchophorus phoenicis*, se développant sur différents types de palmier raphia, et récoltés en milieu sauvage ou élevés.

**Tableau XXXI:** Composition en tocophérols des différentes variétés des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

	$\alpha$ -tocophérol (mg/ 100g MH)	$\beta$ -tocophérol (mg/ 100g MH)	$\gamma$ -tocophérol (mg/g 100g MH)	$\delta$ -tocophérol (mg/ 100g MH)	total tocophérol (mg/ 100g MH)
<b>Lot 1</b>	0,62 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,05 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,36 ± 0,03 <sup>c</sup>	0,06 ± 0,00 <sup>b</sup>	2,09 ± 0,05 <sup>b</sup>
<b>Lot 2</b>	0,47 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,06 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,51 ± 0,06 <sup>b</sup>	0,07 ± 0,00 <sup>a</sup>	2,11 ± 0,09 <sup>b</sup>
<b>Lot 3</b>	0,62 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,09 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,76 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,08 ± 0,00 <sup>a</sup>	2,55 ± 0,03 <sup>a</sup>
<b>Jaunes sauvages</b>	<b>0,57 ± 0,08<sup>C</sup></b>	<b>0,07 ± 0,02<sup>C</sup></b>	<b>1,54 ± 0,18<sup>B</sup></b>	<b>0,07 ± 0,01<sup>B</sup></b>	<b>2,25 ± 0,23<sup>B</sup></b>
<b>Lot 1</b>	1,60 ± 0,17 <sup>a</sup>	0,27 ± 0,02 <sup>a</sup>	4,12 ± 0,30 <sup>a</sup>	0,19 ± 0,01 <sup>a</sup>	6,17 ± 0,48 <sup>a</sup>
<b>Lot 2</b>	1,20 ± 0,06 <sup>b</sup>	0,27 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,69 ± 0,07 <sup>b</sup>	0,10 ± 0,00 <sup>b</sup>	4,27 ± 0,13 <sup>b</sup>
<b>Lot 3</b>	1,27 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,23 ± 0,01 <sup>b</sup>	2,24 ± 0,04 <sup>c</sup>	0,10 ± 0,01 <sup>b</sup>	3,84 ± 0,04 <sup>b</sup>
<b>Blanches sauvages</b>	<b>1,35 ± 0,21<sup>A</sup></b>	<b>0,26 ± 0,02<sup>B</sup></b>	<b>3,02 ± 0,86<sup>A</sup></b>	<b>0,13 ± 0,04<sup>A</sup></b>	<b>4,76 ± 1,10<sup>A</sup></b>
<b>Lot 1</b>	1,19 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,40 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,15 ± 0,04 <sup>c</sup>	0,07 ± 0,00 <sup>c</sup>	3,81 ± 0,09 <sup>c</sup>
<b>Lot 2</b>	1,06 ± 0,05 <sup>b</sup>	0,31 ± 0,01 <sup>b</sup>	2,94 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,11 ± 0,00 <sup>b</sup>	4,42 ± 0,10 <sup>a</sup>
<b>Lot 3</b>	1,07 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,30 ± 0,01 <sup>b</sup>	2,60 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,14 ± 0,01 <sup>a</sup>	4,10 ± 0,02 <sup>b</sup>
<b>Blanches élevages</b>	<b>1,11 ± 0,07<sup>B</sup></b>	<b>0,34 ± 0,05<sup>A</sup></b>	<b>2,56 ± 0,35<sup>A</sup></b>	<b>0,11 ± 0,03<sup>A</sup></b>	<b>4,11 ± 0,27<sup>A</sup></b>

Les lots 1, 2 et 3 représentent trois différents échantillons de larves de même type collectés sur des troncs de palmier raphia différents ou élevés dans des cuvettes différentes.

Les valeurs reportées sont les moyennes ± écart-types calculées à partir de trois analyses.

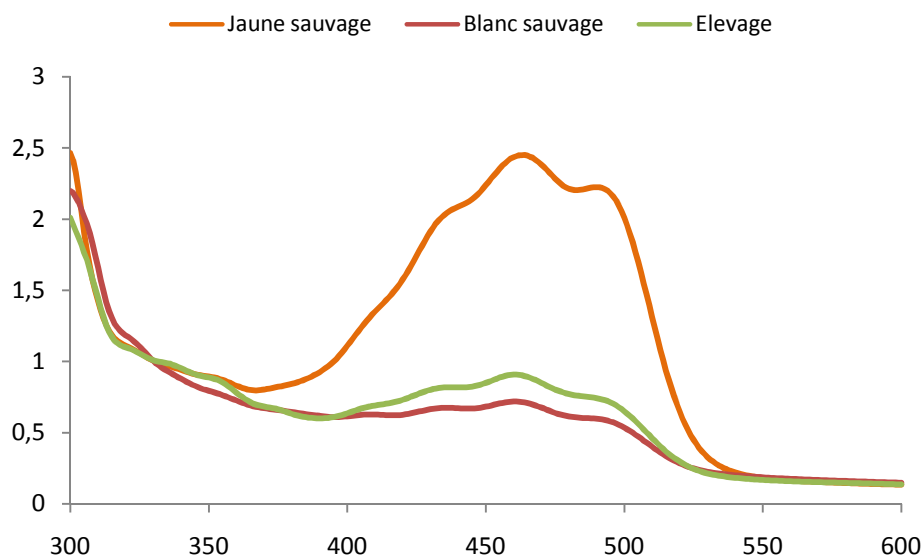
Les moyennes en gras comportant en exposant différentes lettres majuscules et à l'intérieur d'une colonne sont significativement différentes ( $p < 0,05$ )

Les moyennes comportant en exposant des lettres minuscules, présentent entre deux lignes d'une même colonne sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) (effet lot).

Les 4 isomères tocophérols, à savoir  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$  tocophérol ont été identifiés dans chaque type de larve. L'isomère le plus abondant est le  $\gamma$ -tocophérol (valeur moyenne allant de 1,54 ± 0,18 - 3,02 ± 0,86 mg/100 g MH), suivi de l' $\alpha$ -tocophérol (valeur moyenne allant de 0,57 ± 0,08 à 1,35 ± 0,21 mg/100 g MH). La teneur en tocophérols totaux des larves blanches (valeur moyenne de 4,11 ± 0,27 - 4,76 ± 1,10 g/100 g MH) est significativement élevée comparée à celle des larves jaunes (2,25 ± 0,23 g/100 g MH). Les teneurs en tocophérols totaux des larves blanches sauvages et des larves blanches d'élevage sont statistiquement identiques.

### III.2.1.5. Composition en caroténoïdes des différents morphotypes de larves de *Rhynchophorus phoenicis*

En prélude à la détermination de la composition en carotène, le spectre de chacun des extraits lipidiques des trois groupes de larves a été déterminé. La figure 20 présente le spectre d'absorption des larves de *Rhynchophorus phoenicis* jaune sauvage, blanche sauvage et blanche élevage.



**Figure 20:** Spectre UV-Visible des extraits lipidiques des larves de *Rhynchophorus phoenicis* jaune sauvage, blanche sauvage et blanche élevage

La figure 20 montre que les extraits lipidiques des trois groupes de larves de *R. phoenicis* ont des allures identiques. Ils présentent un maximum d'absorption situé entre 461 et 463 nm et semblent être caractéristiques du  $\beta$ -carotène.

La teneur en caroténoïdes (basée sur le coefficient d'absorption molaire du  $\beta$ -carotène comme référence) des larves de *Rhynchophorus phoenicis* est présentée dans le tableau XXXII.



**Tableau XXXII:** Composition en caroténoïdes des différentes variétés de larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Larvae type	caroténoïdes ( $\mu\text{g}/100\text{g MH}$ )
<b>Lot 1</b>	$871 \pm 17^a$
<b>Lot 2</b>	$751 \pm 59^a$
<b>Lot 3</b>	$793 \pm 10^a$
<b>Jaunes sauvages</b>	<b><math>805 \pm 61^A</math></b>
<b>Lot 1</b>	$439 \pm 297^a$
<b>Lot 2</b>	$421 \pm 142^a$
<b>Lot 3</b>	$312 \pm 56^a$
<b>Blanches sauvages</b>	<b><math>391 \pm 178^B</math></b>
<b>Lot 1</b>	$293 \pm 10^a$
<b>Lot 2</b>	$261 \pm 24^a$
<b>Lot 3</b>	$273 \pm 19^a$
<b>Blanches élevages</b>	<b><math>276 \pm 22^B</math></b>

Les lots 1, 2 et 3 représentent trois différents échantillons de larves de même type collectés sur des troncs de palmier raphia différents ou élevés dans des cuvettes différentes.

Les valeurs reportées sont les moyennes  $\pm$  écart-types calculées à partir de trois analyses.

Les moyennes en gras comportant en exposant différentes lettres majuscules et à l'intérieur d'une colonne sont significativement différentes ( $p < 0,05$ )

Les moyennes comportant en exposant des lettres minuscules, présentent entre deux lignes d'une même colonne sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) (effet lot).

La teneur en caroténoïdes varie de  $261 \pm 24$  à  $870 \pm 17 \mu\text{g}/100 \text{ g MH}$  chez les larves de *R. phoenicis*. La teneur moyenne en caroténoïdes des larves jaunes ( $805 \pm 61 \mu\text{g}/100 \text{ g MH}$ ) est significativement différente et supérieure à la teneur moyenne en caroténoïdes des larves blanches ( $391 \pm 178 \mu\text{g}/100 \text{ g MH}$ ). Ce résultat permet d'expliquer le caractère coloré jaunes des larves de *R. phoenicis* de couleur jaune. La teneur en caroténoïdes des larves blanches sauvages était plus élevée mais non significativement différente de celles larves blanches élevages ( $276 \pm 22 \mu\text{g}/100 \text{ g MH}$ ).

#### III.2.1.6. Composition en acides gras des différents morphotypes de larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Les teneurs en acides gras, exprimées en  $\text{g}/100 \text{ g MH}$ , des différents morphotypes de larves de *Rhynchophorus phoenicis*, se développant sur différents types de palmier raphia, et récoltés en milieu sauvage ou élevés, sont présentées dans le tableau XXXIII. Les autres teneurs en acides gras ( $\text{g}/100 \text{ g}$  d'acides gras identifiés totaux ;  $\text{mg}/\text{g}$  de lipides) sont présentés

en Annexe 8 (Tableau 4 et Tableau 5). Au moins 13 acides gras ont été identifiés chez chaque morphotype de larve de *R. phoenicis*. La teneur en AGPI des larves blanches élevages ( $0,8 \pm 0,1$  g/100 g MH) est similaire à celle des larves blanches sauvages ( $0,8 \pm 0,2$  g/100 g MH). Mais ces deux teneurs sont significativement élevées comparées à celle des larves jaunes sauvages ( $0,5 \pm 0,1$  g/100 g MH). Quelque soit le morphotype de larves de *R. phoenicis*, la quantité d'AGPI présente est inférieure à la valeur reportée chez l'œuf de poule ( $1,65$  g/100g MH) ou chez le poisson (maquereau) ( $3,91$  g/100g MH) (ANSES, 2016). Chez les larves de *R. phoenicis*, l'acide linoléique et  $\alpha$ -linoléique sont les seuls AGPI rencontrés. Les larves blanches contiennent plus d'acide linoléique ( $0,61 \pm 0,12$  à  $0,62 \pm 0,07$  g/100 g MH) et d'acide  $\alpha$ -linoléique ( $0,16 \pm 0,02$  à  $0,18 \pm 0,06$  g/100 g MH) que les larves jaunes ( $0,42 \pm 0,06$  et  $0,06 \pm 0,01$  g/100 g MH respectivement). Étant donné que les apports journaliers recommandés chez les adultes sont estimés à  $4,4$  g/jours pour l'acide linoléique et  $1,8$  g/jours pour l'acide  $\alpha$ -linoléique, une consommation de  $100$  g de larves fraîche de *R. phoenicis* fournira entre  $0,4 \pm 0,1$  et  $0,6 \pm 0,1$  g/100 g MH d'acide linoléique, ce qui représente  $9,1$  et  $13,6$  % des apports journaliers recommandés. Une consommation de  $100$  g de larves fraîches de *R. phoenicis* fournira également entre  $0,06 \pm 0,01$  et  $0,2 \pm 0,1$  g/100 g MH d'acide  $\alpha$ -linoléique, ce qui représente entre  $3,33$  et  $11,1\%$  des apports journaliers recommandés. Derrière leurs faibles apports en AGPI, les larves blanches de *R. phoenicis* ont un ratio n-6/n-3 favorable ( $3,2$  chez les larves blanches sauvages et  $3,8$  chez les larves blanches élevages). Ce ratio est similaire à celui obtenue sur les larves achetées sur les marchés de Yaoundé et analysées dans cette étude (Tableau 19). Chez les larves jaunes sauvages, ce ratio n-6/n-3 est élevé, soit de  $7,0 \pm 0,1$ . Cette valeur est supérieure à la valeur ciblée qui est de  $5$ .

Étant donné que l'utilisation des huiles et matières grasses en industrie alimentaire dépend de manière prédominante de leur composition en acides gras, les résultats ont également été exprimés en g/100 g AG. La composition en AG des larves blanches élevages et blanches sauvages est très proche, excepté la présence chez les larves blanches sauvages du C24, non détecté chez les larves blanches élevages. De faibles quantités d'acide linoléique ont été quantifiées chez les larves blanches sauvages ( $3,1 \pm 0,7$  g/100 g AG) par comparaison à celles des larves blanches élevages ( $4,17 \pm 1,20$  g/100 AG). Par contre, des différences ont été observées dans les compositions en AG des lipides des larves blanches et des larves jaunes. En effet, les teneurs en C18: 1n-9, très proches chez les larves blanches élevages ( $44,2 \pm 2,0$  g/100 g AG) et blanches sauvages ( $47,0 \pm 2,0$  g/100 g AG), sont significativement ( $P < 0,05$ ) inférieures à celles des larves jaunes sauvages ( $57,8 \pm 0,5$  g/100 g AG). De même, les teneurs

en AGPI, très proches chez larves blanches sauvages ( $4,0 \pm 0,9$  g/100 g FA) et blanches élevages ( $5,3 \pm 1,5$  g/100 g FA), sont significativement ( $P < 0,05$ ) plus élevées que celle des larves jaunes sauvages ( $2,8 \pm 0,4$  g/100 g AG).

Tableau XXXIII: composition en acides gras des différents groupes de larves de *Rhynchophorus phoenicis* (g/100 g matière humide)

Acides gras	Type de larves											
	Jaunes Sauvages				Blanches Sauvages				Blanches Elevages			
	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Moyenne	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Moyenne	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Moyenne
C12	0,01 ± 0,01	/	/	<b>0,00 ± 0,01A</b>	0,02 ± 0,00	/	/	<b>0,01 ± 0,01A</b>	0,02 ± 0,00	/	/	<b>0,01 ± 0,01A</b>
C14	0,3 ± 0,0a	0,36 ± 0,01a	0,22 ± 0,19a	<b>0,3 ± 0,1B</b>	0,53 ± 0,03a	0,3 ± 0,2a	0,56 ± 0,03a	<b>0,5 ± 0,2A</b>	0,43 ± 0,04a	0,54 ± 0,05a	0,33 ± 0,03a	<b>0,4 ± 0,1A</b>
C15	/	/	/	/	0,03 ± 0,00a	0,02 ± 0,02b	0,02 ± 0,00b	<b>0,02 ± 0,01B</b>	0,03 ± 0,00a	0,03 ± 0,00a	0,04 ± 0,00a	<b>0,03 ± 0,00A</b>
C16	4,69 ± 0,05a	5,5 ± 0,3a	5,32 ± 0,27a	<b>5,1 ± 0,4B</b>	7,7 ± 0,3a	6,6 ± 0,1b	7,9 ± 0,4a	<b>7,4 ± 0,7A</b>	5,7 ± 0,50b	7,84 ± 1,04a	4,5 ± 0,3b	<b>6,0 ± 1,6B</b>
C18	0,54 ± 0,00a	0,6 ± 0,1a	0,51 ± 0,03a	<b>0,54 ± 0,05B</b>	0,94 ± 0,05a	0,82 ± 0,02a	0,83 ± 0,04a	<b>0,86 ± 0,07A</b>	0,83 ± 0,06b	1,01 ± 0,15a	0,68 ± 0,05c	<b>0,8 ± 0,2A</b>
C20	0,07 ± 0,01a	0,09 ± 0,02a	0,08 ± 0,02a	<b>0,08 ± 0,01B</b>	0,14 ± 0,01a	0,11 ± 0,01a	0,09 ± 0,01b	<b>0,12 ± 0,02A</b>	0,11 ± 0,01b	0,17 ± 0,05a	0,10 ± 0,01b	<b>0,13 ± 0,04A</b>
C24	/	/	/	/	0,2 ± 0,4a	0,2 ± 0,3a	/	<b>0,1 ± 0,3A</b>	/	/	/	/
C16:1n-9	0,08 ± 0,00a	0,09 ± 0,00a	0,08 ± 0,01a	<b>0,08 ± 0,01A</b>	0,05 ± 0,00a	0,06 ± 0,00a	0,06 ± 0,00a	<b>0,06 ± 0,01B</b>	0,02 ± 0,02b	0,04 ± 0,01a	0,03 ± 0,00b	<b>0,03 ± 0,01C</b>
C16:1n-7	0,53 ± 0,01b	0,66 ± 0,01a	0,62 ± 0,02a	<b>0,60 ± 0,06A</b>	0,53 ± 0,03b	0,47 ± 0,01b	0,62 ± 0,03a	<b>0,54 ± 0,07A</b>	0,35 ± 0,03b	0,53 ± 0,07a	0,29 ± 0,02c	<b>0,4 ± 0,1B</b>
c17:1	/	/	/	/	/	/	/	/	0,01 ± 0,01a	/	0,01 ± 0,00a	<b>0,01 ± 0,01A</b>
C18:1n-9	9,23 ± 0,09b	11,00 ± 0,4a	10,2 ± 0,2a	<b>10,0 ± 0,8A</b>	9,1 ± 0,3a	9,2 ± 0,2a	9,3 ± 0,5a	<b>9,2 ± 0,3A</b>	6,3 ± 0,6b	9,66 ± 1,46a	5,1 ± 0,4c	<b>7,0 ± 2,2B</b>
C18:1n-7	/	0,03 ± 0,00a	0,03 ± 0,00a	<b>0,02 ± 0,01A</b>	0,01 ± 0,01b	0,02 ± 0,00a	0,01 ± 0,01b	<b>0,01 ± 0,01A</b>	0,01 ± 0,00a	/	0,01 ± 0,00a	<b>0,01 ± 0,01A</b>
C20:1n-9	0,01 ± 0,01a	0,01 ± 0,00a	0,02 ± 0,01a	<b>0,02 ± 0,01A</b>	0,01 ± 0,01a	0,02 ± 0,00a	/	<b>0,01 ± 0,01A</b>	0,02 ± 0,00b	0,04 ± 0,02a	0,01 ± 0,00b	<b>0,02 ± 0,02A</b>
C22:1n-9	0,07 ± 0,01a	0,08 ± 0,01a	0,08 ± 0,01a	<b>0,08 ± 0,01A</b>	0,05 ± 0,01a	0,06 ± 0,01a	0,05 ± 0,01a	<b>0,05 ± 0,01B</b>	0,04 ± 0,02a	0,05 ± 0,01a	0,02 ± 0,00a	<b>0,04 ± 0,01C</b>
C18:2n-6	0,44 ± 0,01a	0,46 ± 0,12a	0,38 ± 0,02a	<b>0,42 ± 0,06B</b>	0,67 ± 0,03a	0,71 ± 0,01a	0,46 ± 0,02b	<b>0,61 ± 0,12A</b>	0,64 ± 0,06a	0,56 ± 0,08a	0,65 ± 0,05a	<b>0,62 ± 0,07A</b>
C18:3n-3	0,06 ± 0,00a	0,07 ± 0,02a	0,05 ± 0,00a	<b>0,06 ± 0,01B</b>	0,20 ± 0,01a	0,19 ± 0,01a	0,2 ± 0,1a	<b>0,18 ± 0,06A</b>	0,18 ± 0,02a	0,14 ± 0,02a	0,16 ± 0,01a	<b>0,16 ± 0,02A</b>
Total SFA	5,61 ± 0,07a	6,53 ± 0,44a	6,1 ± 0,3a	<b>6,0 ± 0,5C</b>	9,5 ± 0,7a	8,0 ± 0,6b	9,4 ± 0,5a	<b>9,0 ± 0,9A</b>	7,1 ± 0,6b	9,58 ± 1,30a	5,6 ± 0,4c	<b>7,4 ± 1,9B</b>
Total MUFA	9,92 ± 0,07b	11,82 ± 0,43a	11,0 ± 0,2a	<b>10,8 ± 0,8A</b>	9,8 ± 0,3a	9,8 ± 0,2a	10,0 ± 0,5a	<b>9,9 ± 0,4A</b>	6,8 ± 0,6b	10,32 ± 1,55a	5,5 ± 0,4c	<b>7,5 ± 2,4B</b>
Total PUFA	0,51 ± 0,01a	0,53 ± 0,13a	0,43 ± 0,02a	<b>0,48 ± 0,07B</b>	0,87 ± 0,03a	0,90 ± 0,01a	0,6 ± 0,1b	<b>0,8 ± 0,2A</b>	0,82 ± 0,08a	0,70 ± 0,10a	0,8 ± 0,1a	<b>0,8 ± 0,1A</b>
Total UFA	10,43 ± 0,08a	12,35 ± 0,56a	11,4 ± 0,2a	<b>11,3 ± 0,8A</b>	10,6 ± 0,4a	10,7 ± 0,2a	10,7 ± 0,7a	<b>10,7 ± 0,4A</b>	7,6 ± 0,7b	11,02 ± 1,65a	6,3 ± 0,5c	<b>8,3 ± 2,3B</b>
Total FA	16,0 ± 0,2a	18,9 ± 1,0a	17,6 ± 0,6a	<b>17,3 ± 1,3AB</b>	20,2 ± 1,1a	18,7 ± 0,7a	20,1 ± 1,1a	<b>19,6 ± 1,1A</b>	14,7 ± 1,3b	20,61 ± 2,95a	11,9 ± 0,9c	<b>15,7 ± 4,2B</b>
n-6/n-3	7,20 ± 0,10a	7,00 ± 0,10a	6,90 ± 0,20a	<b>7,02 ± 0,17A</b>	3,27 ± 0,04a	3,7 ± 0,2a	2,12 ± 0,02a	<b>3,2 ± 0,7B</b>	3,54 ± 0,03a	3,86 ± 0,02a	4,0 ± 0,1a	<b>3,8 ± 0,2B</b>

Les lots 1, 2 et 3 représentent trois différents échantillons de larves de même type collectés sur des troncs de palmier raphia différents ou élevés dans des cuvettes différentes.

Pour chaque lot, la valeur indiquée est la moyenne de trois analyses.

Effet type de larves : pour chaque type de larves, les valeurs moyennes des acides gras possédants différentes lettres majuscules à l'intérieur d'une ligne sont significativement différents ( $p < 0,05$ ).

Effets lot : dans chaque type de larves, les valeurs moyennes des acides gras possédants différentes lettres minuscules à l'intérieur d'une même ligne sont significativement différents ( $p < 0,05$ ). AG: acide gras; AGS: acide gras saturé; AGMI: acide gras monoinsaturé; AGPI: acide gras polyinsaturé

### III.2.1.7. Composition en acides aminés des différents morphotypes de larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Les teneurs en acides aminés des différents morphotypes de larves de *Rhynchophorus phoenicis*, se développant sur différents types de palmier raphia, et récoltés en milieu sauvage ou élevés, sont présentées dans le tableau XXXIV, où elles sont exprimées en mg/100 g MH. Les données en mg/g protéine sont présentées en Annexe (Annexe 8 ; Tableau 6). Dix-huit acides aminés ont été identifiés chez chaque morphotype de larves de *R. phoenicis*. Les larves jaunes sauvages, blanches sauvages et blanches élevées ont des compositions et des concentrations en acides aminés très proches, indiquant ainsi l'absence de tout effet morphotype ou conditions de croissance sur la base des variables acides aminés. Les trois morphotypes de larves de *R. phoenicis* ont des teneurs similaires ( $P < 0,05$ ) pour chaque acide aminé indispensable. Cependant, la somme des résidus d'acides aminés indispensables (AAI) des larves blanches sauvages ( $4420 \pm 221$  mg/100 g MH) était significativement différente de celles des larves jaunes sauvages ( $5001 \pm 311$  mg/100 g MH), mais significativement égale à celle des larves blanches élevées ( $4858 \pm 64$  mg/100 g MH). L'acide aminé le plus abondant chez les larves de *R. phoenicis* est l'acide glutamique ( $1007 \pm 48 - 1122 \pm 196$  mg/100g MH). L'acide aminé le moins abondant est la cystéine pour les larves blanches élevées ( $216 \pm 11$  mg/100 g MH) et l'histidine pour les larves blanches sauvages ( $202 \pm 11$  mg/100 g MH) et les larves jaunes sauvages ( $233 \pm 23$  mg/100 g MH).

Tableau XXXIV : Concentration en résidus d'acides aminés des différents groupes de larves de *Rhynchophorus phoenicis* (mg/100 g MH)

Acides aminés	Type de larves												Viandes/poisson			
	Jaunes sauvages				Blanches sauvages				Blanches élevages				Poisson <sup>1</sup>	Veau (chair) <sup>1</sup>	Poulet (chair) <sup>1</sup>	Protéine VR <sup>2</sup>
	Lot 1	Lot 2	Lot 3	moyenne (n=3)	Lot 1	Lot 2	Lot 3	moyenne (n=3)	Lot 1	Lot 2	Lot 3	moyenne (n=3)				
ALA	399,0	476,5	420,1	<b>432 ± 40a</b>	440,1	431,0	438,9	<b>437 ± 5a</b>	509,3	477,3	475,7	<b>488± 19a</b>	1126	1033	682	
ARG	336,3	363,0	423,1	<b>374 ± 44a</b>	308,0	331,2	313,1	<b>317 ± 12a</b>	484,3	329,7	380,9	<b>398± 79a</b>	1066	1118	1114	
ASP	631,9	785,8	673,3	<b>697 ± 80a</b>	592,5	627,9	621,6	<b>614 ± 19a</b>	729,5	604,7	730,3	<b>688± 72a</b>	1947	1590	1834	
GLU	982,9	1346,1	1036,0	<b>1122 ± 196a</b>	989,2	1060,7	969,8	<b>1007 ± 48a</b>	1163,7	920,0	1198,2	<b>1094± 152a</b>	2655	2703	3002	
GLY	331,9	353,9	321,7	<b>336 ± 16a</b>	301,8	300,8	297,2	<b>300 ± 2a</b>	342,7	322,2	304,5	<b>323± 19a</b>	906	860	1059	
PRO	487,4	586,4	425,2	<b>500 ± 81a</b>	446,3	397,0	401,6	<b>415 ± 27a</b>	420,0	458,0	446,6	<b>442± 19a</b>	692	668	829	
SER	294,8	362,4	325,5	<b>328 ± 34a</b>	285,4	314,5	325,0	<b>308 ± 21a</b>	364,2	300,9	332,6	<b>333± 32a</b>	816	713	781	
TAANI	<b>3464,2</b>	<b>4274,2</b>	<b>3624,8</b>	<b>3788 ± 429a</b>	<b>3363,3</b>	<b>3463,1</b>	<b>3367,2</b>	<b>3398 ± 57a</b>	<b>4013,7</b>	<b>3412,8</b>	<b>3868,9</b>	<b>3765± 314a</b>				
HIS	212,5	257,1	228,9	<b>233 ± 23a</b>	194,4	198,5	214,5	<b>202 ± 11a</b>	250,8	206,1	229,1	<b>229± 22a</b>	<b>665</b>	<b>603</b>	<b>525</b>	<b>690</b>
ILEU	347,7	468,8	388,5	<b>402 ± 62a</b>	398,3	344,7	390,9	<b>378 ± 29a</b>	412,1	417,1	404,4	<b>411± 6a</b>	<b>900</b>	<b>852</b>	<b>1069</b>	<b>1380</b>
LEU	460,3	677,4	563,1	<b>567 ± 109a</b>	541,5	504,3	594,1	<b>547 ± 45a</b>	619,7	567,8	615,9	<b>601± 29a</b>	<b>1445</b>	<b>1435</b>	<b>1472</b>	<b>1794</b>
LYS	502,6	629,4	547,5	<b>560 ± 64a</b>	458,0	502,3	503,3	<b>488 ± 26a</b>	553,0	463,8	596,6	<b>539± 68a</b>	<b>1713</b>	<b>1573</b>	<b>1590</b>	<b>2070</b>
THR	444,9	416,8	436,2	<b>433 ± 14a</b>	325,9	347,4	411,7	<b>362 ± 45a</b>	437,3	379,0	413,0	<b>410± 29a</b>	<b>861</b>	<b>812</b>	<b>794</b>	<b>1058</b>
VAL	657,3	551,4	445,5	<b>551 ± 106a</b>	771,4	401,5	456,3	<b>543 ± 200a</b>	496,5	848,0	494,5	<b>613± 204a</b>	<b>1150</b>	<b>886</b>	<b>1018</b>	<b>1794</b>
PHE	304,8	393,5	335,2	<b>345 ± 45a</b>	263,1	307,9	320,7	<b>297 ± 30a</b>	352,7	279,1	363,1	<b>332± 46a</b>	<b>737</b>	<b>778</b>	<b>800</b>	
TRP	274,1	299,4	355,1	<b>310 ± 41a</b>	262,5	245,1	293,8	<b>267 ± 25a</b>	285,9	271,7	255,8	<b>271± 15a</b>			<b>205</b>	<b>276</b>
TYR	979,3	1012,7	849,1	<b>947 ± 86a</b>	561,4	806,8	935,3	<b>768 ± 190a</b>	931,7	867,6	862,1	<b>887± 39a</b>	<b>689</b>	<b>637</b>	<b>669</b>	
TAAA	<b>1558,2</b>	<b>1705,5</b>	<b>1539,4</b>	<b>1601 ± 91a</b>	<b>1087,0</b>	<b>1359,8</b>	<b>1549,8</b>	<b>1332 ± 233a</b>	<b>1570,4</b>	<b>1418,4</b>	<b>1481,1</b>	<b>1490± 76a</b>	<b>1426</b>	<b>1415</b>	<b>1469</b>	<b>1748</b>
CYS	240,9	223,6	307,7	<b>257 ± 44a</b>	227,5	236,7	198,0	<b>221 ± 20a</b>	220,2	204,1	224,8	<b>216± 11a</b>	<b>220</b>	<b>226</b>	<b>262</b>	
MET	373,1	428,9	388,4	<b>397 ± 29a</b>	339,3	353,1	350,5	<b>348 ± 7a</b>	369,6	331,3	348,3	<b>350± 19a</b>	<b>539</b>	<b>478</b>	<b>502</b>	
TSAA	<b>614,0</b>	<b>652,5</b>	<b>696,1</b>	<b>654 ± 41a</b>	<b>566,8</b>	<b>589,8</b>	<b>548,5</b>	<b>568 ± 21b</b>	<b>589,8</b>	<b>535,4</b>	<b>573,2</b>	<b>566± 28b</b>	<b>759</b>	<b>704</b>	<b>764</b>	<b>1012</b>
TAAI	<b>4797,6</b>	<b>5359,1</b>	<b>4845,2</b>	<b>5001 ± 311a</b>	<b>4343,1</b>	<b>4248,3</b>	<b>4669,1</b>	<b>4420 ± 221b</b>	<b>4929,6</b>	<b>4835,6</b>	<b>4807,7</b>	<b>4858± 64ab</b>	<b>8919</b>	<b>8280</b>	<b>8906</b>	<b>9062</b>
TAA	8261,8	9633,2	8470,0	<b>8788 ± 739a</b>	7706,4	7711,4	8036,3	<b>7818 ± 189a</b>	8943,4	8248,4	8676,6	<b>8623± 351a</b>	<b>18338</b>	<b>17163</b>	<b>18206</b>	
% AAI	<b>58,1</b>	<b>55,6</b>	<b>57,2</b>	<b>57 ± 1a</b>	<b>56,4</b>	<b>55,1</b>	<b>58,1</b>	<b>57 ± 2a</b>	<b>55,1</b>	<b>58,6</b>	<b>55,4</b>	<b>56± 2a</b>	<b>48,64</b>	<b>48,24</b>	<b>48,92</b>	

Les lots 1, 2 et 3 représentent trois différents échantillons de larves de même morphotype collectés chacun sur un différent tronc de palmier raphia ou élevés dans des cuvettes séparées.

Pour chaque type de larves, la valeur indiquée est la moyenne des résultats des analyses effectuées sur les trois lots du type de larve.

Pour chaque type de larve, la valeur moyenne de chaque acide aminé, portant des lettres minuscules différentes à l'intérieur d'une ligne sont significativement différent ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup> : FAO. (1970). <sup>2</sup> : WHO (2007) Besoin journalier en acide amine d'une femme de 55 Kg consommant 46 g de protéines par jour.

AAS: acide aminé soufré (Cys+Met); AAA: acide aminé aromatique (Phe+Tyr+Trp); AAI : acide aminé indispensable; AANI: acide aminé non Indispensable. AAT: acides amines totaux

### III.2.1.8. Corrélation de Pearson et analyse des composantes principales (PCA) des données

Tous les paramètres morphologiques et nutritionnels (mm ; g) et les principaux composants nutritionnels (g ou mg/100 g MH) ont été analysés en utilisant la corrélation de Pearson et l'analyse en composantes principales. Ces analyses permettent de visualiser d'un part les liens entre les variables (composants nutritionnels et paramètres morphologiques) et d'autre part, de visualiser/souligner les ressemblances/dissemblances/différences/distances entre les morphotypes/conditions de croissance de larves de *Rhynchophorus phoenicis*, y compris l'homogénéité et/ou la dispersion des lots du même morphotype de larves. Les résultats de la corrélation de Pearson sont présentés dans le tableau XXXV (matrice de corrélation de Pearson). Le diagramme en double de l'analyse en composante principale fait ressortir les ressemblances et les différences entre les morphotypes/conditions de croissance des larves (Figure 21). La longueur des larves et la capsule céphalique sont corrélées avec les autres paramètres morphométriques. Entre les paramètres morphométriques et les composants nutritifs, seule la teneur en lipides était positivement corrélée à la longueur des larves ( $r = 0,785$ ;  $p < 0,01$ ). En ce qui concerne les composants nutritifs, la teneur en lipides est positivement corrélée avec la teneur en énergie ( $0,998$  ;  $p < 0,01$ ), la teneur en caroténoïdes ( $r = 0,812$ ,  $p < 0,01$ ), la teneur en méthionine ( $r = 0,701$  ;  $p < 0,01$ ) et la teneur en AGI ( $r = 0,917$  ;  $p < 0,01$ ) des larves. Les lipides totaux des larves augmentent avec ces variables. La teneur en lipides était négativement corrélée avec la teneur en AGPI ( $r = - 0,713$ ,  $p < 0,01$ ), la teneur en acide linoléique ( $r = - 0,683$ ,  $p < 0,01$ ), et la teneur en acide linoléique ( $r = - 0,719$ ,  $p < 0,01$ ). La teneur en protéine est positivement corrélée avec la teneur en proline ( $r = 0,863$ ,  $p < 0,01$ ) et la teneur en acide aminé indispensable ( $r = - 0,681$  ;  $p < 0,01$ ).

La première dimension du diagramme double contient approximativement 42% de la variabilité du système, tandis que la deuxième dimension du diagramme double contient approximativement 24 % de la variabilité totale du système. De manière générale, mis à part le lot 2 des larves blanches élevées, les différents lots des différents groupes de larves sont d'autant plus proches entre eux qu'ils sont éloignés des lots des autres groupes de larves. Ce résultat indique la présence de variables caractéristiques propres à chaque type de larves.

Tableau XXXV: Matrice de corrélation de Pearson des paramètres morphologiques et composants nutritionnels des larves des *Rhynchophorus phoenicis*

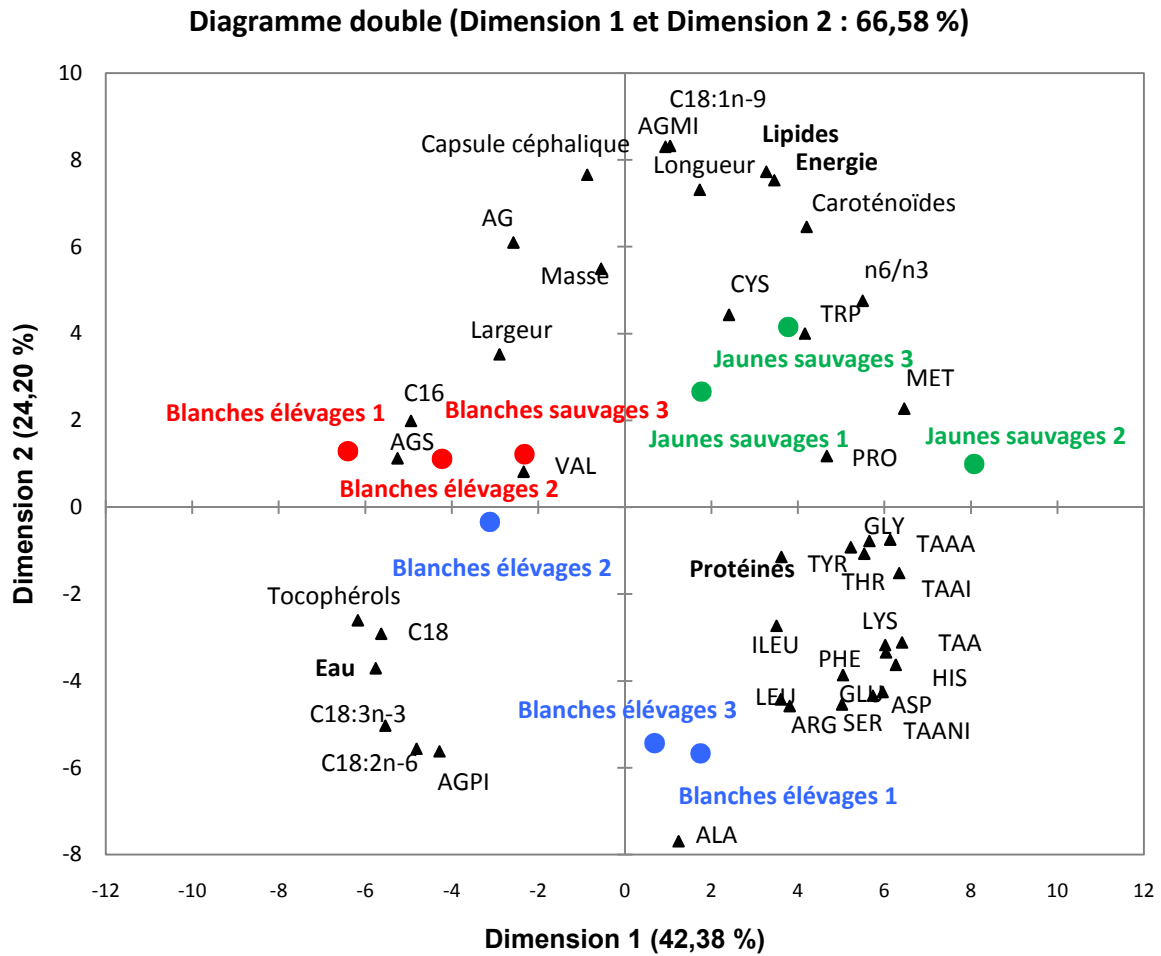
Variables	Eau	Lipides	Protéines	Énergie	Longueur	Largeur	Capule céphalique	ALA	ARG	ASP	GLU	GLY	PRO	SER	TAANI	HIS	ILEU	LEU	LYS	THR	VAL	PHE	TRP	TYR	TAA	C16	C18	C18:1n-9	C18:2n-6	C18:3n-3	AGM1	AGPI	AGI	n6/n3	Tocophérols	Caroténoïdes						
Eau	1																																									
Lipides	-0.63	1.00																																								
Protéines	-0.38	0.21	1.00																																							
Énergie	-0.65	0.00	0.27	1.00																																						
Longueur	-0.48	0.79	-0.19	0.76	1.00																																					
Largeur	0.24	0.25	-0.37	0.22	0.60	1.00																																				
Capule céphalique	-0.09	0.62	-0.30	0.59	0.80	0.68	1.00																																			
Masse	-0.17	0.47	-0.21	0.45	0.77	0.77	0.84	1.00																																		
ALA	0.16	-0.45	0.30	-0.42	-0.59	-0.22	-0.69	-0.35	1.00																																	
ARG	-0.41	-0.20	-0.11	-0.20	-0.14	-0.41	-0.57	-0.35	0.50	1.00																																
ASP	-0.47	0.06	0.48	0.09	0.01	-0.26	-0.35	-0.12	0.55	0.63	1.00																															
GLU	-0.33	0.09	0.48	0.12	0.12	-0.02	-0.22	0.01	0.51	0.45	0.95	1.00																														
GLY	-0.60	0.43	0.51	0.46	0.01	-0.44	-0.38	-0.40	0.37	0.53	0.65	0.54	1.00																													
PRO	-0.48	0.57	0.86	0.61	0.16	-0.20	-0.06	-0.08	0.15	-0.08	0.54	0.58	0.71	1.00																												
SER	-0.32	0.00	0.16	0.01	-0.02	-0.15	-0.27	-0.06	0.65	0.70	0.89	0.81	0.57	0.26	1.00																											
TAANI	-0.44	0.10	0.51	0.13	-0.01	-0.23	-0.40	-0.17	0.63	0.63	0.98	0.95	0.73	0.59	0.88	1.00																										
HIS	-0.53	0.14	0.38	0.17	-0.01	-0.40	-0.37	-0.19	0.57	0.73	0.94	0.81	0.76	0.49	0.92	0.93	1.00																									
ILEU	-0.27	0.18	0.63	0.22	-0.10	-0.14	-0.27	0.06	0.71	0.23	0.63	0.61	0.54	0.63	0.59	0.66	1.00																									
LEU	-0.19	-0.03	0.40	0.00	-0.12	-0.10	-0.24	0.12	0.77	0.39	0.75	0.71	0.38	0.38	0.80	0.76	0.76	1.00																								
LYS	-0.52	0.11	0.47	0.14	0.13	-0.21	-0.18	0.02	0.39	0.53	0.97	0.93	0.52	0.51	0.83	0.91	0.87	0.54	1.00																							
THR	-0.58	0.12	0.17	0.13	-0.09	-0.75	-0.27	-0.38	0.05	0.60	0.54	0.29	0.57	0.22	0.53	0.46	0.70	0.12	0.23	0.55	1.00																					
VAL	0.17	0.04	0.42	0.07	-0.36	-0.24	-0.29	-0.34	0.06	-0.43	-0.41	0.10	0.31	-0.57	-0.31	-0.37	0.20	-0.20	-0.53	-0.34	1.00																					
PHE	-0.48	0.10	0.38	0.12	0.09	-0.22	-0.17	0.00	0.43	0.57	0.96	0.89	0.54	0.44	0.90	0.91	0.52	0.72	0.98	0.62	-0.60	1.00																				
TRP	-0.78	0.56	-0.07	0.54	0.50	-0.17	0.24	0.34	-0.14	0.44	0.25	0.06	0.36	0.11	0.32	0.21	0.46	0.26	0.27	0.29	0.56	-0.26	0.32	1.00																		
TYR	-0.43	0.21	0.34	0.23	-0.13	-0.51	-0.12	-0.31	0.16	0.31	0.55	0.38	0.60	0.39	0.55	0.50	0.65	0.21	0.30	0.55	0.81	-0.33	0.66	0.28	1.00																	
TAA	-0.58	0.28	0.34	0.30	0.02	-0.47	-0.09	-0.17	0.19	0.45	0.69	0.51	0.65	0.41	0.72	0.63	0.79	0.33	0.45	0.70	0.86	-0.44	0.79	0.47	0.96	1.00																
C16	-0.73	0.39	-0.18	0.37	0.63	0.06	0.23	0.32	-0.48	0.37	0.08	0.01	0.10	-0.08	-0.04	0.02	0.08	-0.27	-0.26	0.17	0.26	-0.32	0.10	0.64	-0.11	0.06	1.00															
C18	-0.75	0.70	0.37	0.71	0.56	-0.04	0.17	0.18	0.02	0.37	0.73	0.71	0.75	0.69	0.63	0.73	0.76	0.44	0.42	0.74	0.53	-0.36	0.74	0.56	0.56	0.70	0.38	1.00														
C18:1n-9	-0.64	0.33	0.68	0.37	-0.08	-0.56	-0.32	-0.23	0.44	0.44	0.77	0.61	0.83	0.73	0.67	0.77	0.86	0.74	0.67	0.72	0.71	0.00	0.73	0.48	0.73	0.82	0.00	0.72	1.00													
C18:2n-6	-0.58	0.23	0.63	0.27	-0.05	-0.42	-0.38	-0.21	0.56	0.57	0.93	0.83	0.73	0.82	0.73	0.82	0.94	0.95	0.76	0.76	0.87	0.62	-0.17	0.87	0.37	0.65	0.77	0.01	0.77	0.94	1.00											
C18:3n-3	0.62	-0.09	-0.31	-0.11	-0.14	0.45	0.25	0.27	0.10	-0.52	-0.65	-0.45	-0.33	-0.39	-0.56	-0.56	0.05	-0.04	-0.71	-0.69	0.42	-0.65	-0.25	-0.48	-0.56	-0.53	-0.59	-0.46	-0.54	0.99	0.87	0.27	0.28	0.59	1.00							
AGM1	-0.42	0.92	0.11	0.91	0.69	0.40	0.75	0.55	-0.47	-0.43	-0.24	-0.19	0.20	0.38	-0.22	-0.20	-0.15	0.10	-0.14	-0.20	-0.13	0.19	-0.19	0.42	0.07	0.08	0.23	0.40	0.12	0.04	0.35	0.16	1.00									
AGPI	0.79	-0.71	-0.27	-0.72	-0.43	0.36	-0.32	-0.16	0.40	-0.07	-0.19	-0.01	-0.44	-0.43	-0.12	-0.13	-0.35	-0.14	-0.05	-0.27	-0.68	0.07	-0.29	-0.78	-0.58	-0.65	-0.45	-0.62	-0.60	-0.39	0.29	0.71	-0.56	0.99	0.95	0.39	-0.58	1.00				
AGI	0.11	0.55	-0.12	0.53	0.37	0.56	0.61	0.53	-0.24	-0.60	-0.55	-0.45	-0.15	0.05	-0.38	-0.47	-0.44	0.09	-0.12	-0.56	-0.53	0.38	-0.52	0.10	-0.27	-0.31	-0.17	-0.09	-0.22	-0.37	0.83	0.43	0.82	-0.18	0.03	0.78	0.81	-0.12	1.00			
n6/n3	-0.88	0.72	0.45	0.74	0.50	-0.28	0.16	0.02	-0.39	0.17	0.37	0.29	0.62	0.64	0.12	0.35	0.40	0.08	-0.07	0.43	0.56	-0.06	0.38	0.55	0.47	0.55	0.61	0.78	0.57	0.49	-0.64	-0.83	0.47	-0.71	-0.94	-0.70	0.48	-0.81	-0.12	1.00		
Tocophérols	0.77	-0.54	-0.33	-0.56	-0.30	0.40	-0.10	0.09	0.21	-0.31	-0.52	-0.37	-0.65	-0.49	-0.43	-0.46	-0.60	-0.08	-0.10	-0.58	-0.82	0.36	-0.62	-0.54	-0.84	-0.88	-0.38	-0.78	-0.69	-0.61	0.64	0.85	-0.30	0.75	0.90	0.71	-0.31	0.82	0.24	-0.85	1.00	
Caroténoïdes	-0.74	0.81	0.22	0.81	0.69	-0.07	0.37	0.16	-0.60	0.02	0.17	0.15	0.47	0.53	-0.05	0.15	0.20	-0.10	-0.26	0.24	0.40	-0.07	0.19	0.51	0.27	0.35	0.65	0.72	0.33	0.25	-0.50	-0.82	0.57	-0.67	-0.85	-0.57	0.58	-0.75	0.03	0.94	-0.72	1.00

Les valeurs en gras sont différents de 0 avec un niveau de significativité de alpha = 0,05.

AA : acide aminé ; AA1 : acide aminé indispensable ; AANI : acide aminé non indispensable ; AGM1 : acide gras monoinsaturé ; AGPI : acide gras polyinsaturé ; AGI : acide gras insaturé ; AG : acide gras ;

Unité des variables : eau, lipides, protéines, cendres et acide gras (g/100g MH); α, β, γ and δ tocophérol (mg/100g MH); caroténoïdes (μg/100g MH); teneur acide aminé (mg/100g MH).





**Figure 21:** Représentation de certaines variables (composants nutritionnels majeurs et paramètres morphologiques) et les individus (lots de larves de *Rhynchophorus phoenicis*) sur le premier plan de l'analyse en composante principale.

### III.2.2. Discussion

Les paramètres morphométriques sont importants car ils peuvent donner des indications sur l'âge, le stade de développement des insectes et l'homogénéité de l'échantillonnage. La similarité des valeurs des paramètres morphométriques chez les larves jaunes sauvages et les blanches sauvages a indiqué que ces deux morphotypes de larves ont approximativement le même âge et au même stade de développement. Les données de la littérature, mettant en relation les paramètres morphologiques de *Rhynchophorus phoenicis* et leur stade de développement, sont assez hétérogènes. Lenga *et al.*, (2012) et Monzenga Lokela *et al.* (2017) ont estimés que 30 jours après production des œufs et développement, les larves de *Rhynchophorus phoenicis* sont à leur dernier stade de développement larvaire.

D'après les travaux de Lenga *et al.*, (2012), la longueur et la masse des insectes à ce stade est de 49,5 mm et 7,33 g. Omotoso & Adedire, (2007) ont quant' à eux trouvé une longueur de  $46,1 \pm 0,6$  mm et une masse de  $8,14 \pm 0,14$  g pour le dernier stade de développement larvaire; une longueur de  $25,4 \pm 0,4$  mm et une masse de  $2,59 \pm 0,14$  g pour les premiers stades de développement larvaire chez les larves de *R. phoenicis*. Dans notre étude, la longueur moyenne des larves de *R. phoenicis* variait de  $35,5 \pm 3,4$  à  $49,9 \pm 4,9$  mm et la masse moyenne de  $3,7 \pm 1,4$  g à  $7,2 \pm 2,2$  g. Ces résultats sont inférieurs à ceux précédemment cités et pourraient indiquer que les larves de *R. phoenicis* utilisées dans cette étude ne sont pas encore au stade final de leur développement larvaire. C'est le cas des larves blanches élevages qui ont une masse moyenne variant de  $3,7 \pm 1,4$  à  $5,0 \pm 1,1$  g et leur longueur moyenne variant de  $35,5 \pm 3,4$  à  $36,9 \pm 1,9$  mm. Les larves blanches élevages peuvent être à un stage intermédiaire de leur développement larvaire. Ceci est en accord avec le fait que les larves ont été collectées après 25 jours d'élevage. Contrairement, les larves jaunes sauvages et blanches sauvages qui ont été collectées après 30 jours après observation des œufs sur les différents palmiers raphia infestés, possèdent des paramètres morphologiques plus élevés. Toutefois, le taux de développement et la masse des larves de *R. phoenicis* à leur dernier stade de développement larvaire dépend fortement du substrat d'élevage ou de croissance. Monzenga Lokela *et al.* (2017) ont montré qu'à leur dernier stade de développement, la masse des larves de *R. phoenicis* élevées avec les fibres de palmiers était de  $3,40 \pm 0,68$  g (42 jours) ; la masse de celles élevées avec les fibres de canne à sucre était de  $5,39 \pm 0,49$  g (34 jours) ; et la masse de celles élevées sur les jeunes troncs de palmiers était de  $6,95 \pm 0,98$  g, (15 jours) (Monzenga Lokela *et al.*, 2017). Pour les larves blanches élevages, des différences significatives dans la valeur moyenne des masses de chaque lot indiquent que ces larves n'étaient pas dans leurs conditions optimales de croissance et que des efforts supplémentaires sont nécessaires pour maîtriser et améliorer leur environnement de croissance (qualité du substrat, température, humidité).

La valeur nutritive des différents groupes de larves de *R. phoenicis* a été analysée. La teneur totale en lipides variait de  $13,9 \pm 0,1$  à  $30,5 \pm 0,6$  g/100 g MH. La plus faible valeur en lipides totaux a été obtenue chez les larves blanches élevages ( $13,9 \pm 0,1$  à  $17,4 \pm 0,1$  g/100 g MH). Les larves blanches élevages peuvent être recommandées pour les personnes obèses à normales, tandis que les larves jaunes sauvages et blanches sauvages peuvent être recommandées pour les populations sous alimentées pour une supplémentation en énergie. Le nombre des acides gras identifiés chez les larves de *Rhynchophorus phoenicis* est de 16, dont

un minimum de 13 dans chaque lot. D'autres auteurs ont signalé des compositions différentes en acides gras chez les larves de *R. phoenicis* : 2 chez Ogbuagu *et al.* (2011); 4 chez Elemo *et al.* (2011); 6 chez Lenga *et al.* (2012); 7 chez Okaraonye & Ikewuchi. (2008); 9 chez Ekpo & Onigbinde. (2005) ; 10 chez Womeni *et al.* (2009) et 24 chez Adeyeye, (2017). Les larves blanches sont plus riches en AGPI que les larves jaunes. Par contre, les larves jaunes, du fait de leur teneur élevée en acide oléique, sont plus riche en AGI que les larves blanches. Le calcul de l'indice de peroxydabilité ( $IP = 0,025 \times \% \text{ AGI} + 1 \times \% \text{ C18:2} + 2 \times 18:3$ ) a indiqué que les lipides des larves jaunes sont probablement moins susceptibles à l'oxydation ( $IP = 4,8$ ) que les lipides des larves blanches sauvages ( $IP = 6,2$ ) et des larves blanches élevages ( $IP = 7,4$ ), et que celles de l'huile de colza, de tournesol et de thon (Viau *et al.*, 2016). Toutefois, comme elles contiennent moins de tocophérols et plus de caroténoïdes, des antioxydants agissant dans différentes voies, cet indice doit être testé dans différentes conditions. Les teneurs en tocophérols ( $2,2 \pm 0,2 \text{ mg}/100\text{g MH} - 4,8 \pm 1,1 \text{ mg}/100 \text{ g MH}$ ) des larves de *R. phoenicis* sont supérieures à celle de  $0,14 \text{ mg}/100 \text{ g MH}$  obtenue chez d'autres larves de *R. phoenicis* (Banjo *et al.*, 2013). La teneur moyenne en caroténoïdes des larves de *R. phoenicis* varie de  $391 \pm 178 \mu\text{g}/100 \text{ g MH} - 805 \pm 61 \mu\text{g}/100 \text{ g MH}$ . Le bêta-carotène est considéré comme provitamine A et environ  $12 \mu\text{g}$  de  $\beta$ -carotène sont convertis en  $1\mu\text{g}$  de vitamine A (équivalent rétinol) (ANSES, 2015). Ainsi, une consommation de 100 g de larves fraîches de *R. phoenicis* blanches sauvages et blanches élevages (14 – 20 larves) fournira respectivement  $23 \mu\text{g}$  et  $67 \mu\text{g}$  de vitamine A. Ces valeurs sont inférieures à la teneur en vitamine A ( $3150,3 \mu\text{g}/100 \text{ g MH}$ ) obtenue précédemment sur les larves de *R. phoenicis* (Banjo *et al.*, 2013). Étant donné que la dose moyenne nécessaire en vitamine A est de  $616 \mu\text{g}$  pour les hommes (adultes de 20 – 64 ans) et  $462 \mu\text{g}$  pour les femmes (adultes de 20 – 54 ans)(ANSES, 2015), 100g de larves de fraîches de *R. phoenicis* jaunes sauvages fourniront jusqu'à 14% des besoins journaliers.

Différents facteurs de conversion azote protéines ont été obtenus pour les larves blanches et les larves jaunes. Le facteur de conversion des larves blanches (6,08 – 6,19) est plus petit que celui des larves jaunes (7,42). Un facteur de conversion de  $4,76 \pm 0,09$ , inférieur à celui  $6,25$  habituellement utilisé, a récemment été déterminé chez trois insectes comestibles : *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, et *Hermetia illucens* (Janssen *et al.*, 2017). La mesure de l'azote effectuée dans cette étude a été faite selon la méthode de Dumas qui mesure l'azote organique et inorganique. Chez les insectes ayant un exosquelette, l'azote organique n'est pas uniquement présent dans les protéines, mais aussi dans les composants de

la cuticule tels que la chitine (Jonas-levi & Martinez, 2017). Chez les larves de *R. phoenicis*, la cuticule est uniquement présente sur la capsule céphalique. Elle représente ainsi une infime partie de la larve entière. Chez les larves blanches, une surestimation de la teneur en azote protéique de 0,4 g/100 g MS a été mesurée par comparaison de la teneur en azote total mesurée par Dumas (4,44 g/100 g MS chez les larves blanches sauvages et 4,37 g/100 g MS chez les larves blanches élevages) et la teneur en azote calculée à partir de la somme des résidus d'acides aminés (4,15 g/100 g MS pour les larves blanches sauvages et 4,0 g/100 g MS chez les larves blanches élevages). Chez les larves de *R. phoenicis* jaunes sauvages, le haut facteur de conversion azote protéines serait dû à la teneur élevée en résidus de tyrosine ( $947 \pm 86$  mg/100 g MH). Nous avons obtenu plus d'azote à partir de la somme des résidus d'acides aminés (3,65 g/100 g MS) que par la méthode de Dumas (3,28 g/100 g MS). La teneur en protéines des larves de *R. phoenicis* varie de  $7,7 \pm 0,1$  à  $9,7 \pm 0,4$  g/100g MH. Une consommation de 100 g de ces larves (14 – 20 larves) représentera 16,7 à 21,1 % de l'apport journalier recommandé chez une femme de 55 Kg devant consommer 46 g de protéines par jour (9062 mg/100 g MH) (FAO, 1970). Les protéines des larves de *R. phoenicis* sont d'une excellente qualité parce qu'elles contiennent tous les acides aminés indispensables en quantités élevées. Cependant, la somme des acides aminés indispensables des larves de *R. phoenicis* est inférieure à la teneur en acides aminés indispensables du poisson (8919 mg/100 g MH), du poulet (8906 mg/100 g MH), du bœuf (8280 mg/100 g MH) (FAO, 1970) et de la valeur de référence de l'OMS pour une femme de 55 Kg devant consommer 46 g de protéines par jour (9062 mg/100 g MH) (FAO, 1970).

La valeur énergétique (calculée à partir de la teneur en lipides et de la teneur en protéines) des larves de *R. phoenicis* varie de 802 kJ (192 kcal)/100 g MH à 1190 kJ (284 kcal)/100 g MH. Elle est plus importante chez les larves jaunes qui sont plus riches en lipides que chez les larves blanches moins riches en lipides. Ces résultats confirment le fait que les larves de *R. phoenicis*, spécialement les larves sauvages, sont riches en lipides et en énergie. Ils sont une source de protéines de bonne qualité. Elles peuvent ainsi être utilisées pour lutter contre la malnutrition et la carence en énergie des personnes souffrant de ces déficits.

L'analyse en composante principale a montré que la première et la seconde dimension du diagramme en double contenaient approximativement 67 % de la variabilité totale du système. La représentation en diagramme double des variables et des lots des différents morphotypes de larves de *R. phoenicis*, qui se sont développés sous différentes conditions de croissance, a permis de révéler des différences et des similarités entre elles (Figure 21). Les

trois lots (lot 1, 2 & 3) de larves jaunes sauvages sont regroupés dans le même espace, loin des autres lots de larves. De la même manière, les trois lots (lot 1, 2 & 3) des larves blanches sauvages sont aussi regroupés dans un autre espace dans le plan, avec le lot 2 des larves blanches élevages et séparés des lots larves jaunes sauvages suivant la dimension 2 du diagramme en double. Les deux autres lots des larves blanches élevages (lots 1 et 3) étaient très regroupés et séparés des autres lots de larves suivant la dimension 1 de l'ACP. La première dimension de l'ACP oppose les variables « paramètres morphométriques » (capsule céphalique, largeur, longueur et masse) et les variables « composants nutritionnels » telles que les acides gras totaux, les AGMI et l'acide oléique aux variables telles que les acides aminés totaux, les acides aminés non indispensables, l'acide linoléique, l'acide  $\alpha$ -linoléique et les AGPI (Figure 21). Cette dimension a également permis de distinguer les larves blanches élevages des larves blanches sauvages et jaunes sauvages. La seconde dimension de l'ACP oppose les variables telles que le ratio n-6/n-3, la teneur en protéines, la teneur en lipides et en énergie, la teneur en caroténoïdes, la teneur en méthionine, la teneur acides aminés totaux, la teneur en acides aminés indispensables et plusieurs autres acides aminés (Thréonine, lysine, phénylalanine, histidine) aux variables telles que la teneur en eau, la teneur en AGS, la teneur en acide palmitique et en acide stéarique, la teneur en tocophérols et plus faiblement, la teneur en AGPI, la teneur en acide linoléique et en acide  $\alpha$ -linoléique (Figure 21). Ces variables ont permis de distinguer les larves blanches sauvages, regroupés dans un même espace avec le lot 2 des larves blanches élevages, des larves jaunes sauvages. Ces observations sont cohérentes avec les résultats obtenues après l'analyse des variances et la comparaison des moyennes des données. En effet, le lot 2 des larves blanches élevages et les trois lots des larves blanches sauvages ont présenté des données de composition lipidiques proches (Tableau XXX et XXXIII).

Comme précédemment mentionnée, une partie des différences observées pourrait s'expliquer par l'âge des larves. En effet, les larves blanches sauvages sont plus âgées (30 jours d'âge) que les larves blanches élevages (25 jours d'âge). La teneur en lipides totaux et en acides gras totaux des larves blanches sauvages est plus élevée que celle des larves blanches élevages. Cela pourrait être due au fait que les larves blanches sauvages ont des paramètres morphologiques plus importants et sont plus âgés que les larves blanches élevages. Très souvent, les paramètres morphologiques et la composition nutritionnelle des insectes change avec leur stade de développement (Ghosh *et al.*, 2016; Lenga *et al.*, 2012; Omotoso & Adedire, 2007). Une autre raison serait que les conditions de croissance soient plus favorables

dans les systèmes sauvages que dans le système d'élevage. Des différences dans les conditions environnementales de croissance (température, alimentation) pourraient aussi participer aux différences observées. L'influence de ces paramètres sur le taux de croissance et la composition nutritionnelle des larves nécessite d'être évaluée.

Les résultats obtenus montrent aussi que la teneur en lipides, la composition en acides gras, la teneur en tocophérols et en caroténoïdes de *Rhynchophorus phoenicis* dépendent du morphotype des larves, et par conséquent du type de palmier raphia sur lequel elles se développent. En effet, les larves blanches sauvages et blanches élevées se sont développées sur *Raphia hookeri*, tandis que les larves jaunes sauvages se sont développées sur *Raphia monbuttorum*. Les différences observées pourraient être dues à la composition chimique des troncs de palmiers raphia dont se nourrissent les larves, ou alors à certains facteurs génétiques ou environnementaux. Il a précédemment été montré que le type de substrat sur lequel se développent les insectes influencent leur composition en acides gras (Cito *et al.*, 2017; Ebenebe *et al.*, 2017; Tzompa-Sosa *et al.*, 2014). Le fractionnement des lipides totaux des larves jaunes sauvages, et la caractérisation de leurs classes de lipides pourrait mettre en lumière d'autres différences dans la composition lipidique de ces deux morphotypes de larves.

A notre connaissance, cette étude est la première rapportant en plus de la composition proximale, la composition nutritionnelle (non complète) des larves de *Rhynchophorus phoenicis* issues d'un système d'élevage. Des similarités et différences ont été observées chez les trois lots de larves élevées. Les différences observées sur leurs masses, leurs teneurs en lipides totaux, leurs teneurs en protéines totales et leurs teneurs en énergie, pourraient s'expliquer par le fait que les conditions environnementales de croissance n'étaient pas parfaitement contrôlées. Toutefois, l'aptitude à l'élevage de ces insectes est un bon indicateur pour leur potentiel industriel dans le commerce et la production des produits dérivés.

#### III.2.3. Conclusion partielle

Cette étude a analysé l'influence des conditions de croissance et du morphotype de larves de *Rhynchophorus phoenicis* sur leurs paramètres morphométriques et certains de leurs composants nutritionnels (lipides, protéines, acides aminés, acides gras, tocophérols, caroténoïdes). Les paramètres morphométriques sont peu corrélés avec les composants nutritionnels. Seule la teneur en lipides totaux des larves était positivement corrélée avec sa longueur. Les larves blanches et les larves jaunes présentent de nombreuses différences. Au même stade de développement, les larves jaunes sauvages sont plus longues, plus riches en

lipides et en caroténoïdes que les larves blanches sauvages, mais plus pauvres en tocophérols que les larves blanches. La couleur jaune des larves jaunes sauvages est expliquée par sa teneur en caroténoïdes qui est beaucoup plus élevée que chez les larves blanches. Les conditions d'élevages et l'âge des larves blanches influencent très légèrement leurs paramètres morphologiques et leurs compositions nutritionnelles qui peuvent ainsi être améliorés à travers un meilleur contrôle des conditions d'élevages (qualité du substrat, température, humidité) des larves. Ces informations sur l'âge, le type de palmier raphia sur lequel se développent les larves et leur couleur sont une explication possible de la variabilité observée sur la composition nutritionnelle des larves de *R. phoenicis* tel que retrouvé dans la littérature. Il est important de rappeler que les données obtenues sur la valeur nutritive des larves de *R. phoenicis*, directement exploitable pour les bases de données alimentaires, montre que ces larves sont une haute source d'énergie, sont très riches en lipides et que leurs teneurs en lipides dépendent des conditions de croissance et du morphotype de la larve. Ces larves sont moins abondants en protéines et en acides aminés, car ayant des teneurs inférieures à celles de la plupart des sources animales. Toutefois, elles possèdent des acides aminés de qualité en raison du taux en acides aminés indispensables plus important que celui de la protéine de référence (269 mg/g protéine). De manière générale, en dehors des protéines et des acides aminés, les teneurs en éléments nutritifs des larves de *R. phoenicis* dépendent du morphotype de larves et de leurs conditions de croissance.

### III.3. APTITUDE AU STOCKAGE ET À LA CONSERVATION DES INSECTES

Les insectes frais comme observé précédemment, présentent de fortes teneurs en eau (autour de 70 g/100 g MH). Cette forte teneur en eau est un facteur très favorable au développement des microorganismes et aux activités enzymatiques divers (catabolismes post mortem). Pour limiter ou empêcher ces différents mécanismes d'altération, des procédés permettant de les ralentir ou de les arrêter doivent être utilisés. L'une des techniques permettant de réduire ces activités d'altérations est la congélation. Cette technique n'empêche pas comme nous l'avons remarqué chez certains insectes (comme les *Imbrasia*) l'hydrolyse des triglycérides en acides gras libres. C'est également aussi une technique nécessitant beaucoup d'énergie, et présentant un risque de rupture de la chaîne de froid pour les populations locales aux niveaux économiques et énergétiques faibles. Une alternative est

d'utiliser des techniques de déshydratation. Des techniques telles que le séchage au soleil et le fumage sont très utilisées par les populations locales au Cameroun pour conserver les insectes et les rendre disponibles toute l'année. Ces techniques nécessitent un faible apport en énergie et par conséquent s'effectuent à faible coût. Elles sont cependant pratiquées sans véritable contrôle des paramètres tels que la température, la teneur en eau, l'activité de l'eau. Les résultats présentés ici sont d'une contribution essentielle pour connaître les conditions optimales de séchage et de conservation des insectes étudiés.

### III.3.1. Résultats

#### III.3.1.1. Teneur en eau, lipides et protéines des farines d'insectes

Le tableau XXXVI présente la teneur en eau, lipides et protéines des farines d'insectes obtenue après lyophilisation et broyage des insectes frais.

**Tableau XXXVI:** Teneur en eau, lipides et protéines des farines d'insectes lyophilisées (g/100 g MS) (n=3)

Insectes	Teneur en eau Lipides Protéines		
	g/100 g farine		
<i>Rhynchophorus phoenicis</i>	2,4 ± 0,2 A	63,6 ± 9,0 A	27,1 ± 2,6 B
<i>Imbrasia truncata</i>	2,1 ± 0,3 A	22,1 ± 2,0 B	64,1 ± 2,2 A
<i>Imbrasia epimethea</i>	2,6 ± 0,3 A	22,2 ± 0,8 B	66,6 ± 1,6 A

Les valeurs moyennes de teneur en élément nutritifs à l'intérieur d'une colonne, associées à différentes lettres majuscules sont significativement différentes.

La teneur en eau est inférieure à 3 g/100 g de farine, quelque soit la farine d'insecte. Les farines de *Rhynchophorus phoenicis* sont composées à plus de 60 g/100 g de lipides, tandis que celles de *Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea* sont composées à plus de 60 g/100 g de protéines.

#### III.3.1.2. Activité de l'eau des farines d'insectes

La stabilité physique, chimique et microbiologique des aliments dépend fortement de leur teneur en eau et des interactions des molécules d'eau avec les différents constituants alimentaires. Les résultats de mesure de l'activité de l'eau des farines d'insectes sont rapportés dans le tableau XXXVII.



**Tableau XXXVII:** Activité de l'eau des farines d'insectes (n = 3)

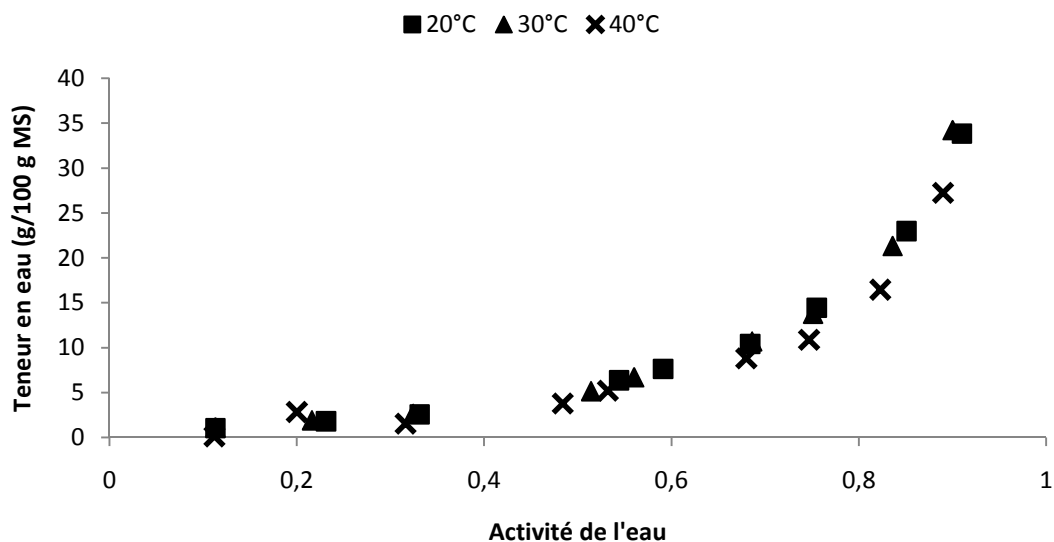
	20 °C	30 °C	40 °C
<i>Rhynchophorus phoenicis</i>	0,263	0,295	0,265
<i>Imbrasia truncata</i>	0,159	0,168	0,176
<i>Imbrasia epimethea</i>	0,245	0,232	0,246

L'activité de l'eau des farines d'insectes varie très peu entre 20 et 40°C. Celle des larves de *Rhynchophorus phoenicis* et des chenilles d'*Imbrasia epimethea* est comprise entre 0,2 et 0,3. Les farines de ces deux insectes peuvent être considérées comme stables sur le plan microbiologique, chimique et enzymatique. L'activité de l'eau des farines des chenilles d'*Imbrasia truncata* est comprise entre 0,1 et 0,2. Ces farines présentent un risque d'oxydation des lipides.

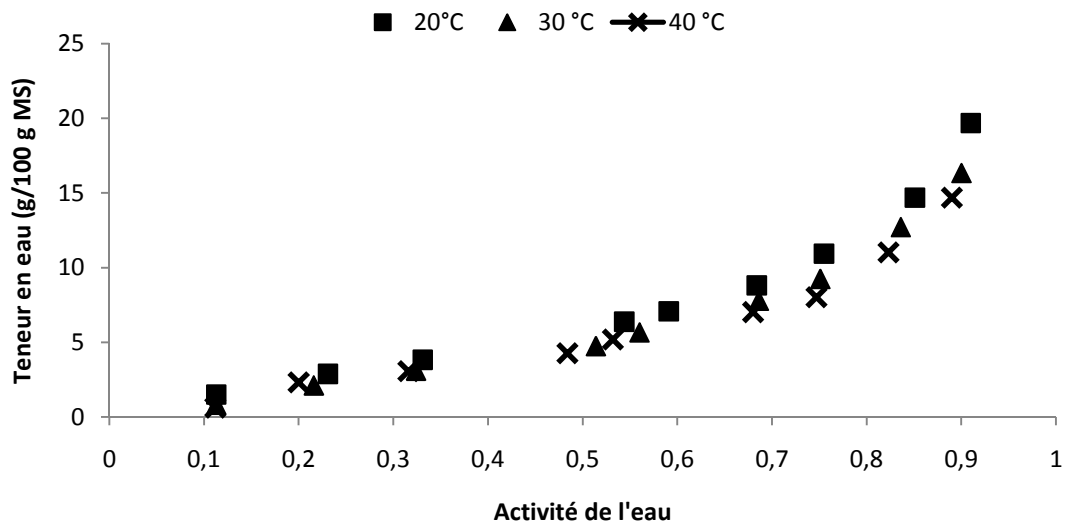
### III.3.1.3. Isothermes d'adsorption des farines d'insectes

#### III.3.1.3.1. Courbes d'adsorption des farines d'insectes

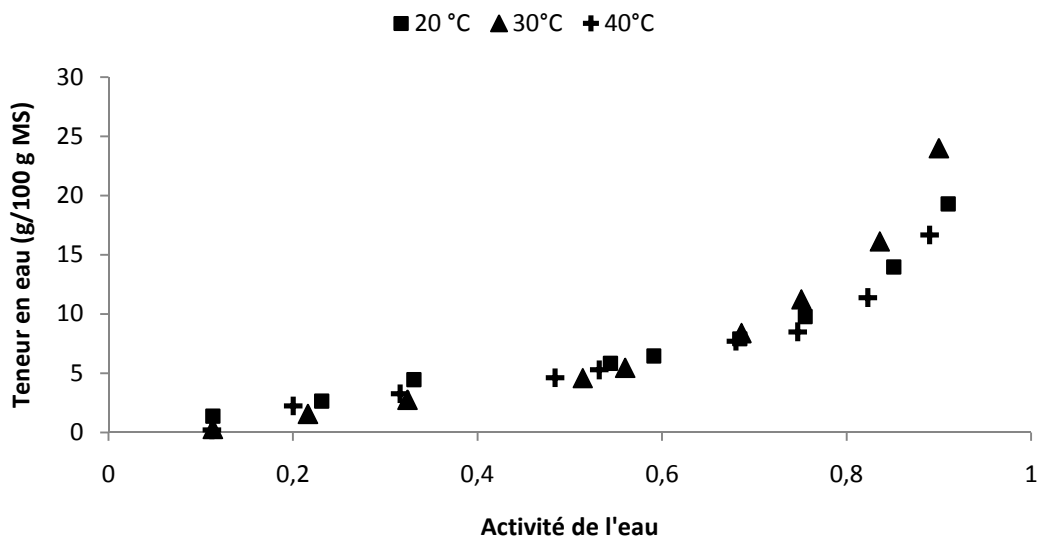
Les figures 22 - 24 présentent les isothermes d'adsorption à 20, 30 et 40 °C des différentes farines d'insectes. Ces courbes ont été obtenues en déterminant la teneur en eau à l'équilibre des farines d'insectes pour différentes activités de l'eau et à différentes températures. Les données sont présentées en Annexe 9 (Tableau 7).



**Figure 22:** Isothermes d'adsorption de la poudre de *Rhynchophorus phoenicis* aux températures de 20, 30 et 40 °C (n=5)



**Figure 23:** Isothermes d'adsorption de la poudre d'*Imbrasia truncata* aux températures de 20, 30 et 40 °C (n=5)



**Figure 24:** Isotherme d'adsorption de la poudre d'*Imbrasia epimethea* aux températures de 20, 30 et 40 °C (n=5)

Ces figures montrent que pour une température donnée, l'activité de l'eau augmente avec la teneur en eau à l'équilibre. A une activité de l'eau donnée, la teneur en eau diminue avec l'augmentation de la température. Ces courbes donnent une indication sur la teneur en eau à ne pas dépasser dans les farines d'insectes pour éviter la croissance bactérienne et /ou autres altérations.

### III.3.1.3.2. Teneur en eau de stabilité microbiologique, chimique et enzymatique des poudres d'insectes

Pour chaque insecte et à chaque température (20, 30 et 40°C), la teneur en eau de stabilité microbiologique, chimique et enzymatique est donnée dans le tableau XXXVIII. La teneur en eau de stabilité microbiologique est celle correspondant à une activité de l'eau inférieure à 0,6 ; tandis que la teneur en eau de stabilité chimique et enzymatique correspondant à une activité de l'eau comprise entre 0,2 et 0,3.

**Tableau XXXVIII:** Teneur en eau permettant la stabilité microbiologique, chimique et enzymatique des farines d'insectes à 20, 30 et 40 °C

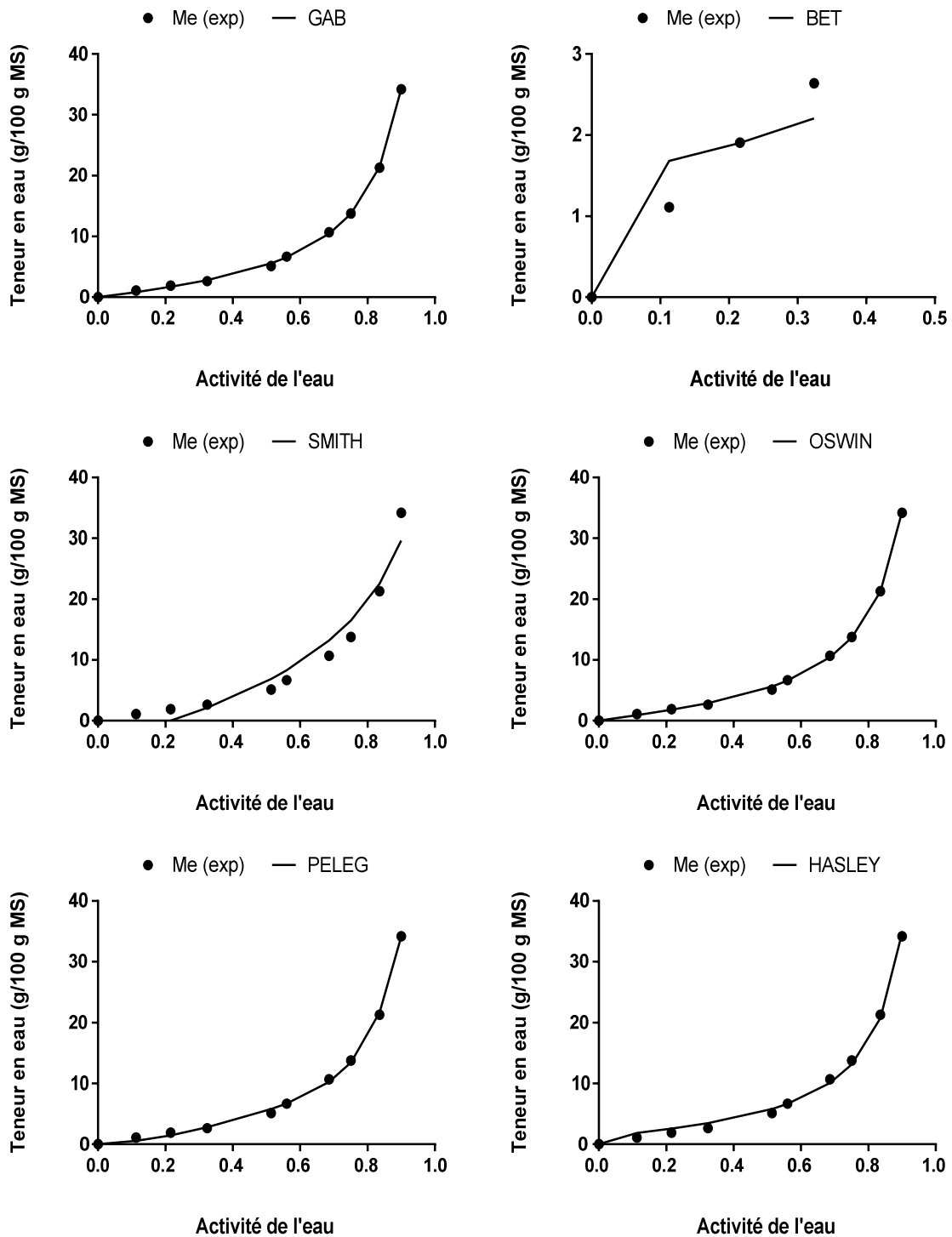
Farines d'insectes	Température (°C)	Teneur en eau	Teneur en eau
		(g/100g MS) pour $0,2 \leq a_w \leq 0,3$	(g/100g MS) pour $a_w = 0,6$
<i>Rhynchophorus phoenicis</i>	20	1,6 – 2,6	7,9
	30	1,6 – 2,6	7,5
	40	1,0 – 1,7	5,8
<i>Imbrasia truncata</i>	20	2,9 – 3,8	7,3
	30	1,9 – 2,8	6,1
	40	1,3 – 2,2	5,6
<i>Imbrasia epimethea</i>	20	2,3 – 3,4	6,7
	30	1,4 – 2,3	6,4
	40	2,0 – 3,0	6,1

Les farines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* (teneur en eau : 2,4 g/100 g MS) peuvent être conservées idéalement entre 20 et 30°C ; celles des chenilles d'*Imbrasia truncata* (2,1 g/100 g MS) peuvent être idéalement conservées entre 20 et 30°C et celles d'*Imbrasia epimethea* (2,6 g/100 g MS) peuvent être idéalement conservées entre 20 et 30°C. La teneur en eau de stabilité microbiologique des farines des insectes baisse avec l'augmentation de la température. Pour avoir une limitation du développement microbien ( $a_w < 0,6$ ), les farines de *R. phoenicis*, *I. truncata* et *I. epimethea* doivent avoir des teneurs en eau respectivement inférieures à 5,8 g/100 g MS, 5,6 g/100 g MS et 6,1 g/100 g MS pour être conservées à 40 °C.

### III.3.1.3.3. Ajustement aux modèles des isothermes d'adsorption des farines d'insectes

Afin d'interpréter les courbes d'adsorption obtenues, les isothermes d'adsorptions des farines d'insectes ont été ajustés à six modèles décrits dans la littérature. Les modélisations des isothermes d'adsorption des farines des différents insectes (*Rhynchophorus phoenicis*,

*Imbrasia truncata* et *I. epimethea*) pour une température de 30 °C sont présentées dans les figures 25 - 29. Celles obtenus aux autres températures (20 et 40 °C) sont présentées en Annexe 10 (Figure e – Figure j). Sur chaque courbe, les marqueurs représentent les points expérimentaux et la ligne représente le modèle ajusté.



**Figure 25:** Isotherme d'adsorption de la farine des larves d'*Rhynchophorus phoenicis* ajusté aux modèles de GAB, BET, SMITH, OSWIN, PELEG et HASLEY (T= 30 °C)

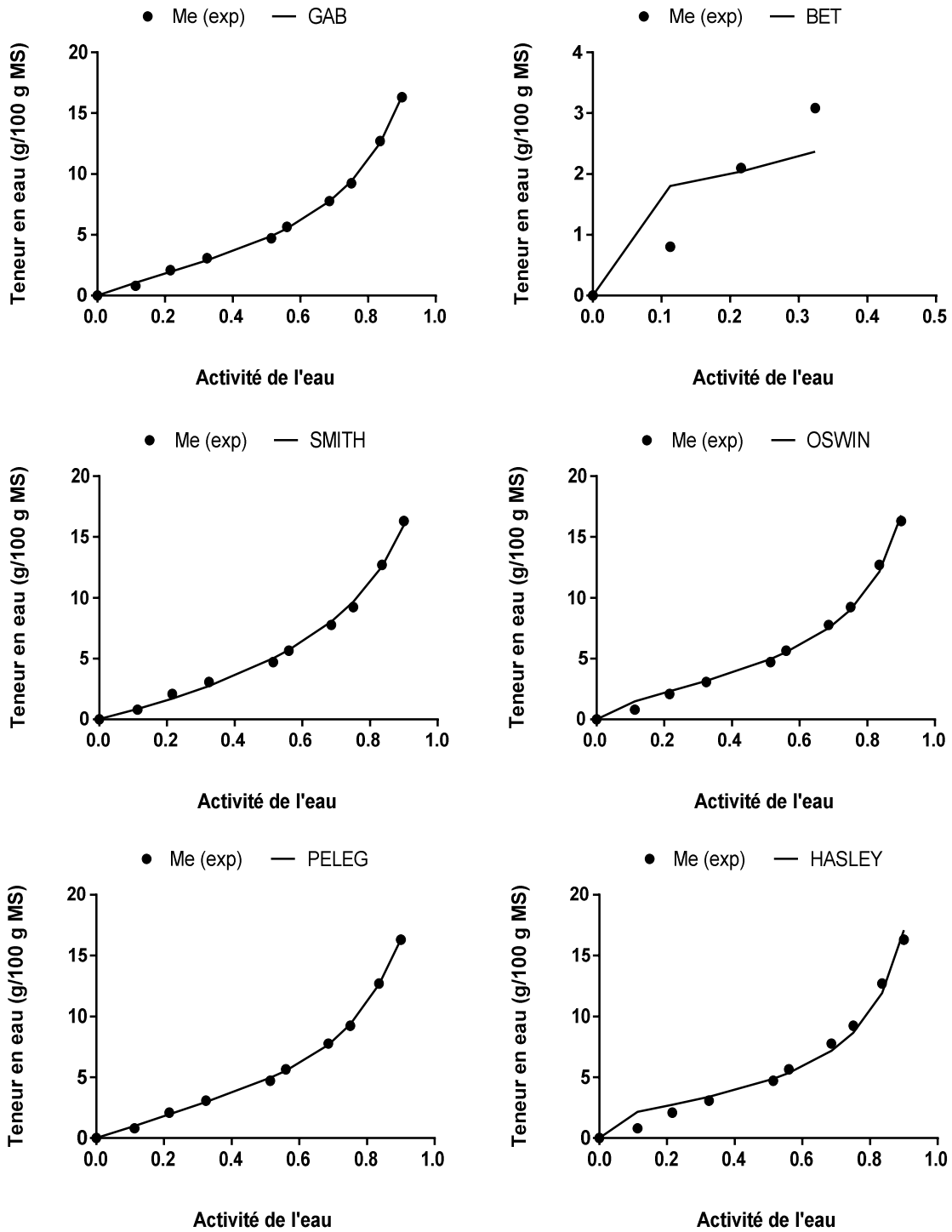
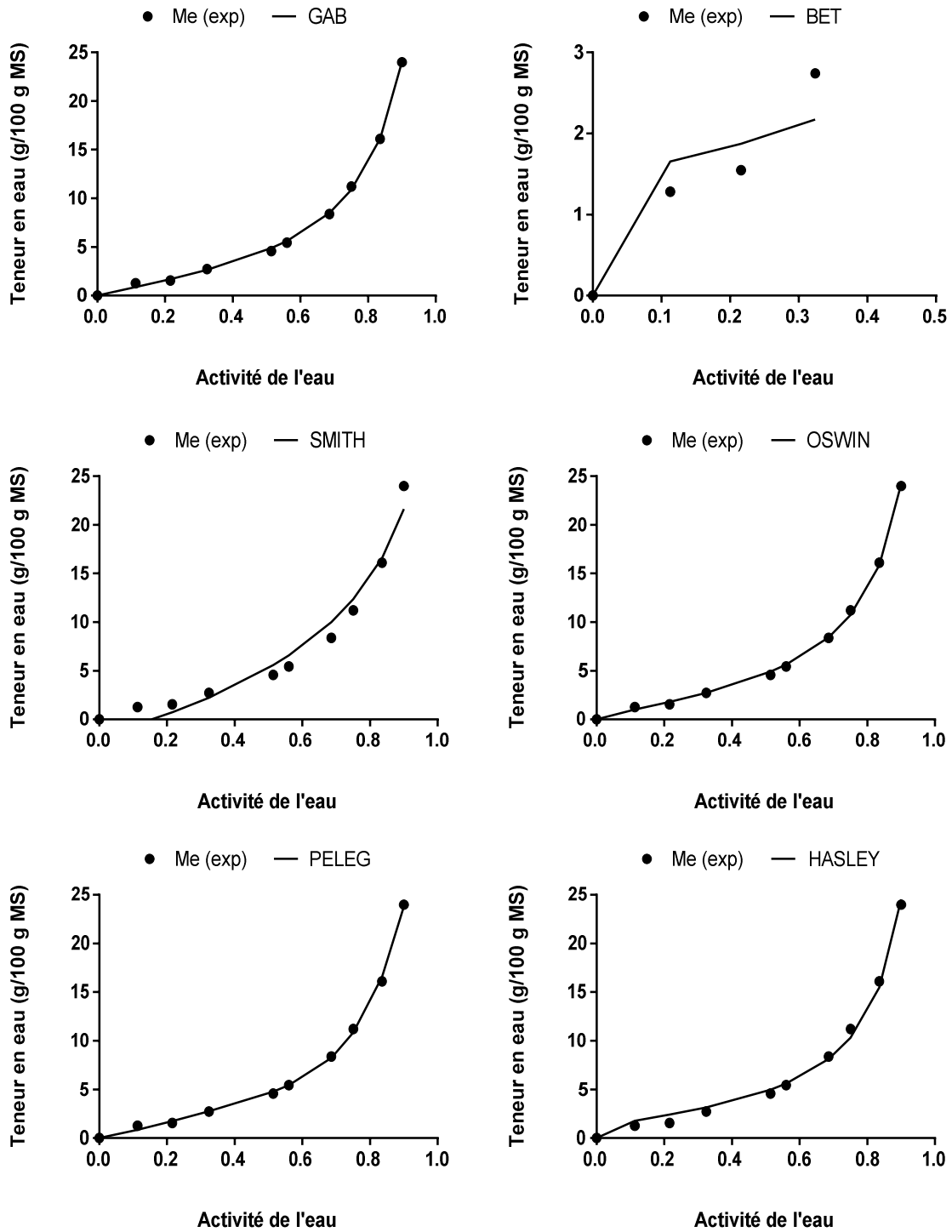


Figure 26 : Isotherme d'adsorption de la farine des chenilles d'*Imbrasia truncata* ajusté aux modèles de GAB, BET, SMITH, OSWIN, PELEG et HASLEY (T= 30°C)



**Figure 27:** Isotherme d’adsorption de la farine des larves d’*Imbrasia epimethea* ajusté aux modèles de GAB, BET, SMITH, OSWIN, PELEG et HASLEY (T= 30 °C)

Les courbes des isothermes d’adsorption des modèles ajustés présentent pour la plupart, une allure sigmoïde.

Les tableaux XXXIX - XLI présentent pour les températures de 20, 30 et 40°C, les valeurs des paramètres et des coefficients statistiques des isothermes d'adsorption des farines des différents insectes ajustés aux différents modèles.

**Tableau XXXIX:** Valeurs des paramètres et des coefficients statistiques des isothermes d'adsorption des farines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* ajustés aux modèles

Modèles	Paramètres	Température		
		20°C	30°C	40°C
GAB	Mo (g/100 g MS)	5,6	4,5	3,3
	C	1,2	1,6	2,2
	K	0,9	1,0	1,0
	MRE (%)	4,5	5,5	8,8
	R <sup>2</sup>	0,9997	0,9995	0,9988
	ES	0,19	0,25	0,32
BET	Mo (g/100 g MS)	1,4	1,5	1,4
	C	389314,4	389314,4	389314,4
	MRE (%)	17,9	16,9	23,0
	R <sup>2</sup>	0,9985	0,9868	0,8561
	ES	0,04	0,12	0,39
SMITH	C <sub>1</sub>	-3,3	-3,5	-2,4
	C <sub>2</sub>	-32,3	-33,2	-26,6
	MRE (%)	43,8	49,8	44,0
	R <sup>2</sup>	0,9638	0,9437	0,9333
	ES	2,23	2,77	2,37
OSWIN	C	5,8	5,4	4,7
	n	0,8	0,8	0,7
	MRE (%)	9,1	4,4	9,1
	R <sup>2</sup>	0,9978	0,9995	0,9929
	ES	0,55	0,26	0,77
PELEG	C <sub>1</sub>	46,7	60,7	34,1
	C <sub>2</sub>	16,7	16,2	9,5
	C <sup>3</sup>	9,3	10,4	7,6
	C <sup>4</sup>	1,6	1,6	1,1
	MRE (%)	8,0	10,1	9,3
	R <sup>2</sup>	0,9993	0,9986	0,9905
	ES	0,30	0,44	0,89
HASLEY	C	2,3	1,8	1,4
	n	1,1	1,0	1,0
	MRE (%)	25,7	16,1	9,6
	R <sup>2</sup>	0,9920	0,9970	0,9982
	ES	1,05	0,64	0,39

Mo= teneur en eau de la couche monomoléculaire (g/100 g MS); K, C, n, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> et C<sub>4</sub> sont des constantes; R<sup>2</sup> = coefficient de détermination, MRE= l'écart relatif moyen en pourcentage ; ES = erreur standard.

**Tableau XL:** Valeurs des paramètres et des coefficients statistiques des isothermes d'adsorption des farines des chenilles d'*Imbrasia truncata* ajustés aux modèles

Modèles	Paramètres	Température		
		20°C	30°C	40°C
<b>GAB</b>	Mo (g/100 g MS)	3,8	3,7	3,5
	C	5,6	3,2	2,6
	K	0,9	0,9	0,9
	MRE (%)	1,8	5,5	9,7
	R <sup>2</sup>	0,9992	0,9990	0,9951
	ES	0,18	0,18	0,35
<b>BET</b>	Mo (g/100 g MS)	2,1	1,6	1,1
	C	389314,4	389314,4	389314,4
	MRE (%)	20,2	37,5	37,6
	R <sup>2</sup>	0,9807	0,9722	0,9966
	ES	0,23	0,27	0,07
	<b>SMITH</b>	C <sub>1</sub>	0,5	0,0
C <sub>2</sub>		-17,7	-16,0	-15,1
MRE (%)		4,9	5,6	4,7
R <sup>2</sup>		0,9951	0,9964	0,9940
ES		0,44	0,33	0,39
<b>OSWIN</b>		C	5,8	4,8
	n	0,5	0,6	0,6
	MRE (%)	4,5	12,0	19,6
	R <sup>2</sup>	0,9986	0,9947	0,9917
	ES	0,23	0,40	0,46
	<b>PELEG</b>	C <sub>1</sub>	20,2	16,0
C <sub>2</sub>		11,4	9,5	11,5
C <sub>3</sub>		8,4	6,8	11,6
C <sub>4</sub>		1,0	1,0	1,4
MRE (%)		2,1	4,5	3,4
R <sup>2</sup>		0,9991	0,9992	0,9984
ES		0,19	0,15	0,20
<b>HASLEY</b>		C	4,7	3,0
	n	1,6	1,5	1,4
	MRE (%)	14,3	24,6	34,5
	R <sup>2</sup>	0,9883	0,9809	0,9766
	ES	0,68	0,76	0,77

Mo= teneur en eau de la couche monomoléculaire (g/100 g MS); K, C, n, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> et C<sub>4</sub> sont des constantes; R<sup>2</sup> = coefficient de détermination, MRE= l'écart relatif moyen en pourcentage ; ES = erreur standard.



**Tableau XLI:** Valeurs des paramètres et des coefficients statistiques des isothermes d'adsorption des farines des chenilles d'*Imbrasia epimethea* ajustés aux modèles

Modèles	Paramètres	Température		
		20°C	30°C	40°C
<b>GAB</b>	Mo (g/100 g MS)	3,2	3,6	2,8
	C	9,0	2,3	8,1
	K	0,9	1,0	0,9
	MRE (%)	6,7	5,9	5,7
	R <sup>2</sup>	0,9960	0,9990	0,9957
	ES	0,39	0,25	0,35
<b>BET</b>	Mo (g/100 g MS)	2,2	1,5	1,8
	C	389314,4	389314,4	389314,4
	MRE (%)	29,8	17,8	21,6
	R <sup>2</sup>	0,9958	0,9336	0,9785
	ES	0,14	0,28	0,21
<b>Smith</b>	C <sub>1</sub>	0,4	-1,7	0,2
	C <sub>2</sub>	-16,9	-23,3	-15,7
	MRE (%)	9,1	29,6	8,4
	R <sup>2</sup>	0,9802	0,9647	0,9786
	ES	0,85	1,53	0,77
<b>Oswin</b>	C	5,3	4,7	4,7
	n	0,6	0,7	0,6
	MRE (%)	5,3	5,7	4,8
	R <sup>2</sup>	0,9964	0,9986	0,9962
	ES	0,37	0,31	0,32
<b>Peleg</b>	C <sub>1</sub>	24,3	34,1	28,6
	C <sub>2</sub>	10,0	9,5	10,0
	C <sup>3</sup>	9,4	7,6	11,3
	C <sup>4</sup>	0,9	1,1	1,0
	MRE (%)	4,2	6,1	2,9
	R <sup>2</sup>	0,9981	0,9985	0,9981
	ES	0,26	0,31	0,23
<b>Hasley</b>	C	3,7	1,8	2,6
	n	1,5	1,2	1,4
	MRE (%)	12,6	13,9	10,2
	R <sup>2</sup>	0,9923	0,9945	0,9935
	ES	0,53	0,60	0,42

Mo= teneur en eau de la couche monomoléculaire (g/100 g MS); K, C, n, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> et C<sub>4</sub> sont des constantes; R<sup>2</sup> = coefficient de détermination, MRE= l'écart relatif moyen en pourcentage ; ES = erreur standard.

Les tableaux XXXIX - XLI montrent qu'il est difficile qu'un même modèle puisse traduire plus efficacement les isothermes d'adsorption des farines d'insectes. D'une manière générale, seul le modèle de GAB peut être utilisé pour modéliser les isothermes d'adsorptions de toutes les farines d'insectes aux températures de 20, 30 et 40°C. En effet, toutes les courbes du modèle de GAB possèdent un coefficient de détermination proche de 1 et des

valeurs de l'EMR < 10. L'adéquation des autres modèles dépend de la température et de la farine d'insecte.

#### III.3.1.3.4. Teneur en eau de la couche monomoléculaire des farines d'insectes d'après le modèle de GAB

Des différents modèles mathématiques utilisés pour corréliser la teneur en eau des farines d'insectes en équilibre avec l'activité de l'eau du milieu, ceux de BET et de GAB sont très largement utilisés dans la littérature. De ces deux modèles, l'équation de GAB est le modèle le plus largement utilisé par les chercheurs. Il est applicable pour des activités de l'eau comprises entre 0,05 et 0,95. Ce modèle permet de calculer la teneur en eau de la couche monomoléculaire ( $M_0$ ). Le tableau XLII suivant donne les valeurs de teneur en eau de la couche monomoléculaire des farines d'insectes aux températures étudiées.

**Tableau XLII:** Teneurs en eau de la couche monomoléculaire (g/100 g MS) des farines insectes aux températures de 20 à 40 °C.

Farine d'insecte	T (°C)	$M_0$
<i>Rhynchophorus phoenicis</i>	20 °C	5,6
	30 °C	4,5
	40 °C	3,3
<i>Imbrasia Truncata</i>	20 °C	3,8
	30 °C	3,7
	40 °C	3,5
<i>Imbrasia epimethea</i>	20 °C	3,2
	30 °C	3,6
	40 °C	2,8

Le tableau XLII montre que la valeur de la teneur en eau de la couche monomoléculaire diffère selon la farine d'insecte utilisée et la température d'étude. Chez *Rhynchophorus phoenicis* et *Imbrasia truncata*, la teneur en eau de la couche monomoléculaire décroît avec l'augmentation de la température. Elle varie de 5,6 g/100 g MS (20°C) à 3,3 g/100 g MS (40°C) chez les larves de *R. phoenicis* ; et de 3,8 g/100 g MS à 3,5 g/100 g MS chez les chenilles d'*I. truncata*. Chez les chenilles d'*I. epimethea*, la teneur en eau de la couche monomoléculaire augmente entre 20 et 30°C, puis baisse entre 30 et 40°C.

#### III.3.1.3.5. Chaleur isostérique nette d'adsorption.

Les figures 28 -30 représentent les isostères d'adsorption des différentes farines d'insectes ( $\ln(a_w) = f(1/T)$ ). Les données sont présentées en Annexe 11 (Tableau 8).

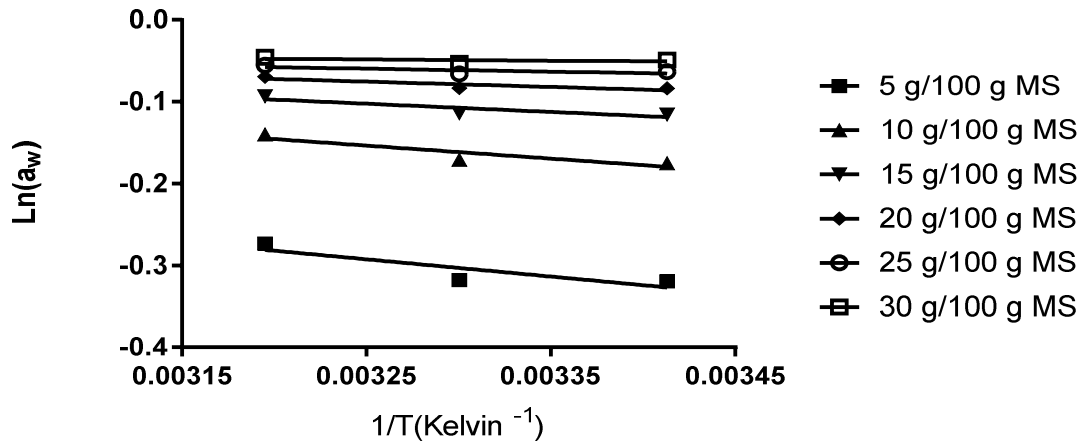


Figure 28: Isostères d'adsorption de la farine des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Teneur en eau	5 g/100 g MS	10 g/100 g MS	15 g/100 g MS
Équation	$Y = -210,5 * X + 0,3916$	$Y = -159 * X + 0,3629$	$Y = -100,4 * X + 0,2237$
Teneur en eau	20 g/100 g MS	25 g/100 g MS	30 g/100 g MS
Équation	$Y = -65,11 * X + 0,136$	$Y = -36,1 * X + 0,05756$	$Y = -14,98 * X + 0,0001492$

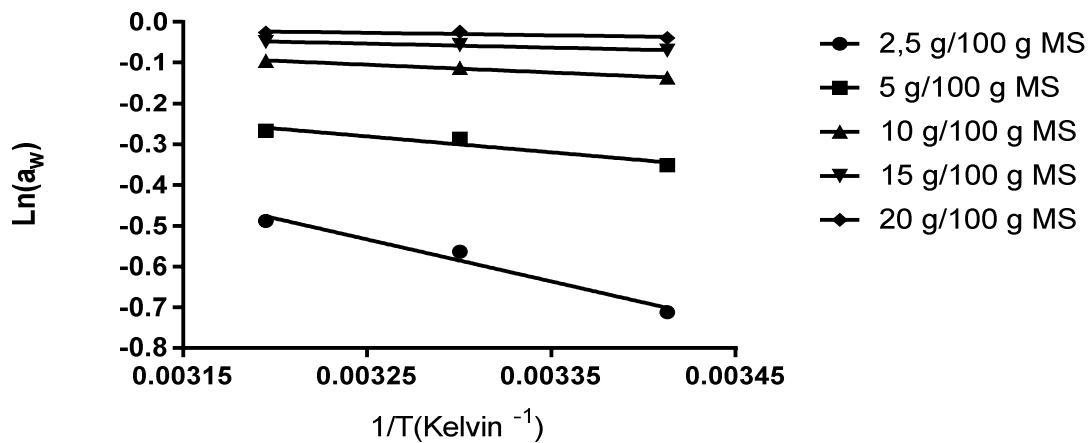
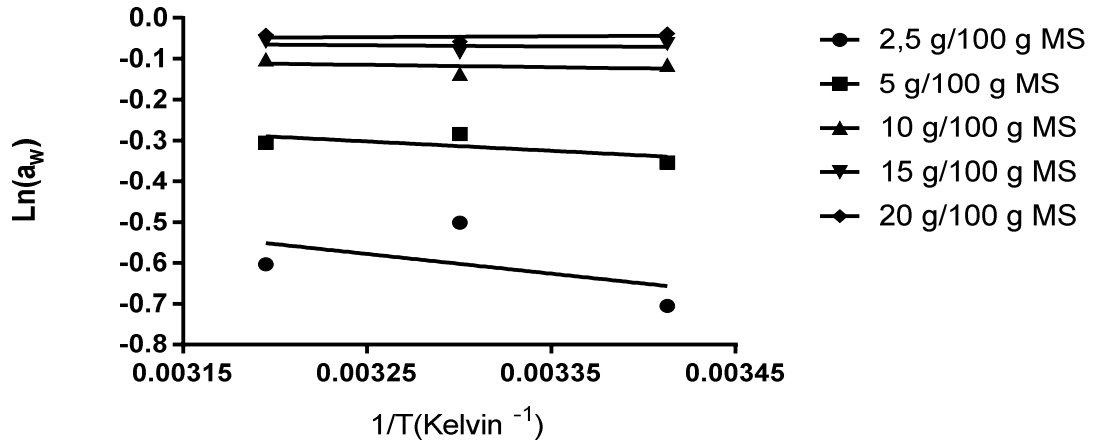


Figure 29: Isostères d'adsorption de la farine des chenilles d'*Imbrasia truncata*

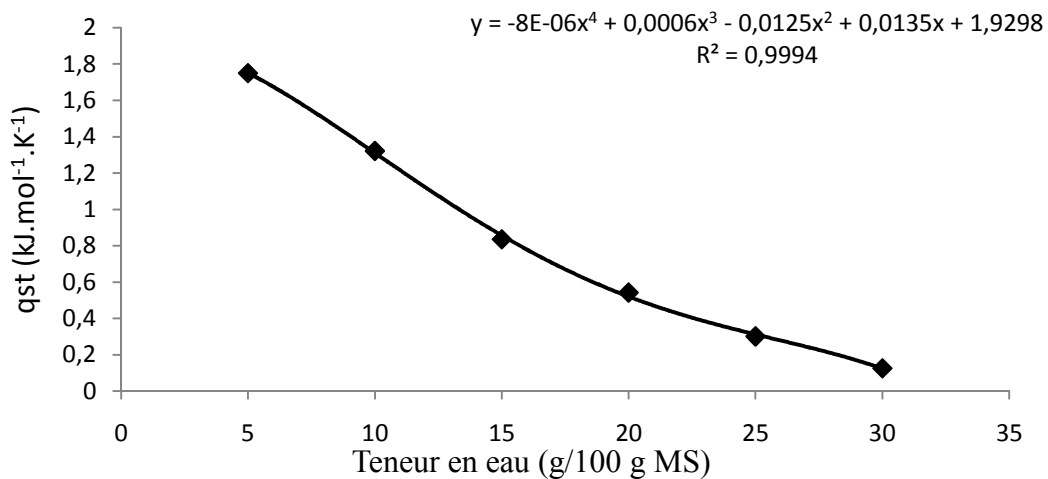
Teneur en eau	2,5 g/100 g MS	5 g/100 g MS	10 g/100 g MS
Équation	$Y = -1031 * X + 2,816$	$Y = -390,1 * X + 0,9868$	$Y = -191,8 * X + 0,5182$
Teneur en eau	15 g/100 g MS	20 g/100 g MS	
Équation	$Y = -98,62 * X + 0,2671$	$Y = -60,6 * X + 0,1701$	



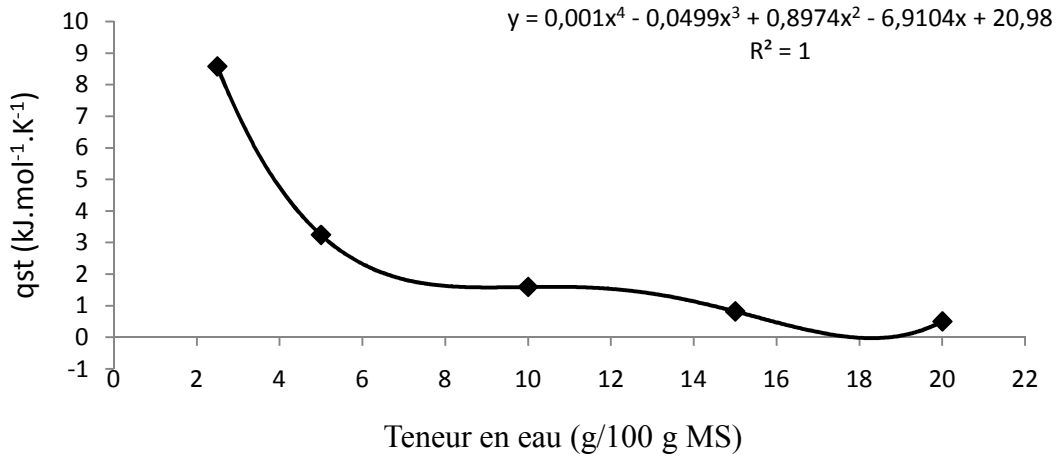
**Figure 30:** Isostères d'adsorption de la farine des chenilles d'*Imbrasia epimethea*

Teneur en eau	<b>2,5 g/100 g MS</b>	<b>5 g/100 g MS</b>	<b>10 g/100 g MS</b>
Équation	$Y = -482,8 * X + 0,9907$	$Y = -229,3 * X + 0,4425$	$Y = -57,93 * X + 0,07317$
Teneur en eau	<b>15 g/100 g MS</b>	<b>20 g/100 g MS</b>	
Équation	$Y = -25,03 * X + 0,01413$	$Y = 17,16 * X - 0,1027$	

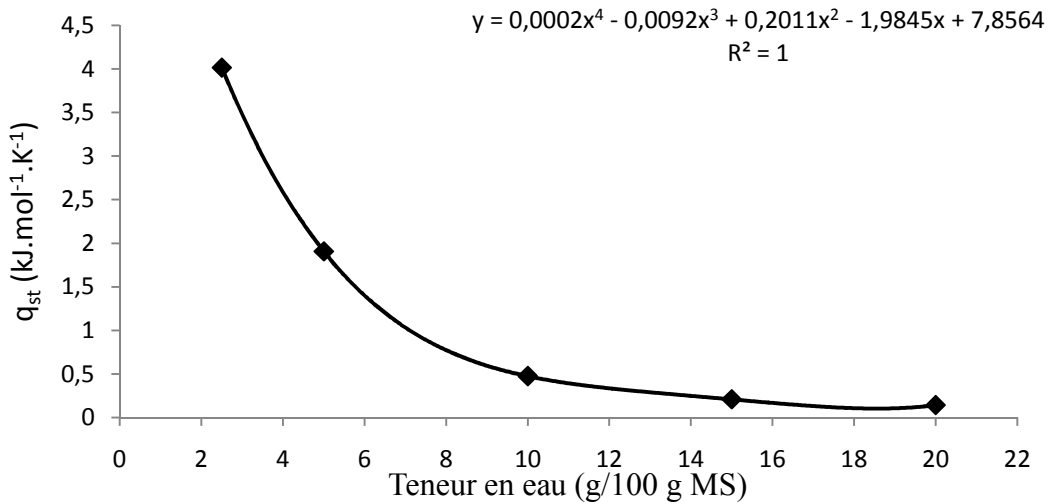
Les valeurs des pentes des équations obtenues représentent  $-q_{st}/R$ . En utilisant la valeur pente des isostères d'adsorption et pour chaque teneur en eau, nous avons déduit la chaleur isostérique nette correspondante. Les figures 31-33 représentent les variations des chaleurs isostériques nettes d'adsorption de l'eau des farines d'insectes en fonction de la teneur en eau. Les valeurs de  $q_{st}$  sont données annexe 11 (Tableau 9).



**Figure 31:** Chaleur isostérique nette d'adsorption des farines des insectes *Rhynchophorus phoenicis* en fonction de la teneur en eau



**Figure 32:** Chaleur isostérique nette d'adsorption des farines des chenilles *Imbrasia truncata* en fonction de la teneur en eau



**Figure 33:** Chaleur isostérique nette d'adsorption des farines des chenilles d'*Imbrasia epimethea* en fonction de la teneur en eau à l'équilibre

La chaleur nette d'adsorption des farines d'insectes est d'autant importante aux faibles teneurs en eau. A teneur en eau constante, elle est plus élevée pour les farines d'*Imbrasia truncata* avec une valeur pouvant atteindre  $22,76 \text{ kJ.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ ; tandis que les valeurs maximales pouvant être obtenues chez les farines des larves de *R. phoenicis* et des chenilles d'*I. epimethea* sont respectivement de  $1,93 \text{ kJ.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$  et  $4,85 \text{ kJ.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ . Les relations entre l'activité de la chaleur isostérique nette de sorption et la teneur en eau des différentes farines d'insectes sont des équations polynomiales de degré 4, possédant des valeurs de  $R^2$  proche de 1.

### III.3.2. Discussion

Les farines d'insectes lyophilisées utilisées pour l'étude de l'aptitude au stockage et à la conservation ont présenté des teneurs en eau inférieures à 3g/100 g de farine lyophilisée. Ces teneurs en eau sont inférieures à celles des farines de criquets séchés (*Acheta domesticus* ;  $4,52 \pm 0,16$  g/100 g MH) et des farines de larves de la mouche soldat noir (*Hermetia illucens* ;  $6,41 \pm 0,73$  g/100 g MH) (Kamau *et al.*, 2018). Il faut dire que la déshydratation d'un produit alimentaire présente de nombreux avantages. En effet, elle assure une bonne stabilité par abaissement de l'activité de l'eau et réduction des coûts de transports et de stockage (Jeantet *et al.*, 2006). La déshydratation par lyophilisation permet de conserver les qualités organoleptiques des produits traités. La déshydratation permet également réduire considérablement la prolifération microbienne et d'augmenter la durée de conservation du des produits (Klunder *et al.*, 2012). Outre la teneur en eau, l'état de l'eau joue un rôle crucial dans la conservation des aliments. La préservation de la qualité des produits secs dépend notamment de la teneur en eau, de sa mobilité, et de l'adsorption d'eau par le produit durant le stockage (Basu *et al.*, 2006). La connaissance de l'activité de l'eau d'un produit est importante en technologie alimentaire. Elle conditionne la vitesse des réactions chimiques (oxydation, réaction de Maillard), de réactions enzymatiques, le développement et la physiologie des micro-organismes (Kakou *et al.*, 2015). En effet, un domaine de stabilité microbiologique, enzymatique et chimique, existe pour des valeurs d'activité de l'eau comprises entre 0,2 et 0,3 (Jeantet *et al.*, 2006). L'étude des isothermes d'adsorption à partir des données expérimentales a permis de donner les différentes températures de stabilité des farines des insectes étudiés. Ainsi, les farines des larves de *R. phoenicis* peuvent être conservées entre 20 et 30 °C ; celles des farines d'*I. truncata* entre 30 et 40 °C et celles des farines d'*I. epimethea* entre 20 et 40 °C. À ces températures, les farines de ces insectes, aux teneurs en eaux de 2,4 ; 2,1 et 2,6 g/100 g MS respectivement pour *R. phoenicis*, *I. truncata* et *I. epimethea*, seront stables lors de leur conservation, limitant ainsi les mécanismes d'altérations tels que l'oxydation des lipides, les réactions enzymatiques, le brunissement et l'action des microorganismes. Les farines de *R. phoenicis* sont très riches en lipides tandis que les farines des chenilles *I. truncata* et *I. epimethea* sont riches en protéines (64,1 g/100 g MS et 66,6 g/100 g MS). Cette teneur en protéine est comparable à celle de *Acheta domesticus* (65,9 g/100 g MS) (Kamau *et al.*, 2018).

L'ajustement aux modèles des isothermes d'adsorption des farines d'insectes a montré que le modèle de GAB permettait de simuler l'ensemble des isothermes d'adsorption des farines. Le modèle de GAB à trois paramètres :  $M_0$  (teneur en eau de la couche monomoléculaire),  $C$  (chaleur de sorption de la première couche) et  $K$  (chaleur de sorption de la multicouche). Lorsque  $K < 1$  et  $C > 2$ , les courbes de sorptions ont une allure sigmoïde et sont des isothermes de type II. Lorsque  $K < 1$  et  $0 < C < 2$ , les isothermes sont de type III (Taitano & Singh, 2012). En utilisant ces paramètres, on peut dire qu'à 20 et 30°C, les isothermes de sorption de *Rhynchophorus phoenicis* sont de types III. Les isothermes d'adsorption de type sont III caractéristiques des produits contenant des faibles quantités d'eaux aux petites valeurs d'activité de l'eau et de forte quantités d'eaux aux valeurs d'activité de l'eau élevés (Labuza & Altunakar, 2007). Chez les larves de *R. phoenicis* à 40°C et les chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea* à 20, 30 et 40°C, les isothermes sont de type II. Les isothermes des farines de *Tenebrio molitor* (Azzollini *et al.*, 2016), d'*Acheta domesticus* et *Hermetia illucens* (Kamau *et al.*, 2018) sont également de type II. Les teneurs en eau de la couche monomoléculaire obtenues à 30°C chez les larves de *R. phoenicis* (4,5 g/100 g MS) ; les chenilles d'*Imbrasia truncata* (3,7 g/100 g MS) et les chenilles d'*Imbrasia truncata* (3,6 g/100 g MS) sont supérieures ou égales à celles obtenues sur les farines d'*Acheta domesticus* (3,6 g/100 g MS) et d'*Hermetia illucens* (2,9 g/100 g MS) (Kamau *et al.*, 2018), mais inférieures à celle de *Tenebrio molitor* (5 g/100 g MS) (Azzollini *et al.*, 2016) et du killishi (9,5 g/100 g MS) (Talla, 2012). L'eau monomoléculaire peut être considérée comme l'eau liée. A cette faible teneur en eau, les réactions chimiques dépendant de la solvation sont supposées être lente; cependant, les réactions d'altérations en relation avec les lipides peuvent être accentuées (Kamau *et al.*, 2018).

Lorsqu'on observe les courbes d'isothermes d'adsorption, on remarque à température donnée, l'activité de l'eau ( $a_w$ ) des différentes farines d'insectes augmente avec leur teneur en eau. C'est le cas de la plupart des produits alimentaires (Ferradji *et al.*, 2008; Khadraoui & Terfous, 2000; Singh & Kumari, 2014). La dépendance de la teneur en eau d'équilibre avec la température influe de manière importante les réactions chimiques et microbiologiques associées à la détérioration des produits alimentaires. Lorsque la teneur en eau des farines d'insectes est constante, une élévation de la température se traduit par une augmentation de l'activité de l'eau, ce qui est susceptible de favoriser la détérioration des produits alimentaires.

La chaleur isostérique nette représente l'énergie de fixation de l'eau au substrat, c'est-à-dire la chaleur supplémentaire à la chaleur de vaporisation de l'eau pure qu'il faudrait

fournir au produit pour le déshydrater. Pour une déshydratation complète, cette chaleur isostérique nette est plus élevée chez les farines d'*Imbrasia truncata* (22,76 kJ.mol<sup>-1</sup>.K<sup>-1</sup>), que chez celles des farines des chenilles d'*I. epimethea* (4,85 kJ.mol<sup>-1</sup>.K<sup>-1</sup>) et des farines des larves de *R. phoenicis* (1,93 kJ.mol<sup>-1</sup>.K<sup>-1</sup>). Ces chaleurs isostériques nettes de sorption sont inférieures à celles des farines d' *Acheta domesticus* (> 90 kJ.mol<sup>-1</sup>.K<sup>-1</sup>) et d'*Hermetia illucens* (> 60 kJ.mol<sup>-1</sup>.K<sup>-1</sup>) (Kamau *et al.*, 2018). D'une manière générale, on peut observer qu'elle est inférieure à celle de bons nombres de produits alimentaires (Quirijns *et al.*, 2005; Saad *et al.*, 2014; Sandoval *et al.*, 2011; Taitano & Singh, 2012). La chaleur isostérique nette décroît avec l'augmentation de la température, indiquant que le maximum d'énergie est utilisé pour enlever l'eau présente dans les farines d'insectes aux faibles teneurs en eau. Cela illustre la forte liaison de l'eau avec le substrat dans les farines d'insectes. Ce phénomène pourrait être dû à la présence de sites polaires hautement actifs à la surface du produit, qui sont couverts par les molécules d'eau, formant la couche monomoléculaire (Ouafi *et al.*, 2015). Chez les farines des larves de *R. phoenicis*, la chaleur isostérique nette décroît en une seule phase et de manière presque linéaire avec la température, tandis que chez les farines des deux chenilles *Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea*, elle se fait en deux phases : une première rapide entre la teneur en eau de 2,5 et celle de 6 g/100 g MS où s'effectue l'adsorption sur la monocouche avec des fortes énergies de liaisons d'eau; une seconde baisse très lente entre 6,5 et 20 g/100 g MS où s'effectue l'adsorption sur les autres couches avec des énergies de liaisons d'eau plus faibles. Pour des teneurs en eau proches de 30 g/100 g MS chez les larves de *R. phoenicis* et 20 g/100 g MS chez les chenilles d'*Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea*, la  $q_{st}$  approche des valeurs de 0 kJ.mol<sup>-1</sup>.K<sup>-1</sup>, indiquant que la chaleur isostérique nette de sorption approche la chaleur latente de vaporisation de l'eau. Ces teneurs en eau sont font abonder les réactions de détériorations microbiologiques, chimiques et biochimiques.

### III.3.3. Conclusion partielle

L'isotherme d'adsorption des farines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* est de type III aux températures de 20 et 30°C, tandis qu'à 40°C, elle est de type II. Celles des chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea* sont de type II aux températures de 20, 30 et 40°C. La teneur en eau de couche monomoléculaire a été déterminée pour chaque température. A 30°C, elle est de 4,5 chez *R. phoenicis* ; 3,7 chez *I. truncata* et 3,6 chez *I. epimethea*. Elles correspondent, pour chaque farine d'insecte, à la valeur de teneur en eau à ne



pas dépasser lors du séchage pour garantir la qualité du produit. La chaleur isostérique nette de sorption est plus faible chez les larves de *R. phoenicis* et plus élevée chez les larves d'*I. truncata*. Les relations  $q_{st} = f(Me)$  pour chaque farine d'insecte ont été établies.

### III.4. SOLUBILITÉ EN PHASE AQUEUSE, EXTRACTION DE PROTÉINES ET PROPRIÉTÉS ÉMULSIFIANTES DES PROTÉINES DE *RHYNCHOPHORUS PHOENICIS*

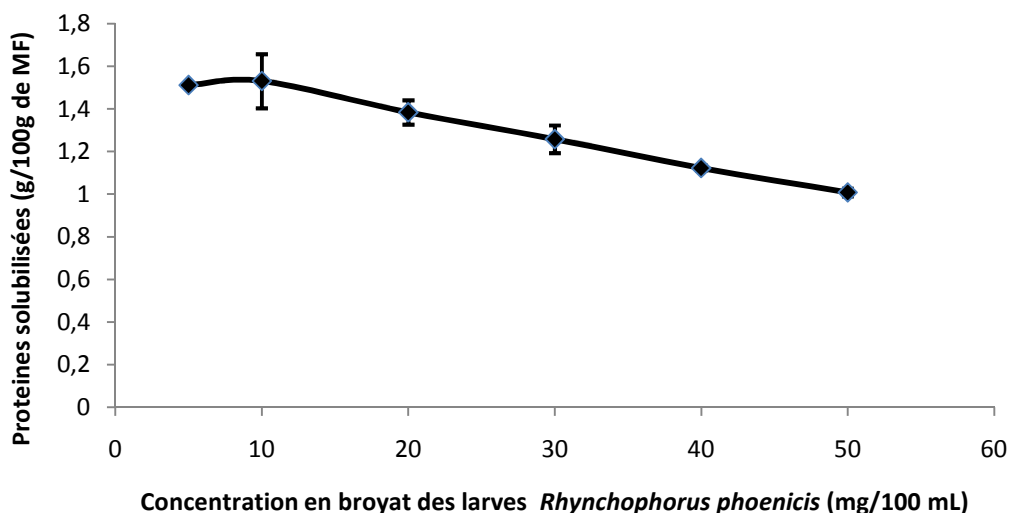
#### III.4.1. Résultats

##### III.4.1.1. Caractérisation des extraits aqueux

##### III.4.1.1.1. Solubilité des protéines

##### III.4.1.1.1.1. Effet de la concentration de l'homogénat sur la quantité de protéines extraites

La figure 34 représente l'effet de la concentration de l'homogénat d'insecte sur la quantité de protéines extraites. Les données sont présentées en Annexe 12 (Tableau 10).



**Figure 34:** Teneur en protéines extraites en fonction de la concentration en broyat

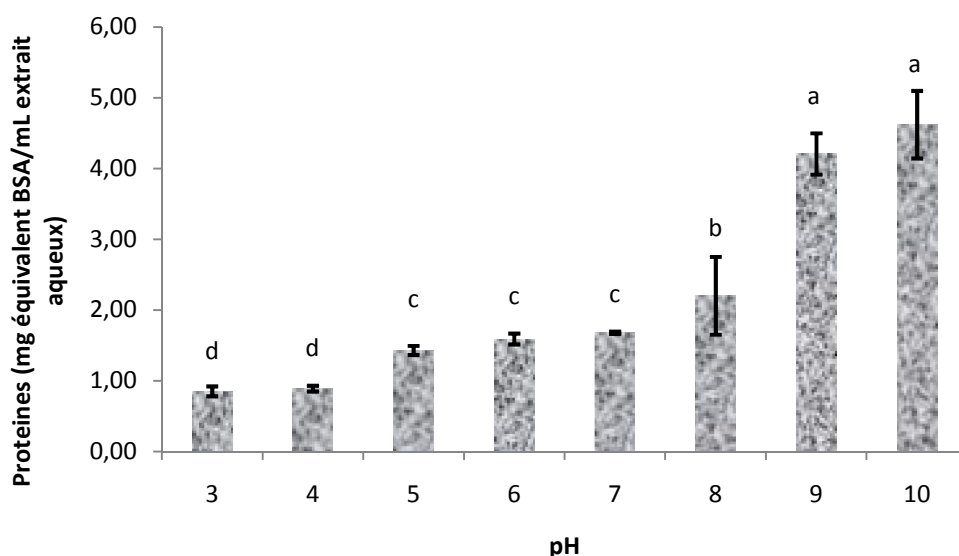
Les barres d'erreurs représentent les écart-types et chaque marqueur, le point moyen de trois répétitions (n = 3)

Aux concentrations en broyat de *Rhynchophorus phoenicis* de 5 et 10 g/mL, les teneurs en protéines solubles des broyats sont maximales et statistiquement identiques ( $1,51 \pm 0,10$  à  $1,53 \pm 0,12$  g/100 g de broyat). La solubilité des protéines décroît progressivement

avec la concentration en broyat jusqu'à  $1,01 \pm 0,02$  g/100 g de broyat pour la concentration en broyat de *R. phoenicis* de 50 g/100 mL d'eau distillée. La concentration en broyat de 10 g/100 g mL permettant de solubiliser le maximum de protéines a été choisie pour la suite de l'étude.

#### III.4.1.1.1.2. Teneur en protéines des extraits aqueux

La figure 35 présente la teneur en protéines des extraits aqueux de protéines de *Rhynchophorus phoenicis*.

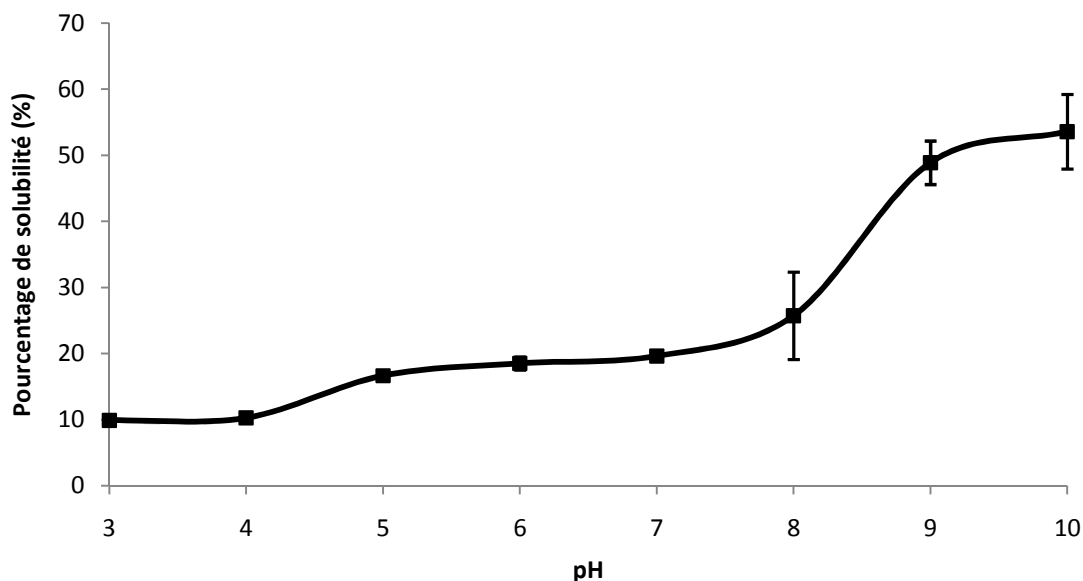


**Figure 35:** Teneur en protéines des extraits aqueux de protéines en fonction du pH (Les valeurs des histogrammes surmontés de lettres différentes sont statistiquement différentes ( $p < 0,05$  ;  $a > b > c > d$ ))

La teneur en protéines présente dans les extraits aqueux augmente avec le pH. Entre le pH 3,0 et 4,0 elle est inférieure à 1 mg équivalent BSA /mL d'extrait aqueux. Cette quantité augmente légèrement jusqu'à 1,8 mg/mL d'extrait aqueux aux pH 5,0 ; 6,0 et 7,0. Elle atteint sa valeur maximale aux pH 9,0 ( $4,21 \pm 0,3$  mg équivalent BSA/mL d'extrait aqueux) et 10,0 ( $4,6 \pm 0,5$  mg équivalent BSA/mL d'extrait aqueux) où les valeurs obtenues sont statistiquement identique.

#### III.4.1.1.1.3. Solubilité des protéines des extraits aqueux de *Rhynchophorus phoenicis* en fonction du pH

La figure 36 présente la variation du pourcentage de solubilité des protéines de *Rhynchophorus phoenicis* en fonction du pH.



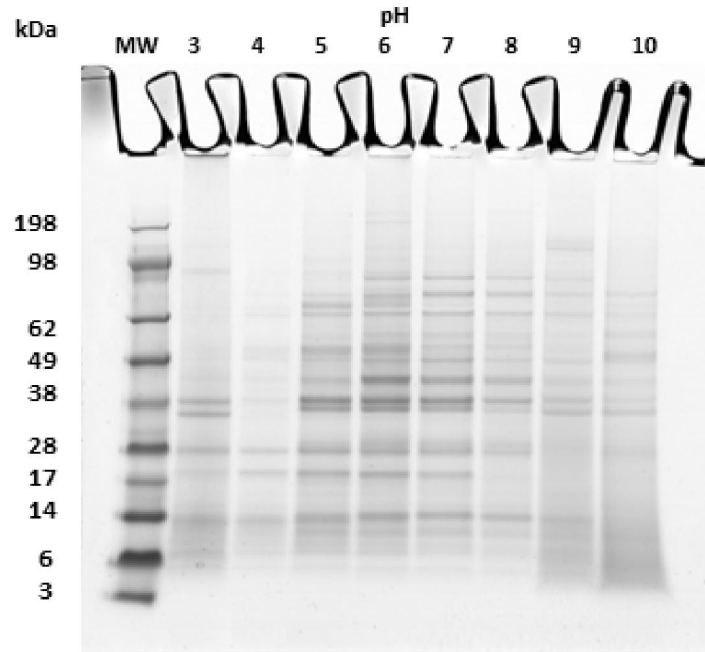
**Figure 36:** Pourcentage de solubilité des protéines dans les extraits aqueux de *Rhynchophorus phoenicis* en fonction du pH

(Les barres d'erreurs représentent les écart-types et chaque marqueur, le point moyen de trois répétitions (n = 3))

La figure 36 montre que la solubilité des protéines des extraits aqueux des larves de *Rhynchophorus phoenicis* augmente avec le pH. Elle est statistiquement identique aux pH 3,0 et 4,0, soit  $9,9 \pm 0,8$  et  $10,3 \pm 0,5$  g/100 g protéines ; augmente progressivement pour atteindre une valeur maximale de  $53,6 \pm 5,6$  g/100 g protéines au pH 10,0. Ce résultat valide le choix d'extraire les protéines de larves de *R. phoenicis* à pH basique pour préparer le concentrat de protéines.

#### III.4.1.1.2. Profil moléculaire des protéines des extraits aqueux des larves de *Rhynchophorus phoenicis* à différents pH

La figure 37 présente l'électrophorogramme en conditions dénaturantes des protéines des extraits aqueux des larves de *Rhynchophorus phoenicis* du pH 3,0 au pH 10,0. Les protéines ne fixant pas le colorant de la même manière sur le gel, il a été impossible d'avoir la composition quantitative dans un puits. Cependant, pour une même bande, des comparaisons ont été effectuées d'un puits à l'autre.



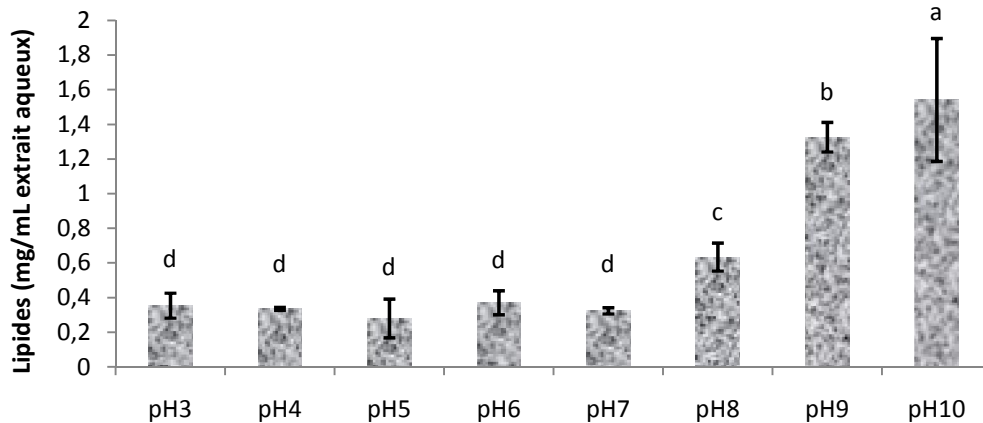
**Figure 37:** Electrophorogrammes des protéines des extraits aqueux de larves de *Rhynchophorus phoenicis* préparés à différents pH (kDa: kilo Daltons; MW: standard de protéines de différents poids moléculaire connus (Molecular Weight))

L'électrophorogramme des protéines des extraits aqueux de protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* montre que le nombre de bandes protéiques et le profil moléculaire des protéines extraites dépendent du pH du tampon d'extraction. Six (6) bandes protéiques apparaissent au pH 3,0 ; 9 au pH 4,0 ; 14 aux pH 5,0, 6,0 et 7,0 ; 12 au pH 8,0 ; 8 au pH 9,0 et 7 au pH 10,0. Certaines bandes protéiques apparaissent uniquement à un seul pH. Une bande de 28,68 kDa au pH 3,0 ; une bande de 78,09 kDa au pH 4,0 ; une bande de 62,6 kDa au pH 5,0 ; une bande de 8,02 kDa au pH 7,0 et une bande de 155,61 kDa au pH 9,0. Certaines bandes apparaissent et disparaissent à certains pH. Une bande de 96,16 kDa absente au pH 3 et 4, mais présente aux autres pH, une bande d'environ 55 kDa, uniquement présente au pH 4, 5, 6 et 7, une bande d'environ 16 kDa absente au pH 9 et 10 et présente aux autres pH, une bande d'environ 115 kDa absente au pH 9 et 10 et présente aux autres pH. Certaines bandes apparaissent également à tous les pH. C'est le cas par exemple des bandes de 33,55 kDa, de 20, 19 kDa et 10,53 kDa. Ces résultats montrent que différents types de protéines sont extraites aux différents pH.

### III.4.1.1.3. Caractérisation des lipides des extraits aqueux des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

#### III.4.1.1.3.1. Teneur en lipides des extraits aqueux

La figure 38 présente la teneur en lipides des extraits aqueux des larves de *Rhynchophorus phoenicis* à différents pH.



**Figure 38:** Teneur en lipides des extraits aqueux des larves de *Rhynchophorus phoenicis* à différents pH

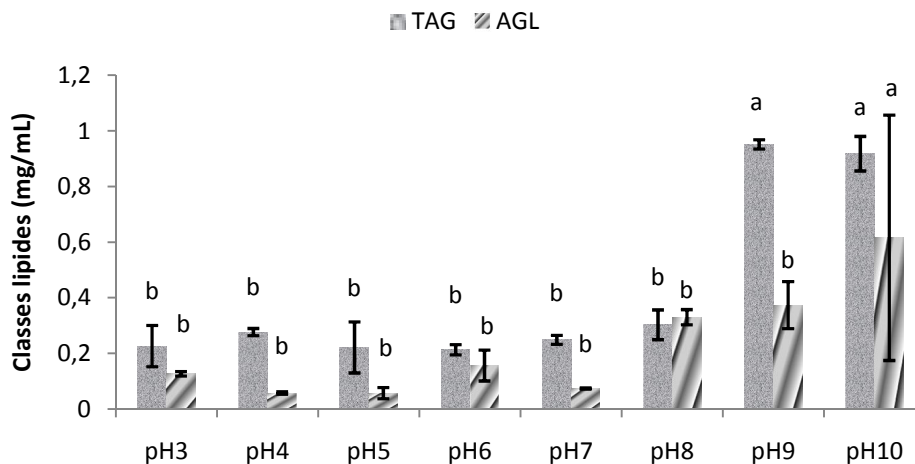
(Les valeurs des histogrammes surmontés de lettres différentes sont statistiquement différentes ( $p < 0,05$  ;  $a > b > c > d$ ))

La figure 38 montre que les teneurs en lipides des extraits aqueux de larves de *Rhynchophorus phoenicis* sont similaires de pH 3,0 à pH 7,0 avec des valeurs comprises entre  $0,29 \pm 0,07$  et  $0,34 \pm 0,02$  mg/mL d'extrait aqueux. Les teneurs les plus importantes sont obtenues aux pH 8,0 ; 9,0 et 10,0 avec la teneur maximale au pH 10,0 ( $1,54 \pm 0,35$  mg/mL d'extrait aqueux). Ce résultat montre que l'extraction des lipides est favorisée à pH basique. Il justifie les lavages successifs lors de la préparation du concentrat afin d'éliminer le plus possible de composés non protéiques

#### III.4.1.1.3.2. Composition en classes de lipides des extraits aqueux de *Rhynchophorus phoenicis*

La figure 39 présente la composition en classe des lipides des extraits aqueux de larves de *Rhynchophorus phoenicis* à différents pH. les données sont présentées en Annexe (Annexe 13 ; Tableau 11). Seuls les acides gras libres (AGL) et les triglycérides (TAG) ont été

identifiés sur les chromatogrammes : il n'y a pas de traces (<limite de détection) de monoglycérides (MAG), diglycérides (DAG) et lipides polaires (PL).



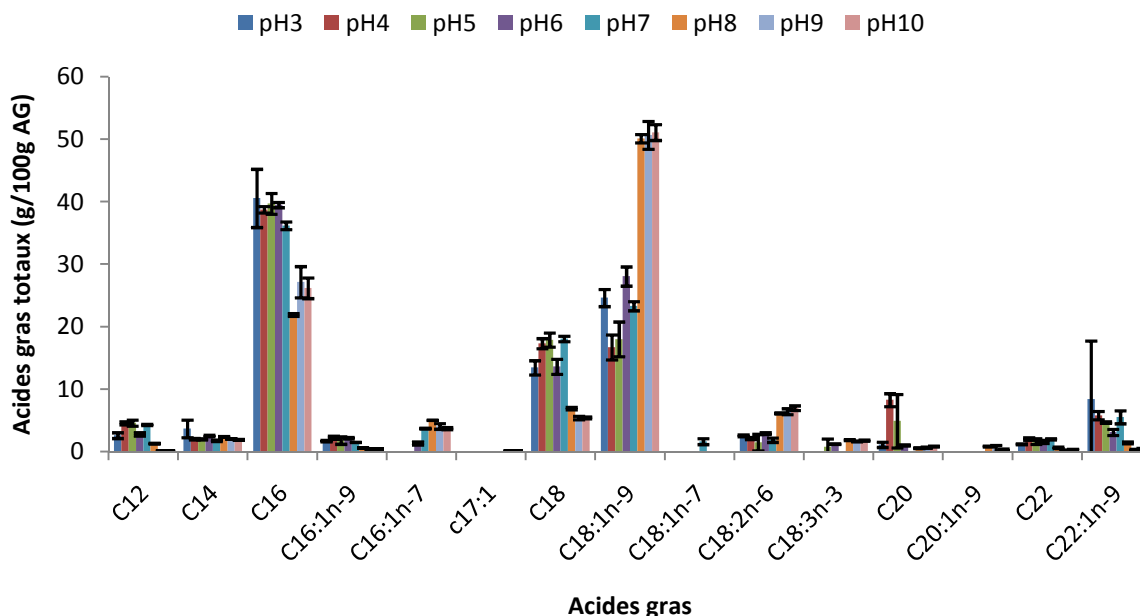
**Figure 39:** Teneur en TAG et AGL des extraits aqueux de larves *Rhynchophorus phoenicis* préparés à différents pH

Les valeurs des histogrammes de même couleur surmontés de lettres différentes sont statistiquement différents ( $P < 0,05$  ;  $a > b$ )

La figure 39 montre que les TAG sont majoritairement extraits aux pH 9,0 et 10,0 avec des teneurs statistiquement identiques ( $0,95 \pm 0,02$  mg/mL et  $0,91 \pm 0,06$  respectivement). Les AGL quant à eux, en quantités plus faibles que les TAG, sont majoritairement extraits aux pH  $7 < 8 < 9 < 10$  avec des teneurs allant de  $0,07 \pm 0,02$  à  $0,6 \pm 0,4$  mg/mL d'extraits aqueux. La présence d'acides gras libres peut influencer la stabilité oxydative, mais aussi les propriétés tensioactives et donc le pouvoir émulsifiant des extraits aqueux.

#### III.4.1.1.3.3. Composition en acides gras des lipides totaux des extraits aqueux

La figure 40 présente la composition en acides gras des lipides des extraits aqueux de larves de *Rhynchophorus phoenicis* à différents pH. Les données sont présentées en Annexe (Annexe 13, Tableau 12).



**Figure 40:** Teneur en acides gras des extraits aqueux de larves de *Rhynchophorus phoenicis* préparés à différents pH (n=3)

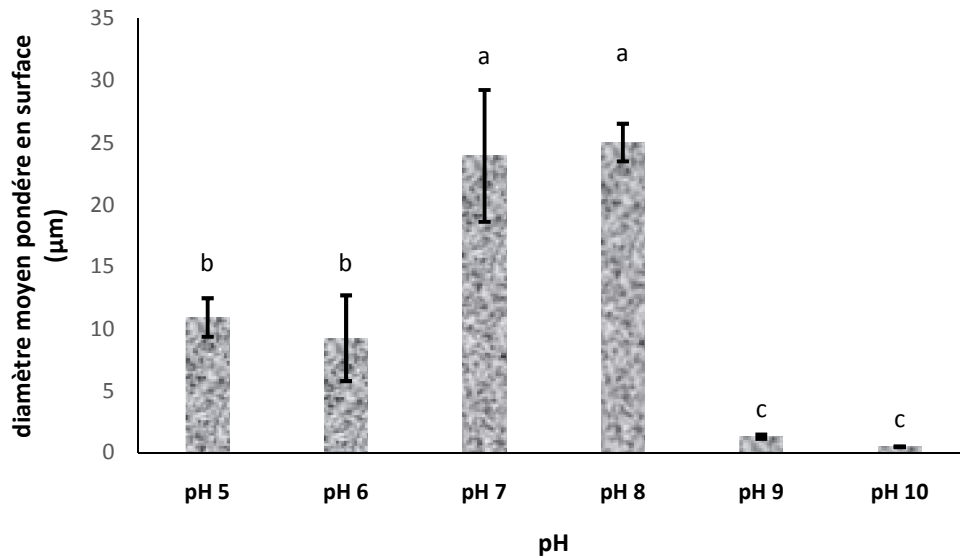
La figure 40 montre que le type et la quantité d'acide gras présent dans l'extrait aqueux de larves de *Rhynchophorus phoenicis* dépend du pH. L'acide palmitique et l'acide oléique sont les acides gras majoritairement présents dans les lipides totaux des extraits aqueux de protéines. Les teneurs en acide palmitique et en acide stéarique dans les lipides décroissent avec le pH tandis que celles en acide oléique et acide linoléique augmentent avec le pH. Aux pH basiques (8,0 ; 9,0 et 10,0), l'acide gras majoritaire obtenu est l'acide oléique suivi immédiatement par l'acide palmitique, contrairement aux pH acides et neutre où l'acide majoritaire est l'acide palmitique.

#### III.4.1.1.4. Propriétés émulsifiantes des extraits aqueux de larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Les propriétés émulsifiantes des protéines sont largement influencées par leur solubilité. Les propriétés émulsifiantes des extraits aqueux de broyats de larves de *Rhynchophorus phoenicis* a été étudié en fonction du pH de la solution d'extraction.

#### III.4.1.1.4.1. Variation du diamètre moyen pondéré en surface et de la surface spécifique des émulsions en fonction du pH

La figure 41 représente l'histogramme des diamètres moyens pondérés en surface ( $D_{3,2}$ ) des gouttelettes des émulsions préparées à différents pH.



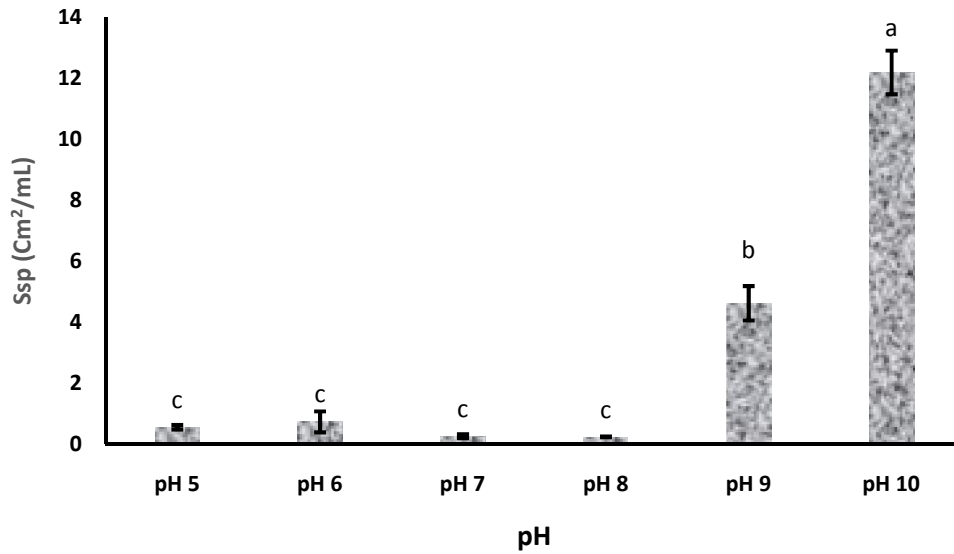
**Figure 41:** Variation des diamètres pondérés en surface des gouttelettes en fonction des du pH (émulsion 90/10 : eau/huile : p/p ; concentration en protéines de la phase aqueuse : 1mg/mL ; n=3)

Les valeurs des histogrammes surmontés de lettres différentes sont statistiquement différents ( $P < 0,05$  ;  $a > b > c$ )

Pour les pH compris entre 5 et 8, les diamètres pondérés en surface des gouttelettes sont supérieurs à 10 µm conduisant à la formation d'émulsions instables qui subissent le crémage dès 30 min après leur préparation (données non montrées). Aux pH 9 et 10, les diamètres moyens pondérés en surface des gouttelettes sont statistiquement identiques et ils sont inférieurs à 1 µm, conduisant à la formation d'émulsions stables.

La figure 42 représente la surface spécifique des gouttelettes des émulsions à différents pH.





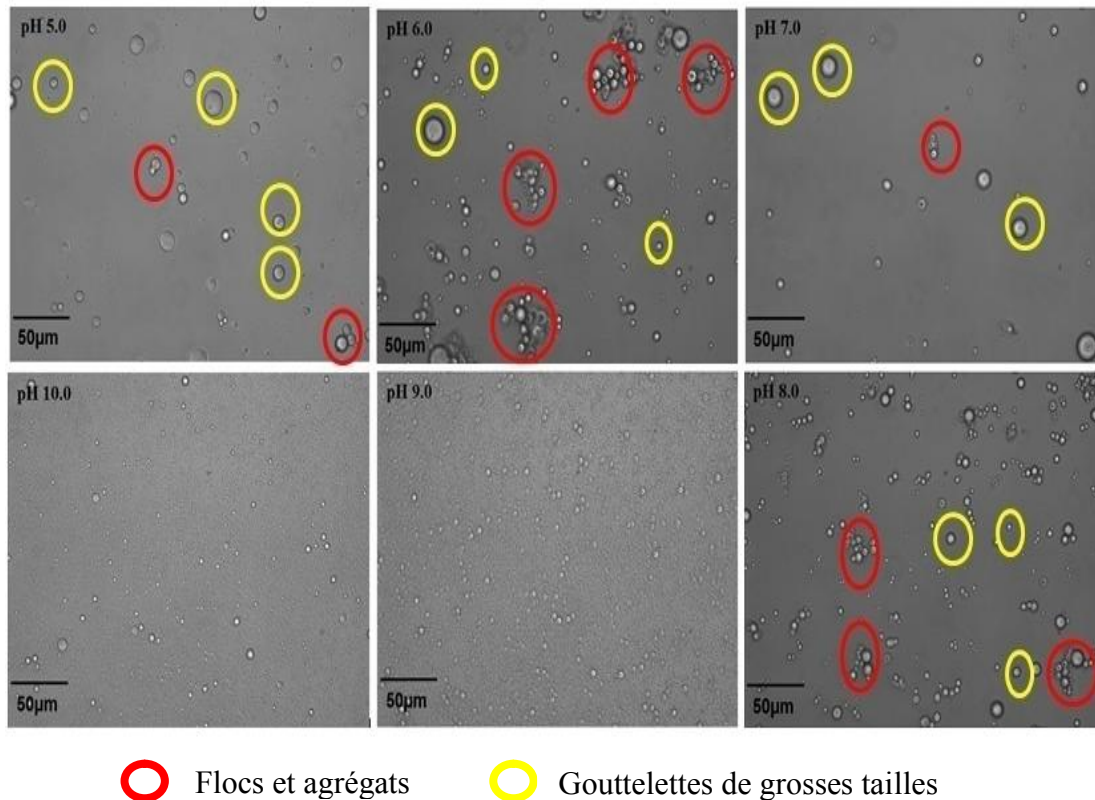
**Figure 42:** Variation de la surface spécifique (SSp ; cm<sup>2</sup>/mL) des gouttelettes de l'émulsion en fonction du pH (émulsion 90/10 : eau/huile : p/p ; concentration en protéines de la phase aqueuse 1mg/mL ; n = 3)

Les valeurs des histogrammes surmontés de lettres différentes sont statistiquement différents ( $P < 0,05$  ;  $a > b > c$ )

Pour des pH compris entre 5,0 et 8,0 les surfaces spécifiques des gouttelettes sont statistiquement identiques et inférieures à 1 cm<sup>2</sup>/mL. Cette surface fait un saut à pH 9,0 à plus de 4 cm<sup>2</sup>/mL pour atteindre une valeur de plus de 12 cm<sup>2</sup>/mL au pH 10,0. Ceci traduit le fait que la surface spécifique est d'autant plus importante que la taille des gouttelettes est plus petite.

#### III.4.1.1.5. Microscopie optique des gouttelettes d'huiles

Les émulsions préparées à différents pH ont été observées par microscopie optique. Sur la figure 43 sont présentées quelques images représentatives des observations réalisées pour des pH allant de 5,0 à 10,0.



**Figure 43:** Microstructure des émulsions préparés avec les extraits aqueux de larves de *Rhynchophorus phoenicis* à différents pHs (pH5,0 -10,0)

La figure 43 montre que les émulsions obtenues ont des caractéristiques différentes selon le pH. Les gouttes obtenues aux pH 3,0 à 8,0 sont fortement flocculées. Les gouttelettes sont de grosses tailles. Aux pH 9,0 et 10,0 les gouttelettes obtenues sont de plus petites tailles. Les émulsions sont non flocculées.

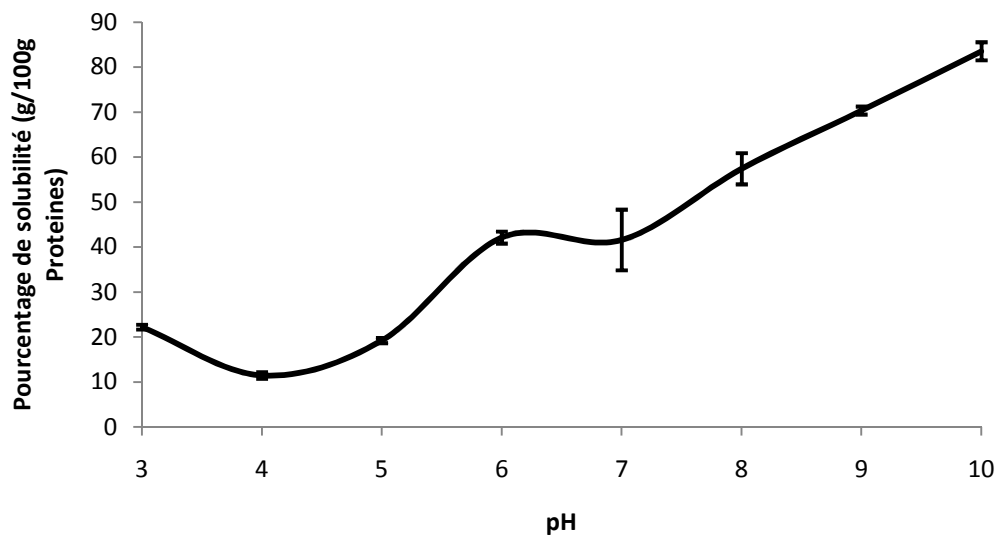
A partir des résultats obtenus sur la caractérisation des extraits aqueux, on peut déduire que pour avoir des extraits riches en protéines, une étape de délipidation doit être effectuée avant l'extraction aqueuse. Les farines délipidées ont donc été préparées à froid et les protéines ont été extraites au pH où elles sont majoritairement solubles, précipitées à pH acide et lavées.

#### III.4.1.2. Caractérisation du concentrat de protéines

Le concentrat de protéines a été préparé dans des conditions différentes que les extraits aqueux de protéines, c'est-à-dire par une extraction à pH basique (NaOH 2M, pH 9,0) suivie par des étapes de précipitation et resolubilisation des protéines afin de les concentrer. La teneur en protéines, dosée selon la méthode de Dumas, a permis d'avoir une valeur de  $71,6 \pm 1,4$  g/100 g de concentrat.

### III.4.1.2.1. Solubilité du concentrat de protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* en fonction du pH

La figure 44 présente le pourcentage de solubilité des protéines du concentrat de protéines de *Rhynchophorus phoenicis* en fonction du pH (3,0 à 10,0).

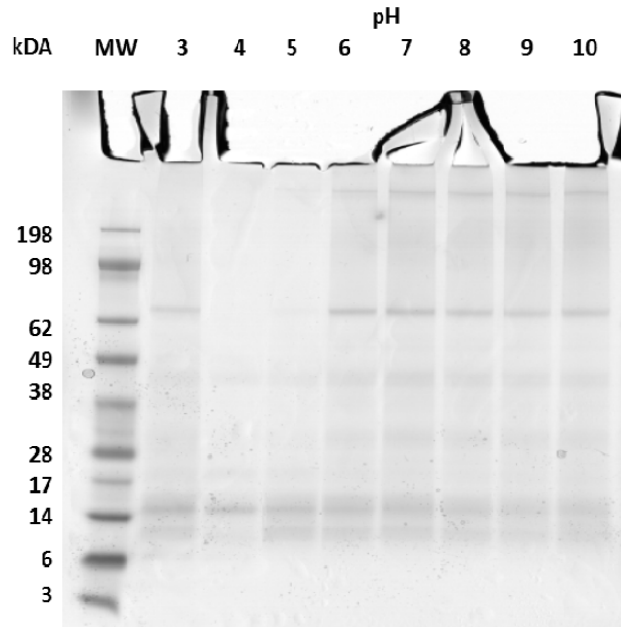


**Figure 44:** Pourcentage de solubilité du concentrat de protéines de *Rhynchophorus phoenicis* en fonction du pH (3,0 – 10,0 ; n=3)  
(Les barres d'erreurs représentent les écart-types et chaque marqueur, le point moyen de trois répétitions (n = 3))

La figure 44 montre que le concentrat de protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* présente une faible solubilité aux pH acides avec un minimum de solubilité au pH 4,0 (11,4 g/100 g protéines). Après le pH 4,0, la solubilité des concentrat de protéines de *R. phoenicis* augmente en fonction du pH jusqu'à atteindre son maximum au pH 10,0 (83,5 g/100 g protéines). Ce résultat laisse penser que le pHi du concentrat de protéines des larves de *R. phoenicis* se situe aux environ de pH 4,0.

### III.4.1.2.2. Profil moléculaire du concentrat de protéines de larves de *Rhynchophorus phoenicis* à différents pH

La figure 45 présente les électrophorogrammes du concentrat de protéines de larves de *Rhynchophorus phoenicis* à différents pH (pH 3,0 à pH 10,0).



**Figure 45:** Electrophorogrammes du concentrat de protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* préparés à différents pHs (kDa: kiloDaltons; MW: standard de protéines de différents poids moléculaire connus (Molecular Weight))

Le gel d'électrophorèse montre que le nombre de bandes protéiques et le profil moléculaire des protéines solubles du concentrat de protéines de *Rhynchophorus phoenicis* dépendent du pH. On compte 5 bandes protéiques au pH 3,0 ; 4 bandes au pH 4,0 ; 7 bandes au pH 5,0 et 6 bandes aux pH 6,0 ; 7,0 ; 8,0 ; 9,0 et 10,0. Certaines bandes protéiques n'apparaissent qu'à certains pH. Deux bandes protéiques de 285,92 et 24,88 kDa qui sont absentes aux pH 3,0 et 4,0, mais présente à tous les autres pH. Deux bandes de 86,89 et de 9,83 kDa absentes au pH 4,0 et présentes aux autres pH. Une bande de 16,79 kDa uniquement présente au pH 4,0 et 5,0. Une bande de 8,83 kDa uniquement présente au pH 3,0 et 4,0. D'autres bandes apparaissent à tous les pH. C'est le cas des deux bandes protéiques de 46,22 et 12,18 kDa présentes à tous les pH.

III.4.1.2.3. Propriétés émulsifiantes du concentrat de protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis*

III.4.1.2.3.1. Distribution de la taille des émulsions préparées à base de concentrat de protéines de larves de *Rhynchophorus phoenicis* aux pH 3,0 ; 5,0 ; 7,0 et 9,0

La figure 46 présente la distribution de la taille des émulsions préparées à base de concentrat de protéines de *Rhynchophorus phoenicis* aux différents pH (en présence et en absence de SDS 1%). Les données sont présentées en Annexe 14 (Tableau 13).

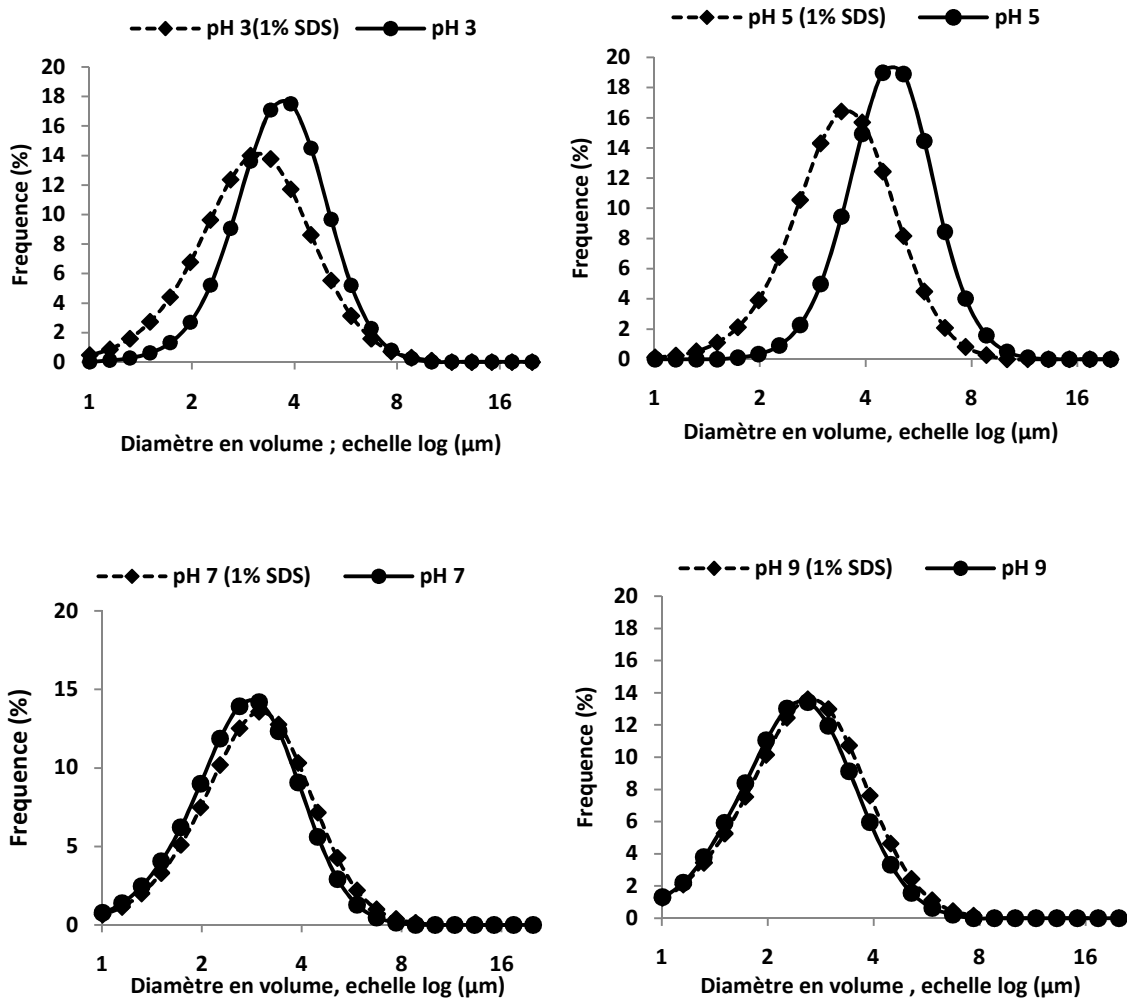


Figure 46: Distribution de la taille des émulsions stabilisés par le concentrat de protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* à différents pH (3,0 ; 5,0 ; 7,0 ; 9,0) en présence et en absence de SDS

Quel que soit le pH, on observe une distribution unimodale, polydisperse et symétrique du diamètre des émulsions en absence ou en présence de SDS.

### III.4.1.2.3.2. Floculation des émulsions fraîchement préparées et après stockage de 24h

Le tableau XLIII présente le diamètre moyen pondéré en volume ( $d_{4,3}$ ) ; les indices de floculation des émulsions fraîchement préparées et après 24h de stockage.

**Tableau XLIII:** Diamètre moyen pondéré en volume et indice de floculation des émulsions à base de concentrat de protéines de *Rhynchophorus phoenicis* préparées à différents pH

pH	$d_{4,3}$ ( $\mu\text{m}$ )				IF	
	t=0 heure		t=24 heures		0 heure	24 heures
	Tampon	1% SDS	Tampon	1% SDS		
pH 3,0	3,2 ± 0,4 Ab	3,6 ± 0,8 Aa (A)	3,7 ± 1,0 Ab	3,3 ± 0,2 Aa (A)	91 ± 28Aa	113 ± 29Aab
pH 5,0	4,8 ± 1,6 Aa	4,4 ± 1,1 Aa (A)	7,8 ± 2,0 Aa	4,3 ± 0,9 Ba (A)	110 ± 27Aa	180 ± 26 Ba
pH 7,0	2,6 ± 0,4 Ab	3,0 ± 0,4 Aa (A)	3,1 ± 0,4 Ab	3,6 ± 1,4 Aa (A)	87 ± 1Aa	127 ± 39Ab
pH 9,0	2,2 ± 0,0 Ab	2,4 ± 0,1 Aa (A)	2,3 ± 0,1 Ab	2,6 ± 0,2 Aa (A)	93 ± 4Aa	88 ± 9Ab

$d_{4,3}$ : diamètre moyen pondéré en volume; IF: indice de floculation

A l'intérieur de chaque colonne, les valeurs associées à différentes lettres minuscules sont significativement différents ( $p < 0,05$ ).

A pH donné, les valeurs de  $d_{4,3}$  à 0 heure en absence et présence de SDS, de  $d_{4,3}$  à 24 heures en absence et présence de SDS et l'IF à 0 et 24 heures, associés à différentes lettres majuscules sont significativement différents ( $p < 0,05$ ).

A pH donné, les valeurs de  $d_{4,3}$  des émulsions en présence de SDS à 0 et 24 heures, associées à différentes lettres majuscules entre parenthèses, sont significativement différents ( $p < 0,05$ ).

Au temps  $t_{0h}$ , le  $d_{4,3}$  des différentes émulsions quelque soit le pH est inférieur à 5  $\mu\text{m}$ , ce qui est intéressant du point de vue alimentaire. A  $t = 0$  heure, pour chaque pH, il n'existe pas de différence significative entre le  $d_{4,3}$  des émulsions en absence et en présence du SDS. Ce résultat indique une quasi absence de floculation des émulsions, même si l'on observe des indices de floculation supérieurs à 100 à ces différents pH. Au temps  $t = 24h$  et à pH 7,0, il existe une différence significative entre le  $d_{4,3}$  des émulsions en absence de SDS (plus élevé) et celles en présence du SDS (plus faible), montrant clairement l'existence de la floculation à ce pH contrairement aux autres où elle est absente. Quelque soit le pH, le  $d_{4,3}$  des émulsions en absence de SDS est statistiquement identique entre 0 heure et 24 heures. A pH 3,0 et 5,0 l'indice de floculation baisse de façon significative entre 0 et 24 heures. Par contre, à pH 7,0 et 9,0, l'indice de floculation ne varie pas. De manière générale, que ce soit en présence ou en absence de 1% SDS, le  $d_{4,3}$  le plus petit est obtenu au pH 9,0.

### III.4.1.2.3.3. Stabilité à la coalescence des émulsions après 24 h

La stabilité à la coalescence des émulsions à base de concentrat de protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* a été évaluée en calculant l'indice de coalescence des émulsions 24 h après leur préparation. Ces données sont présentées dans le tableau XLIV.

**Tableau XLIV:** Diamètre moyen pondéré en surface, surface spécifique et indice de coalescence des émulsions à base du concentrat de protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* préparées à différents pHs

	d <sub>3,2</sub> (µm)		SSp (Cm <sup>2</sup> /mL)		IC
	0 heure	24 heures	0 heure	24 heures	
<b>pH 3,0</b>	2,5 ± 0,2 Ab	2,8 ± 0,3 Ab	2,4 ± 0,1 Aa	2,2 ± 0,3 Ab	15,3 ± 5,9 a
<b>pH 5,0</b>	3,8 ± 0,9 Aa	3,7 ± 0,6 Aa	1,7 ± 0,4 Ab	1,7 ± 0,3 Ab	2,9 ± 0,1b
<b>pH 7,0</b>	2,3 ± 0,5 Ab	1,5 ± 0,2 Ac	2,8 ± 0,7 Ba	4,2 ± 0,5 Aa	-64,9 ± 4,7d
<b>pH 9,0</b>	1,9 ± 0,1 Ab	1,6 ± 0,2 Ac	3,1 ± 0,1 Ba	3,8 ± 0,6 Aa	-28,3 ± 12,5c

d<sub>3,2</sub> : diamètre moyen pondéré en surface ; SSp : surface spécifique ; IC : indice de coalescence

A l'intérieur de chaque colonne, les valeurs associées à différentes lettres minuscules sont significativement différents ( $p < 0,05$ ).

A pH donné, les valeurs de d<sub>3,2</sub> à 0 heure et 24 heures en présence de SDS, de SSp à 0 heure et 24 heures en présence de SDS et l'IC, associés à différentes lettres majuscules sont significativement différents ( $p < 0,05$ ).

La surface spécifique des émulsions préparées à base de concentrat de protéines de *Rhynchophorus phoenicis* varient plus ou moins en fonction du temps et du pH. Aux pH 3,0 et 5,0, la SSp des émulsions diminue 24 heures après leur préparation, cependant la statistique montre que cette diminution n'est pas significative ( $p < 0,05$ ). On obtient toutefois des indices de coalescence positifs indiquant le phénomène de coalescence à ces pHs (3,0 et 5,0). Aux pH 7,0 et 9,0, la SSp des émulsions augmente de façon significative 24 heures après préparation. Cette augmentation de la SSp signifie une absence du phénomène de coalescence à ces pHs (7,0 et 9,0), d'où les IC négatifs obtenus. On note également qu'au temps 0 heure, la SSp l'émulsion au pH 5,0 est statistiquement plus faible que celles des émulsions préparées aux autres pHs. Par contre, après 24 heures, les surfaces spécifiques des émulsions aux pHs 3,0 et 5,0 sont statistiquement égales et plus faibles que celles des émulsions préparées aux pH 7,0 et 9,0.

### III.4.2. Discussion

La solubilité des protéines des extraits aqueux des larves de *Rhynchophorus phoenicis* était minimale à pH 3,0 et augmentait progressivement en fonction du pH pour atteindre sa

valeur maximale à pH 10,0. Cette allure est en accord avec la plupart des courbes de solubilité des protéines qui sont plus solubles aux pH basiques. Les résultats obtenus sont en accord avec ceux obtenus par Omotoso & Adedire (2007) sur le même insecte et sur les larves de *Cirina forda* (Omotoso., 2006). La solubilité maximale de protéines était de 53,6 g/100 g protéine. Cette valeur est inférieure à celle de 58 g/100 g protéine, obtenue après extraction aqueuse chez les larves de *Tenebrio molitor* (Purschke *et al.*, 2018a). Les triacylglycerols et les acides gras libres ont été co-extraits (majoritairement aux pH 9,0 et 10,0) lors de la préparation des extraits aqueux de protéines. Cela peut s'expliquer par le fait qu'aux pH fortement basiques, les lipides, notamment les acides gras libres sont ionisés et solubles dans l'eau sous la forme de savons qui sont des agents tensioactifs (Pel, 2001; Rustan & Drevon, 2005). Ces savons pourraient ainsi co-entraîner les TAG dans les extraits aqueux. La présence en quantité importante des acides gras aux pH 9,0 et 10,0 (Figure 39) et leurs propriétés tensioactives permettent d'expliquer en partie le fait qu'à ces pH, les extraits aqueux des larves de *R. phoenicis*, forment avec l'huile d'arachide, des émulsions stables et de très petites tailles (<1µm). Cependant, cette présence des acides gras aussi est à considérer avec beaucoup d'attention quand on sait que les acides gras libres (abondant aux pH 8,0 ; 9,0 et 10,0) ont des effets pro-oxydants sur la stabilité oxydative de certaines émulsions (Yi *et al.*, 2013b). Le type de protéines extraites et leur état conformationnel (hydrophobie de surface) sont également essentiels pour permettre leur aptitude à former des émulsions stables. En effet, les protéines hydrophobes présentent d'excellentes propriétés émulsifiantes (Kato *et al.*, 1983). Plus une protéine est hydrophobe, plus elle s'adsorbera à l'interface huile eau et provoquera une faible tension interfaciale (Kato *et al.*, 1983). Des mesures d'hydrophobie de surface de nos protéines permettraient de confirmer ou non cette hypothèse. Nous avons également remarqué lors de l'électrophorèse, que des bandes protéiques de poids moléculaire différents appariassent à différents pH (Figure 37), indiquant ainsi que différentes protéines ont été extraites à ces pHs. Ces différentes protéines pourraient être impliquées dans différentes voies métaboliques chez les larves de *R. phoenicis*. Purschke et al (2018) ont identifié chez le concentrat de protéines du criquet migratoire (*Locusta migratoria*) un certain nombre de protéines : une protéine de poids moléculaire proche de 98 kDa, comme étant celle de la chaîne alpha de tubuline ; des protéines de poids moléculaires compris entre 62 et 69 kDa comme étant celles de la chaîne bêta de la tubuline; une protéine de poids moléculaire 40 kDa comme étant la tropomyosine (Purschke et al., 2018). Bußler et al (2016) ont identifié chez la tubuline;



Bußler et al (2016) proposed that the bands observed in the range between 14 and 32 kDa in proteins from meal worm (*Tenebrio molitor*) larvae could originate from cuticle proteins of chymotrypsin-like proteinase (24 kDa) while the bands ranging between 32 and 95 kDa would correspond to different enzymes and proteins and the bands with MW > 95 kDa to vitellogenin-like protein.

A des pH très élevés, les protéines sont dans un état dénaturé. Ainsi aux pH 9,0 et 10,0 les protéines présentes dans les extraits aqueux des larves de *R. phoenicis* seraient dénaturées et pourraient avoir contribué de deux façons à la stabilisation des émulsions. Premièrement, les protéines dénaturées se replient plus facilement et sont plus flexibles (Cabra *et al.*, 2008). Ainsi, leurs groupes hydrophobes seront exposés pour interagir avec la phase huile et favoriser la stabilité des émulsions (Cabra *et al.*, 2008; Zhai *et al.*, 2013). Deuxièmement, les protéines dénaturées se fixent plus facilement à l'interface et en augmentant la surface de la couche interfaciale. Elles s'opposent à la coalescence. A des pH supérieurs au pHi, les protéines sont chargées négativement. Les gouttelettes d'huiles dont l'interface est couverte par ces protéines étant également chargées négativement, cela provoque des répulsions entre gouttelettes. Des mesures de la charge électrique des gouttelettes (potentiel zêta) qui auraient confirmé cette hypothèse n'ont pas pu être effectuées au cours de cette étude. Les observations microscopiques ont cependant permis de confirmer les informations précédentes en montrant une absence de floculation et coalescence des émulsions à ces pH (9,0 et 10,0) contrairement aux autres pH étudiés. Il faut cependant noter que ces émulsions à pH élevés ne sont pas indiquées pour la plupart des applications alimentaires acides, quoi qu'elles puissent être employées pour un aliment tel que la sauce jaune. Toutefois, elles pourraient trouver des applications dans l'industrie cosmétique (Varka *et al.*, 2012).

Les protéines de larves de *Rhynchophorus phoenicis* ayant été majoritairement solubles aux pHs alcalins, et co-extraits avec des lipides, il a été nécessaire de procéder au préalable à une délipidation, suivie d'une extraction en milieu alcalin et précipitation en milieu acide pour préparer un concentrat de protéines. La courbe de solubilité du concentrat de protéines obtenu a montré une allure presque similaire à celle des extraits aqueux, avec un minimum de solubilité entre le pH 4,0. Les protéines étant faiblement solubles à leur pHi, on peut conclure que le pH isoélectrique des protéines de *R. phoenicis* est de pH 4,0. Ce pH isoélectrique est différent, mais proche de celui des larves des mouches de *Anastrepha ludens*, soit le pH 5,0 (Del Valle & Mena, 1982). La teneur en protéines du concentrat obtenue était

de 71,6 g/100 g concentrat. Elle est supérieure celle du concentrat de protéines des larves des mouches de *Anastrepha ludens*: 65,4 g/100 g concentrat (Del Valle & Mena, 1982) et inférieure à celle du concentrat de protéines du criquet migratoire *Locusta migratoria* : 82,3 g/100 g concentrat (Purschke *et al.*, 2018b). Les émulsions préparées à partir du concentrat de protéines ont quant à elles une distribution de tailles plus petites ( $d_{4,3} < 5\mu\text{m}$  quelque soit le pH) que celles formées à partir des extraits aqueux de protéines. Cela se justifie par la présence en quantité importante de protéines (10 mg de concentrat/mL, soit 7,16 mg protéines/mL tampon) dans la phase aqueuse. En effet à pH fixée, une augmentation de la concentration en protéine peut en effet contribuer à augmenter les propriétés émulsifiantes des protéines d'insectes (Bußler *et al.*, 2016) et diminuer la tailles des émulsions tel que observé avec les concentrat de protéines du blé (Sun & Gunasekaran, 2009). Les émulsions préparées à partir du concentrat de protéines ont des tailles moyennes ( $d_{4,3}$ ) plus importante au pH 5,0 ( $4,8 \pm 1,6 \mu\text{m}$ ) contrairement aux autres pH (3,0 ; 7,0 et 9,0) ou les tailles sont plus faibles ( $2,2 - 3,2 \mu\text{m}$ ), cependant elles sont statistiquement identiques. Nous avons observé un profil presque identique des protéines solubilisées à ces différents pH et révélées par électrophorèse (Figure 45). Ce profil indique que quel que soit le pH, ce sont des protéines identiques qui participent à l'émulsification. Les tailles moyennes des émulsions obtenues sont inférieures à celle de  $10 \mu\text{m}$  obtenues pour les émulsions préparées à bases des isolats de protéines des larves de *Tenebrio molitor* (Gould & Wolf, 2018). Ces émulsions sont de petite taille, ce qui pourrait les rendre plus stable (Damodaran, 2005). Même s'il n'existe pas de différence significative entre les tailles des émulsions, les concentrats de protéines de larves de *R. phoenicis* ont de meilleures propriétés émulsifiantes aux autres pH qu'au pH 5,0 proche du point isoélectrique. En effet, au pH proche de leur point isoélectriques, les protéines présentent une faible capacité émulsifiante (Masson & Jost, 1986) et ont une forte tendance à flocculer (McClements, 2004). Le  $d_{4,3}$  de ces émulsions ont été déterminées en présence du SDS. En effet, le SDS, qui est très tensioactif, désorbe les protéines de l'interface présentes dans une émulsion stabilisée par les protéines en remplaçant ces dernières. Étant chargés, elles provoqueront une répulsion électrostatique des gouttelettes initialement en contact (floculées)(Liang & Tang, 2013). On note qu'en présence du SDS 1%, les tailles des émulsions sont statistiquement identiques quelque soit le pH et ont une taille inférieure à  $5 \mu\text{m}$ . Ces émulsions de faibles tailles, à base du concentrat de protéines de *R. phoenicis*, sont adaptées pour des applications alimentaires telle que la mayonnaise (Ghazaei *et al.*, 2015). Au temps  $t_0$  et à tous les pH, les tailles des émulsions en présence et en absence de SDS

étaient statistiquement identiques, indiquant une absence de floculation. Vingt quatre heures après préparation, les tailles des émulsions en présence du SDS restent statistiquement identiques à celles fraîchement préparées. Cela se visualise d'avantage avec l'indice de floculation qui augmentent entre le  $t_{0h}$  et  $t_{24h}$  des émulsions aux pH 3,0 ; 5,0 et 7,0. Cette floculation est plus poussée au pH 5 qui semble être plus proche du point isoélectrique du concentrat de protéines et où les protéines sont moins solubles. Au pH 7,0, la floculation n'est pas suivie de la coalescence alors qu'en général, la coalescence et la floculation des émulsions se déroulent simultanément lors le stockage comme on l'observe aux pHs 3,0 et 5,0. Ceci montre bien que les gouttelettes d'émulsions conservent bien leurs individualités et peuvent être redispersées par simple agitation ou ajout de SDS. Au pH 9,0, les phénomènes de floculation et de coalescence ne sont pas observés.

#### III.4.3. Conclusion partielle

Les protéines des extraits aqueux des larves de *Rhynchophorus phoenicis* aux pH 9,0 et 10,0 possèdent d'excellentes propriétés émulsifiantes. Elles peuvent être utilisées pour former des émulsions stables à ces pH. Elles ne sont cependant pas indiquées pour des applications alimentaires, mais pourraient trouver des applications dans un domaine tel que le cosmétique. Les propriétés émulsifiantes sont influencées par la présence des acides gras libres qui sont co-extraits avec les protéines et qui par saponification, participent à la formation des émulsions. Elles sont aussi influencées par le type de protéines extraites à ces pH. Les émulsions à base de concentrat de protéines de larves de *R. phoenicis* permettent quant à elles de former les émulsions dont le diamètre moyen pondéré en volume est inférieure à 5  $\mu\text{m}$  quelque soit le pH. Elles sont plus appropriées pour une application alimentaire.

# CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

---

## CONCLUSION GÉNÉRALE, RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES

### CONCLUSION GÉNÉRALE

Ce travail avait pour objectif de caractériser quelques paramètres nutritionnels et quelques propriétés fonctionnelles de trois insectes consommés au Cameroun (les larves de *Rhynchophorus phoenicis*, les chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*I. epimethea*). Il ressort que :

Les larves de *Rhynchophorus phoenicis* sont riches en lipides avec une teneur se situant autour de 20 g/100 g d'insectes frais. Cette teneur en lipides est supérieure à celle de la plupart des produits animaux. Les chenilles *Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea* sont très riches en protéines avec une teneur se situant autour de 20 g/100 g d'insectes frais. Cette teneur est également supérieure à celle de la plupart des produits animaux. Les protéines des trois insectes présentent une teneur en acides aminés indispensables totaux supérieure à celle de la protéine de référence de la FAO. Pour ce qui est de la teneur en acides gras, les chenilles d'*I. truncata* et d'*I. epimethea* contiennent des acide gras essentiels et particulièrement de l'acide alpha linoléique avec des teneurs variant de  $1,89 \pm 0,15$  à  $2,16 \pm 0,13$  g/100 g d'insectes frais. Une consommation de 100 g de larves (permettrait donc de couvrir les besoins journaliers recommandés).

Les paramètres morphologiques et le profil lipidique des larves de *Rhynchophorus phoenicis* dépendent des conditions de croissance et du morphotype de la larve. La composition en acides aminés n'est pas quant à elles influencées par ces paramètres. Les larves jaunes se développant sur les troncs de palmier *Raphia monbuttorum* sont plus riches en lipides, en acides gras insaturés, en caroténoïdes et en énergie que les larves blanches se développant sur les troncs de palmier *Raphia hookeri*. La couleur jaune des larves jaunes sauvages pourrait être due à leurs teneurs élevées en caroténoïdes par comparaison avec les larves blanches. Les larves d'élevages ont des paramètres morphométriques plus petits que les larves sauvages et une moindre teneur en lipides, ce qui peut être lié à leurs conditions de croissance (aliments, température, humidité, ...) mais aussi à leur âge (25 jours pour les larves d'élevages contre 30 jours pour les larves sauvages). De manière générale, l'élevage des larves blanches influence leur composition proximale, mais pas leur composition en autres nutriments. Les deux morphotypes de larves présentent des différences de composition nutritionnelle.

L'analyse de l'aptitude au stockage et à la conservation des insectes évaluée par la mesure de l'activité de l'eau des farines obtenues par lyophilisation et par la réalisation des isothermes d'adsorptions. Les isothermes d'adsorption des farines sont de type II pour la plupart, excepté celles des farines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* qui sont de type III aux températures de 20 et 30°C. A 30°C, la teneur en eau limite de séchage selon le modèle de GAB est de 4,5 g/100 g MH chez les larves de *R. phoenicis* ; 3,7 g/100 g MH chez les chenilles *I. truncata* et 3,6 g/100 g MH chez les chenilles *I. epimethea*. Ces teneurs en eau permettent la stabilité chimique, microbiologique et enzymatique des farines des insectes étudiés. La chaleur isostérique nette de sorption est plus faible chez les larves de *R. phoenicis* et plus élevée chez les larves d'*I. truncata*.

Les extraits aqueux de protéines et le concentrat de protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* ont des aptitudes à former des émulsions plus ou moins stables selon le pH. Les extraits aqueux de protéines des larves de *R. phoenicis*, aux pH basiques (pH 9,0 et 10,0) présentent d'excellentes propriétés émulsifiantes. Elles orientent l'utilisation de ces émulsions vers une application non alimentaire telle que le cosmétique. Les émulsions à base de concentrat de protéines (90/10 ; eau/huile ; 7,2 mg concentrat de protéines/mL de phase aqueuse) ont des diamètres moyen pondérés en volume inférieure à 5 µm quelque soit le pH. Ces émulsions sont appropriées pour une application alimentaire.

## RECOMMANDATIONS

Au terme de ce travail, les recommandations suivantes peuvent être formulées :

La consommation des larves de *Rhynchophorus phoenicis* parce qu'elles sont une excellente source d'énergie ; et des chenilles d'*Imbrasia truncata* et d'*Imbrasia epimethea* parce qu'elles sont d'excellentes sources de protéines, d'acides aminés indispensables et d'acides gras indispensables.

Le financement de la recherche par les organismes et pouvoirs publics, pour permettre d'améliorer d'une part l'élevage des larves de *Rhynchophorus phoenicis* en utilisant des substrats plus conventionnel (farines végétales par exemple).

Aux petites et moyennes entreprises, la production des farines d'insectes en tenant compte pour chaque température de conservation, de la teneur en eau limite de séchage obtenu dans cette étude. Ceci permettra la stabilité organoleptique, microbiologique, chimique et enzymatique du produit.

Aux industriels, l'utilisation des extraits protéiques des larves de *Rhynchophorus phoenicis* dans certaines formulations alimentaires telles que les émulsions pour permettre leur stabilité.

### PERSPECTIVES

Dans la suite de ce travail, nous nous proposons de :

Rechercher les conditions optimales d'extraction des lipides empêchant lipolyse des triacylglycérols des chenilles *Imbrasia* et étudier la digestibilité des protéines des trois insectes afin de mieux apprécier leur qualité alimentaire ;

Faire une étude sur l'influence de la nature du substrat et de certains facteurs de croissance (température, humidité...) sur la composition nutritionnelle des larves de *Rhynchophorus phoenicis* ; étudier l'effet d'un substrat sur les paramètres nutritionnels des larves jaunes et blanches afin de mieux apprécier les différences entre les deux morphotypes;

Réaliser des enquêtes alimentaires pour définir les conditions de consommation, les conditions technologiques d'utilisations et de conservation des insectes. Faire des tests de conservation de poudres d'insectes aux températures allant de 20 – 40°C et suivre quelques marqueurs biochimiques, nutritionnels, sensoriels et microbiologiques d'évolution ; déterminer les isothermes de désorption de poudres d'insectes pour permettre d'observer le phénomène d'hystérésis et prédire les conditions de séchage des insectes;

Faire varier la force ionique des émulsions, et étudier l'influence de différents cations, de la température sur les propriétés émulsifiantes des protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* ; étendre l'étude des propriétés fonctionnelles des protéines aux propriétés gélifiantes et moussantes ; et formuler de plats ou aliments composites avec les insectes broyés et/ou les poudres d'insectes et d'autres matières premières locales.

# **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

---



## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Achu Mercy, B. L., Yisa Njowe, K. B., & Kana Sop, M. M. (2017). Preliminary proximate composition and mineral contents of Five edible insects from Cameroon. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(3), 1984–1995.
- Ackman, R. (1993). *Application of GLC to lipid separation and analysis: qualitative and quantitative analysis*. In E.G. Perkins (Ed.), *Analysis of fats, oils, and derivatives*. American Oil Chemists' Society Urban (IL, USA), pp. 270–300.
- Adeyeye, E. I. (2017). Studies on the lipid composition of two types of african palm grubs consumed in Nigeria. *EC Nutrition*, 7(3), 124–138.
- Agromisa. (2015). *Insectes comestibles en Afrique. Introduction à la collecte, au mode de préparation et à la consommation des insectes*. Fondation Agromisa et CTA, Wageningen, 1 - 81.
- Akinnawo O, & Ketiku, A. (2000). Chemical composition and fatty acid profile of edible larva of *Cirina forda* (Westwood). *African Journal of Biomedical Research*, 3, 93–96.
- Akoh, C. C., & Min, D. B. (2008). *Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology*. (C. C. Akoh & D. B. Min, Eds.) (CRC Press). Boca raton, London, New York: Taylor & Francis Group. pp. 1 - 914.
- Akpossan, R., Digbeu, Y. D., Parfait, J., Eugène, N., Dabonné, S., Dué, E. A., & Kouamé, L. P. (2014). Nutritional characteristics of the caterpillars ( *Imbrasia oyemensis* ) from Côte d ' Ivoire. *International Journal of Recent Biotechnology*, 2(3), 1–5.
- Akpossan, R., Digbeu, Y., Koffi, M., Kouadio, J., Dué, E., & Kouamé, P. (2015). Protein fractions and functional properties of dried *Imbrasia oyemensis* larvae full-fat and defatted flours. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 5(2), 116–126.
- Alamu, O., Amao, A. ., Nwokedi, C., Oke, O., & Lawa, I. . (2013). Diversity and nutritional status of edible insects in Nigeria : A review. *International Journal of Biodiversity and Conservation*, 5(4), 215–222.
- Albouy, V. (2010). *Les insectes ont-ils un cerveau? 200 clés pour comprendre les insectes*, Editions QUAE, versailles. pp. 1- 199.

- Alleoni, C. C. (2006). Albumen protein and functional properties of gelation and foaming. *Sciences and Agriculture*, 63(3), 291 – 298.
- Anses. (2011). Actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras. *Rapport D'expertise Collective 2011, n°2006-SA-03359 ANC AG*, 323.
- ANSES. (2015). Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'évaluation des apports en vitamines et minéraux issus de l'alimentation non enrichie, de l'alimentation enrichie et des compléments alimentaire dans la population Française: estimation des apports usuels, des prévalences d'inadéquation et des risques de dépassement des limites de sécurité. *Avis de l'Anses Saisine n°2012-SA-0142*, 1–46.
- ANSES. (2016). Table Ciqual French food composition version 2016. Retrieved 12 June 2017 from <https://pro.anses.fr/tableciqual/>.
- AOAC. (1996). Official methods of analysis of AOAC International, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA.
- Atuahene, C. C., Adjei, M. B., Adu, M. A., Quaye, B., Opare, M. B., & Benney, R. (2017). Evaluating the Potential of Edible Insects (Palm Weevil- *Rhynchophorus phoenicis* larvae) as an alternative protein source for humans evaluating the potential of edible insects (Palm Weevil- *Rhynchophorus Phoenicis* larvae) as an alternative protein source. *Journal of Animal Science Advances*, 7(3), 1897–1901.
- Ayieko, M. A., Kinyuru, J. N., Ndong, M. F., Kenji, G. M., & Box, P. O. (2012). Nutritional value and consumption of black ants (*Carebara vidua* Smith) from the lake victoria region in Kenya. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 4(1), 39–45.
- Azagoh, C., Ducept, F., Garcia, R., Rakotozafy, L., Cuvelier, M., & Keller, S. (2016). Extraction and physicochemical characterization of *Tenebrio molitor* proteins. *Food Research International*, 88, 24–31.
- Azzollini, D., Derossi, A., Fogliano, V., Lakemond, C. M. M., & Severini, C. (2018). Effects of formulation and process conditions on microstructure, texture and digestibility of extruded insect-riched snacks. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 45, 344–353.
- Azzollini, D., Derossi, A., & Severini, C. (2016). Understanding the drying kinetic and hygroscopic behaviour of larvae of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) and the effects on their quality. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1, 1–11.

- Balinga, M. P., Monzambe Mapunzu, P., Moussa, J. B., & N'gasse, G. (2004). *Contribution des insectes de la forêt à la sécurité alimentaire: l'exemple des chenilles d'Afrique Centrale*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, pp.117. Retrieved on 14 march 2015 from <http://www.fao.org/docrep/019/j3463f/j3463f.pdf>.
- Banjo, A. D., Aina, S. A., & Salau, A. R. (2013). Shelf life and heavy metals study of two common edible insects in Ijebu division, south western, Nigeria. *Journal of Biology and Life Science*, 4 (1), 18–23.
- Banjo, A. D., Lawal, O. A., & Songonuga, E. A. (2006). The nutritional value of fourteen species of edible insects in southwestern Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 5(3), 298–301.
- Barker, D., Fitzpatrick, M. P., & Dierenfeld, E. S. (1998). Nutrient composition of selected whole invertebrates. *Zoo Biology*, 17, 123–134.
- Barroso, F. G., Haro, C. De, Sánchez-muros, M., Venegas, E., Martínez-sánchez, A., & Pérez-bañón, C. (2014). The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture*, 422-423, 193–201.
- Basu, S., Shivhare, U. S., & Mujumdar, A. S. (2006). Models for sorption isotherms for foods : A review models for sorption isotherms for foods : a review. *Drying Technology*, 24, 917–930.
- Belitz, H. D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry. 4th revised and extended edition* (Springer). Berlin Heidelberg. pp. 1 - 1070.
- Belluco, S., Losasso, C., Maggioletti, M., Alonzi, C. C., Paoletti, M. G., & Ricci, A. (2013). Edible insects in a food safety and nutritional perspective: a critical review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(3), 296–313.
- Bender, D. A. (2003). *Nutritional biochemistry of the vitamins*, Cambridge University Press, New York, USA, pp. 1- 488.
- Bligh, E. . G., & Dyer, W. . J. (1959). A rapid method for total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemical Physiology*, 37, 911–917.
- Bodenheimer, F. (1951). *Insects as human food: a chapter of the ecology of man* (The Hague). Junk. pp. 355.
- Bosch, G., Zhang, S., Oonincx, D. G., & Hendriks, W. H. (2014). Protein quality of insects as potentiel ingredients for dog and cat foods. *Journal of Nutritional Science*, 3(29), 1–4.
- Bottier, C., Géan, J., Artzner, F., Desbat, B., Pézolet, M., Renault, A., Vié, V. (2007). Galactosyl headgroup interactions control the molecular packing of wheat lipids in

- Langmuir films and in hydrated liquid-crystalline mesophases. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1768, 1526–1540.
- Brunauer, S., Emmett, P. H., & Teller, E. (1938). Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemical Society*, 60, 309–319.
- Bukkens, S. G. F. (1997). The nutritional value of edible insects. *Ecology of Food and Nutrition*, 36(2-4), 287–319.
- Bußler, S., Rumpold, B., Jander, E., Rawel, H. M., & Schlüter, O. K. (2016). Recovery and techno-functionality of flours and proteins from two edible insect species : Meal worm ( *Tenebrio molitor* ) and ... Recovery and techno- functionality of flours and proteins from two edible insect species : Meal worm (*Tenebrio molitor*) and. *Heliyon*, 2, 1 – 24.
- Cabra, V., Arreguin, R., & Farrés, A. (2008). Emulsifying properties of proteins. *Sociedad Química de México*, 2(2), 80–89.
- Caparros Megido, R., Sablon, L., Geuens, M., Brostaux, Y., Alabi, T., Blecker, C., Drugmand, D., Haubruge, E., Francis, F. (2014). Edible insects acceptance by belgian consumers: Promising attitude for entomophagy development. *Journal of Sensory Studies*, 29(1), 14–20.
- Chakravorty, J., Ghosh, S., Jung, C., & Meyer-rochow, V. B. (2014). Nutritional composition of *Chondacris rosea* and *Brachytrupes orientalis* : Two common insects used as food by tribes of Arunachal Pradesh , India. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 17(3), 407–415.
- Chakravorty, J., Ghosh, S., Megu, K., Jung, C., & Meyer-rochow, V. B. (2016). Nutritional and anti-nutritional composition of *Oecophylla smaragdina* (Hymenoptera : Formicidae) and *Odontotermes sp.* (Isoptera : Termitidae): two preferred edible insects of Arunachal Pradesh , India. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 19(3), 711–720.
- Charrondièrre, U. R., Rittenschober, D., Nowak, V., & Stadlmayr, B. (2012). FAO/INFOODS Analytical Food Composition Database Version 1.0 – AnFoodD1.0.
- Che Man, Y. B., Haryati, T., Ghazali, H. M., & Asbi, B. A. (1999). Composition and thermal profile of crude palm oil and its products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(2), 237–242.
- Cito, A., Longo, S., Mazza, G., Dreassi, E., & Francardi, V. (2017). Chemical evaluation of the *Rhynchophorus ferrugineus* larvae fed on different substrates as human food source. *Food Science and Technology International*, 0(0), 1–11.
- Cozzone, A. J. (2002). Proteins : Fundamental Chemical Properties. *Encyclopedia of Life Sciences*, 1–10.

- Damodaran, S. (1996). *Amino acids, peptides and proteins*. In *Food Chemistry*, Owen R. Fennema, New York-Basel-Hong kong , pp. 321–429).
- Damodaran, S. (2005). Protein stabilization of emulsions and foams. *Journal of Food Science*, 70(3), 54–66.
- De Laage de Meux, R. (2017). *Outils moléculaires de traçabilité pour l'élevage du charançon des palmiers en Afrique tropicale*. Mémoire de master. Biologie (Spécialisation Écologie Tropicale), Université Pierre et Marie Curie, Paris, France. pp. 1- 43.
- DeFoliart, G. R. (1992). Insects as human food. *Crop Protection*, 11(5), 395–399.
- Del Valle, F. R., & Mena, M. H. (1982). An investigation into insect protein. *Journal of Food Processing and Preservation*, 6(1982), 99–110.
- Delvare, G., & Aberlenc, H.-P. (1989). *Les insectes d'Afrique et d'Amérique tropicale. Clés pour la reconnaissance des familles*, CIRAD-GERDAT. Montpellier.
- Dembilio, Ó., & Jaques, J. A. (2015). *Biology and management of red palm weevil*. In *sustainable pest management in date palm: current status and emerging challenges*. Springer International Publishing, Switzerland, pp. 13–37.
- Dounias, E. (2003). *L'exploitation méconnue d'une source connue: la collecte des larves comestibles de charançons dans les palmiers raphia au Sud du Cameroun*. In, *Les Insectes dans la tradition orale*, M. F. Elisabeth & J. M. C. Thomas, pp. 259–278.
- Dumas, J. B. A. (1831). Procédés de l'analyse organique. *Annales de Chimie et de Physique* , 2(47), 198–213.
- Ebenebe, C. I., Okpoko, V. O., Ufele, A. N., & Amobi, M. I. (2017). Survivability, growth performance and nutrient composition of the african palm weevil (*Rhynchophorus phoenicis* Fabricius) reared on four different substrates. *Journal of Bioscience and Biotechnology Discovery*, 2, 1–9.
- Edijala, J. K., Egbogbo, O., & Anigboro, A. A. (2009). Proximate composition and cholesterol concentrations of *Rhynchophorus phoenicis* and *Oryctes monoceros* larvae subjected to different heat treatments. *African Journal of Biotechnology*, 8(10), 2346–2348.
- EFSA. (2010). Scientific opinion on dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *Efsa Journal*, 8(3), 1–107.
- EFSA. (2012). Scientific opinion on dietary reference values for protein. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). *EFSA Journal*, 10(2), 108.

- Ekpo, K. E. (2010). Nutrient composition, functional properties and anti-nutrient content of *Rhynchophorus Phoenicis* (F) Larva. *Annals of Biological Research*, 1(1), 178–190.
- Ekpo, K. E. (2011). Nutritional and biochemical evaluation of the protein quality of four popular insects consumed in Southern Nigeria. *Archives of Applied Science Research Arch. Appl. Sci. Res*, 3(36), 24–40.
- Ekpo, K. E., Azeke, M. A., & Ugbenyen, A. M. (2008). Functional properties of dried *Imbrasia belina* larvae flour as affected by mesh size and pH. *Nigerian Annals of Natural Sciences*, 8(1), 6–9.
- Ekpo, K. E., & Onigbinde, A. O. (2005). Nutritional potentials of the larva of *Rhynchophorus phoenicis* (F). *Pakistan Journal of Nutrition*, 4(5), 287–290.
- Ekpo, K. E., Onigbinde, A. O., & Asia, I. O. (2009). Pharmaceutical potentials of the oils of some popular insects consumed in southern Nigeria. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3(2), 051–057.
- Elemo, B. O., Elemo MA., G. N. M., Erukainure, O. L., Elemo, G. N., & Makinde, M. a. (2011). Chemical evaluation of African palm weevil, *Rhynchophorus phoenicis*, larvae as a food source. *Journal of Insect Science*, 11(146), 1–6.
- Eshraghi, S., & Seifollahi, F. (2003). Antibacterial effects of royal jelly on different strains of bacteria. *Iranian Journal of Public Health*, 32(1), 22 – 30.
- FAO. (1970). *Amino-acid content of foods and biological data on proteins*. Rome. Retrieved July 12, 2017 from: <http://www.fao.org/docrep/005/AC854T/AC854T00.htm#TOC1>
- FAO. (2010). Forest insects as food : humans bite back. In P. B. Durst, D. V Johnson, R. N. Leslie, & K. Shono (Eds.), *Workshop on Asia-Pacific resources and their potential for development* (p. 231). Bangkok.
- FAO, & WHO. (2001). *Human Vitamin and Mineral Requirements. Report of a joint FAO/WHO expert consultation Bangkok*, Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Food and Nutrition Division, FAO Rome, pp.1-286.
- Fast, P. G. (1966). A comparative study of the phospholipids and fatty acids of some insects. *Lipids*, 1(3), 209–215.
- Ferradji, A., Matallah, M. A., & Malek, A. (2008). Conservation des dattes “Deglet Nour” Isothermes d’adsorption à 25, 30 et 40 °C. *Revue Des Energies Renouvelables*, 207–219.
- Firestone, D. (2013). *Physical and chemical characteristics of oils, fats, and waxes*. D. Firestone, AOCS Press, Urbana, pp. 1-289.

- Finke, M. D., (2002). Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biology*, 21, 269–285.
- Folch, J., Lees, M., Stanley, G. H. S., & Sloane Stanley, G. . (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226(1), 497–509.
- Foua, B. F. G., Meite, A., Dally, T., Ouattara, H., & Kati Coulibaly, S. (2016). Biochemical and nutritional study of powder from caterpillars *Imbrasia oyemensis* eaten in west of Côte d'Ivoire. *Sky Journal of Biochemistry Research*, 5(3), 24–30.
- Ganguly, A., Chakravorty, R., Das, M., Gupta, M., Mandal, D. K., Haldar, P., Bengal, W. (2013). A preliminary study on the estimation of nutrients and anti-nutrients in *Oedaleus abruptus* (Thunberg) (Orthoptera : Acrididae). *International Journal of Nutrition and Metabolism*, 5, 50–56.
- Gbogouri, G. A., Beugre, G. A. M., Brou, K., Atchibri, O. A., & Linder, M. (2013). *Rhynchophorus palmarum* larvae, an edible insect in Côte d'Ivoire: nutritional value and characterization of the lipid fraction. *International Journal of Chemical Sciences*, 11(4), 1692–1704.
- Genot, C., Kabri, T. H., & Meynier, A. (2013). *Stabilisation of omega-3 oils and enriched foods using emulsifiers*. In *Food Enrichment with Omega-3 Fatty Acids*. C. Jacobsen, N. S. Nielsen, A. Frisenfeldt Hom, & A.-D. Moltke Sorensen, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, pp. 150–193.
- Ghazaei, S., Mizani, M., Piravi-vanak, Z., & Alimi, M. (2015). Particle size and cholesterol content of a mayonnaise formulated by OSA-modified potato starch. *Food Science and Technology*, 35(1), 150–156.
- Ghioni, C., Bell, J. G., & Sargent, J. R. (1996). Polyunsaturated fatty acids in neutral lipids and phspholipids of some freshwater insects. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 114(2), 161–170.
- Ghosh, S., Jung, C., & Meyer-rochow, V. B. (2016). Nutritional value and chemical composition of larvae, pupae, and adults of worker honey bee, *Apis mellifera ligustica* as a sustainable food source. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 19(2), 487–495.
- Gould, J., & Wolf, B. (2018). Interfacial and emulsifying properties of mealworm protein at the oil/water interface. *Food Hydrocolloids*, 77, 57–65.

- Haque, M. A., Timilsena, Y. P., & Adhikari, B. (2016). Food proteins, structure, and function. *Reference Module in Food Science*, 1–8.
- Hashimoto, K., Yoshizawa, A. C., Okuda, S., Kuma, K., & Goto, S. (2008). The repertoire of desaturases and elongases reveals fatty acid variations in 56 eukaryotic genomes. *Journal of Lipid Research*, *49*, 183–191.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., & Jeremy, R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *The Royal Society*, *270*, 313–321.
- Helmkampf, M., Cash, E., & Gadau, J. (2014). Evolution of the insect desaturase gene family with an emphasis on social hymenoptera. *Molecular Biology and Evolution*, *32*(2), 456–471.
- Idolo, I. (2010). Nutritional and quality attributes of wheat buns enriched with the larvae of *Rhynchophorus phoenicis* F. *Pakistan Journal of Nutrition*, *9*(11), 1043–1046.
- Ifie, I., & Emeruwa, H. (2011). Nutritional and anti-nutritional characteristics of the larvae of *Oryctes monoceros*. *Agriculture and Biology Journal of North America*, *2*(1), 42–46.
- Iglesias, H. A., & Chirife, J. (1976). A model for describing the water sorption behavior of foods. *Journal of Food Science*, *41*, 984–992.
- Janssen, R. H., Vincken, J. P., van den Broek, L. A. M., Fogliano, V., & Lakemend, C. (2017). Nitrogen-to-protein conversion factors for three edible insects : *Tenebrio molitor*, *Alphitobius*, and *Hermetia illucens*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*, 2275–2278.
- Jeantet, R., Croguennec, T., Shuck, P., & Brulé, G. (2006). *Science des Aliments. Biochimie-Microbiologie-Procédés- Produits. Stabilisation biologique et physico-chimique*, TEC & DOC, LAVOISIER, LONDRES - PARIS - NEW-YORK.
- Jonas-levi, A., & Martinez, J. I. (2017). The high level of protein content reported in insects for food and feed is overestimated. *Journal of Food Composition and Analysis*, *62*, 184–188.
- Jongema, Y. (2015). World list of edible insects. Retrieved October 3, 2016, from [http://www.wur.nl/upload\\_mm/7/4/1/ca8baa25-b035-4bd2-9fdc-a7df1405519a\\_World list edible insects 2015.pdf](http://www.wur.nl/upload_mm/7/4/1/ca8baa25-b035-4bd2-9fdc-a7df1405519a_World_list_edible_insects_2015.pdf)
- Juaneda, P., Rocquelin, G., 1985. Rapid and convenient separation of phospholipids and non phosphorus lipids from rat heart using silica cartridges. *Lipids* *20* (1), 40–41.



- Kabri, T. H., Meynier, A., Bontemps, D., Gaillard, C., Foucat, L., Linder, M., & Genot, C. (2013). Formulation of sub-micron emulsions containing docosahexaenoic acid esterified in triacylglycerols or phospholipids. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(11), 1294–1308.
- Kakou, K. E., Akmel, D. C., Abouo, N. G. V., Assidjo, N. E., & Niamké, L. S. (2015). Isotherme d'adsorption d'eau des feves de cacao (*Theobroma cacao L*). *European Scientific Journal*, 11(12), 355–370.
- Kamau, E., Mutungi, C., Kinyuru, J., Imathiu, S., Tanga, C., A, H., Fiaboe, K. K. M. (2018). Moisture adsorption properties and shelf-life estimation of dried and pulverised edible house cricket *Acheta domesticus* (L) and black soldier fly larvae *Hermetia illucens* (L.). *Food Research International*, 106, 420–427.
- Kates, M. (1972). *Techniques for separation of lipid mixtures*. In, *Techniques of lipidology: Isolation, analysis and identification of lipids (series 'Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology)*, T. S. Work & E. Work, North-Holland Publishing Company, Amsterdam, pp. 398–404.
- Kato, A., Osako, Y., Matsudomi, N., & Kobayashi, K. (1983). Changes in the emulsifying and foaming properties of proteins during heat denaturation. *Agricultural and Biological Chemistry*, 47(1), 33–37.
- Khadraoui, Y., & Terfous, A. (2000). Normalisation des isothermes de sorption des différents types de riz. *Revue Des Energies Renouvelables*, 3, 85–92.
- Kinyuru, J. N., Kenji, G. M., Muhoho, S. N., & Ayieko, M. (2007). Nutritional potential of longhorn grasshopper. *Journal of Agriculture, Science and Technology*, 32–46.
- Kinyuru, J. N., Mogendi, J. B., Riwa, C. A., & Ndung'u, N. W. (2015). Edible insects, a novel source of essential nutrients for human diet: learning from traditional knowledge. *Animal Frontiers*, 5(2), 14–19.
- Klunder, H. C., Wolkers-Rooijackers, J., Korpela, J. M., & Nout, M. J. R. (2012). Microbiological aspects of processing and storage of edible insects. *Food Control*, 26(2), 628–631.
- Kokondi, K., Leclercq, M., Bourgeay-Causse, M., Pascaud, A., & Gaudin-Harding, F. (1987). Intérêt nutritionnel de chenilles d'attacidés du Zaïre: composition et valeur nutritionnelle. *Cahier de Nutrition et de Diététique*, 22(6), 473–477.
- Komprda, T., Zornikova, G., Rozikova, V., Borkovcova, M., & Przywarova, A. (2013). The effect of dietary *Salvia hispanica* seed on the content of n -3 long-chain polyunsaturated

- fatty acids in tissues of selected animal species, including edible insects. *Journal of Food Composition and Analysis*, 32, 36–43.
- Küllenberg, D., Taylor, L. a, Schneider, M., & Massing, U. (2012). Health effects of dietary phospholipids. *Lipids in Health and Disease*, 11(1), 3–18.
- Kwiri, B. R., Winini, C., Muredzi, P., Tongonya, J., Gwala, W., Mujuru, F., & Gwala, S. T. (2014). Mopane Worm (*Gonimbrasia belina*) utilisation, a potential source of protein in fortified blended foods in Zimbabwe: a review. *Global Journal of Science Frontier Research: D Agriculture and Veterinary*, 14(10), 55–67.
- Labuza, T., Mizrahi, S., & Karel, M. (1972). Mathematical models for optimization of flexible film packaging of foods for storage. *Transactions of ASAE*, 15, 150–155.
- Labuza, T. P., & Altunakar, B. (2007). Water activity prediction and moisture sorption isotherms. In *Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications*, G. V. Barbosa-Cánovas, A. J. Fontana Jr, S. J. Schmidt, & T. P. Labuza, Blackwell Publishing and the Institute of Food Technologists, Iowa, Oxford, Victoria, pp. 15 – 29.
- Laemmli, U. K., (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227,: 680-685.
- Latham, P. (2008). *Les chenilles comestibles et leurs plantes nourricières dans la province du Bas-Congo*, Paul Latham, pp. 1 - 44.
- Lenga, A., Mafute, C., & Kinkela, T. (2012). Conservation et étude de la valeur nutritive des larves de *Rhynchophorus phoenicis* (Curculionidae) et *Oryctes rhinoceros* (Scarabeidae ), deux coléoptères d'intérêt alimentaire au Congo-Brazzaville. *International Journal of Biological and Chemical Science*, 6, 1718–1728.
- Liang, H. N., & Tang, C. H. (2013). PH-dependent emulsifying properties of pea [*Pisum sativum* (L.)] proteins. *Food Hydrocolloids*, 33(2), 309–319.
- Lisingo, J., Wetsi, J., & Ntahobavuka, H. (2010). Enquête sur les chenilles comestibles et les divers usages de leurs plantes hôtes dans les districts de Kisangani et de la Tshopo ( R . D . Congo ). *Geo-Eco-Trop*, 34, 139–146.
- Longvah, T., Mangthya, K., & Ramulu, P. (2011). Nutrient composition and protein quality evaluation of eri silkworm (*Samia ricinii*) prepupae and pupae. *Food Chemistry*, 128(2), 400–403.
- Luyten, H., Vereijken, J., & Buecking, M. (2004). *Using proteins as additives in foods: an introduction*. In, *Proteins in food processing*, R. H. Yada, Woodhead Publishing Limited, pp. 421 – 444.

- Mabossy-mobouna, G., Kinkela, T., & Lenga, A. (2017). Apports nutritifs des chenilles d'*Imbrasia truncata* consommées au Congo-Brazzaville. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 31(3), 5050–5062.
- Mabossy-Mobouna, G., Kinkela, T., Lenga, A., & Malaisse, F. (2013). *Imbrasia truncata Aurivillius* (Saturniidae): importance en Afrique Centrale, commercialisation et valorisation à Brazzaville. *Geo-Eco-Trop*, 37(2), 313–330.
- Maldjian, A., Cristofori, C., Noble, R. C., & Speake, B. K. (1996). The fatty acid composition of brain phospholipids from chicken and duck embryos. *Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology*, 115(2), 153–158.
- Masson, G., & Jost, R. (1986). A study of oil-in-water emulsions stabilized by whey proteins. *Colloid and Polymer Science*, 638, 631–638.
- McClements, D. J. (2004). Protein-stabilized emulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 9(5), 305–313.
- McClements, J., & Weiss, J. (2005). *Lipid Emulsions*. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, Fereidoon Shahidi, pp. 457-502. Retrieved on 25 July 2016 from <http://doi.org/10.3989/gya.2000.v51.i1-2.404>
- Meutchieye, F., Tsafo, K. E. C., & Niassy, S. (2016). Inventory of edible insects and their harvesting methods in the Cameroon centre region. *Journal of Insects as Food and Feed*, 2(3), 145–152.
- Meyer-rochow, V. B. (1975). Can insects help to erase the problem of world food shortage? *ANZAAS Conference*, 6(7), 261 – 262.
- Meynier, A., & Genot, C. (2017). Molecular and structural organization of lipids in foods: their fate during digestion and impact in nutrition. *Oilseeds Fats Crops and Lipids*, 24(2), 1–12.
- Michalski, M. C., Genot, C., Gayet, C., Lopez, C., Fine, F., Joffre, F., Raynal-Ljutovac, K. (2013). Multiscale structures of lipids in foods as parameters affecting fatty acid bioavailability and lipid metabolism. *Progress in Lipid Research*, 52(4), 354–373.
- Mignon, J. (2002). L'entomophagie: une question de culture? *Tropicultura*, 20(3), 151–155.
- Monzenga Lokela, J. C., Le Goff, J. G., Kayisu, K., & Hance, T. (2017). Influence of substrates on the rearing success of *Rhynchophorus phoenicis* (Fabricius). *African Journal of Food Science and Technology*, 8(1), 7–13.

- Morrison, W. R., & Smith, L. M. (1964). Preparation of fatty acid methyl esters and dimethyl acetals from lipids with boron trifluoride methanol. *Journal of Lipid Research*, 5(1 3), 600–608.
- Muafor, F. J., Le Gall, P., & Levang, P. (2014). *Improving rural livelihoods through participative research on the domestication and breeding of the palm weevil larvae (Rhynchophorus phoenicis Fabr.)* The African palm weevil project : final project report. CIFOR - LIFT - IRD, pp; 1- 22. Retrieved from <http://www.documentation.ird.fr/hor/fdi:010062139AN> - Centre IRD de Bondy
- Muafor, J. F., Ayemele, G. A., Le Gall, P., & Levang, P. (2015). *Exploitation , trade and farming of palm weevil grubs in Cameroon* Exploitation , trade and farming of palm weevil grubs in Cameroon. LIFT,-CIFOR, Bogor-Indonesia. retrieved on 22 march 2016 on <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.17528/cifor/005626> Fogoh
- Muafor, J. F., Ayemele Kenfack Gnetegha, A., & Levang, P. (2016). *Promoting the farming of edible larvae of palm weevils ( Rhynchophorus spp.) as an alternative to sustain rural livelihoods and community based conservation in Cameroon humid forest regions*. Final Project Report. CIFOR-LIFT-IRD. Retrieved august 22, 2017 from:<http://212.129.17.143/wp-content/uploads/2016/09/INSECT-FARMING-PROJECT-REPORT.pdf>
- Nehete, J. Y., Bhambar, R. S., Narkhede, M. R., & Gawali, S. R. (2013). Natural proteins : Sources, isolation, characterization and applications. *Pharmacognosy Review*, 7(14), 107–116.
- Niaba Koffi, P., Gbogouri Grodji, A., Beugre Avit, G., Archibri, O., & Gnakri, D. (2011). Potentialités nutritionnelles du reproducteur ailé du termite *Macrotermes subhyalinus* capturé à Abobo-doumé, Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 40, 2706–2714.
- Nowak, V., Persijn, D., Rittenschober, D., & Charrondiere, U. R. (2016). Review of food composition data for edible insects. *Food Chemistry*, 193, 39–46.
- Nzikou, J. M., Mbemba, F., Mvoula-Tsiéri, M., Diabangouaya-Batéla, B., Malela, K. E., Kimbonguila, A., Desobry, S. (2010). Characterisation and nutritional potentials of *Rhynchophorus phoenicis* larva consumed in Congo-Brazzaville. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 2(3), 189–194.
- Ogbalu, O. K., & Williams, J. O. (2015). The edibility , methods of preparation of the raphia palm beetle, *Rhynchophorus Phoenicis* [Coleoptera : Curculionidae] in the niger delta and

- associated microorganisms. *IOSR-Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 10(1), 125–129.
- Ogbuagu, M. N., Ohondu, I., & Nwigwe, C. (2011). Fatty acid and amino acid profiles of the larva of raffia palm weevil : *Rhynchophorus phoenicis* . *The Pacific Journal of Science and Technology*, 12(2), 392–400.
- Ojinnaka, M. C., Emeh, T. C., & Okorie, S. U. (2016). Evaluation of the quality of composite maize-wheat chinchin enriched with *Rhynchophorous phoenicis*. *Journal of Food Research*, 5(4), 26–35.
- Ojinnaka, M. C., Ukah, N., & Okorie, S. U. (2015). Production and quality evaluation of wheat cookies enriched with edible african termites. *Journal of Biological Sciences and Bioconservation*, 7(1), 55–74.
- Okangola, E., Solomo, E., Tchatchambe, W. B., Mate, M., Upoki, A., Dudu, A., Ngbolua, K.-N. (2016). Valeurs nutritionnelles des chenilles comestibles de la ville de Kisangani et ses environs (Province de la Tshopo, République Démocratique du Congo). *International Journal of Innovation and Scientific Research*, 25(1), 278–286.
- Okaraonye, C. C., & Ikewuchi, J. C. (2008). *Rhynchophorus phoenicis* (F) larva meal: nutritional value and health implications. *Journal of Biological Sciences*, 8(7), 1221–1225.
- Omotoso, O. T. (2006). Nutritional quality, functional properties and anti-nutrient compositions of the larva of *Cirina forda* (Westwood) (Lepidoptera : Saturniidae). *Journal of Zhejiang University Science B*, 7(1), 51–55.
- Omotoso, O. T., & Adedire, C. O. (2007). Nutrient composition, mineral content and the solubility of the proteins of palm weevil, *Rhynchophorus phoenicis* f. (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Zhejiang University Science. B*, 8(5), 318–322.
- Onyeike, E. N., Ayalogu, E. O., & Okaraonye, C. C. (2005). Nutritive value of the larvae of raphia palm beetle (*Oryctes rhinoceros*) and weevil (*Rhynchophorus pheonicis*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(11), 1822–1828.
- Oonincx, D. G. A. B. (2015). *Insects as food and feed: Nutrient composition and environmental impact*. Ph.D Thesis, Wageningen University, pp 1- 198.
- Oonincx, D. G. A. B., van Broekhoven, S., van Huis, A., & van Loon, J. J. A. (2015). Feed conversion, survival and development, and composition of four insect species on diets composed of food by-products. *Plos One*, 10(12), 1–20.

- Osasona, A. I., & Olaofe, O. (2010). Nutritional and functional properties of *Cirina forda* larva from Ado-Ekiti, Nigeria. *African Journal of Food Science*, 4(12), 775–777.
- Ouafi, N., Moghrani, H., Benaouada, N., Yassaa, N., Maachi, R., & Younsi, R. (2015). Moisture sorption isotherms and heat of sorption of algerian bay leaves (*Laurus nobilis*). *Ciencia Y Tecnologia*, 17(4), 759–772.
- Pasupuleti, V. R., Sammugam, L., Ramesh, N., & Gan, S. H. (2017). Review article honey , propolis , and royal jelly : a comprehensive review of their biological actions and health benefits. *Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1 – 21.
- Payne, C. L., Scarborough, P., Rayner, M., & Nonaka, K. (2015). A systematic review of nutrient composition data available for twelve commercially available edible insects, and comparison with reference values. *Trends in Food Science & Technology*, 47, 69–77.
- Payne, C., Scarborough, P., Rayner, M., & Nonaka, K. (2015). Are edible insects more or less “ healthy ” than commonly consumed meats ? A comparison using two nutrient pro fi ling models developed to combat over- and undernutrition. *European Journal of Clinical Nutrition*, 70(3), 285–291.
- Pel, A. (2001). Fatty acids: a versatile and sustainable source of raw materials for the surfactants industry. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 8(2), 145–151.
- Peleg, M. (1993). Assessment of a semi-empirical four parameter general model for sigmoid moisture sorption isotherms. *Journal of Food Process Engineering*, 16, 21–37.
- Premalatha, M., Abbasi, T., Abbasi, T., & Abbasi, S. A. (2011). Energy-efficient food production to reduce global warming and ecodegradation: The use of edible insects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(9), 4357–4360.
- Purschke, B., Mendez Sanchez, Y. D., & Jäger, H. (2018). Centrifugal fractionation of mealworm larvae (*Tenebrio molitor* , L.) for protein recovery and concentration. *LWT - Food Science and Technology*, 89(October 2017), 224–228.
- Purschke, B., Tanzmeister, H., Meinschmidt, P., Baumgartner, S., Lauter, K., & Jäger, H. (2018). Recovery of soluble proteins from migratory locust (*Locusta migratoria*) and characterisation of their compositional and techno-functional properties. *Food Research International*, 106, 271–279.
- Quirijns, E. J., Boxtel, A. J. B. Van, Loon, W. K. P. Van, & Straten, G. Van. (2005). Sorption isotherms, GAB parameters and isosteric heat of sorption. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 1805–1814.

- Raksakantong, P., Meeso, N., Kubola, J., & Siriamornpun, S. (2010). Fatty acids and proximate composition of eight thai edible terricolous insects. *Food Research International*, 43(1), 350–355.
- Ramos-elorduy, J. (2009). Anthro-entomophagy : cultures, evolution and sustainability, 39, 271–288.
- Ramos-elorduy, J., Pino Moreno, J. M., Prado, E. E., Perez, M. A., Otero, J. L., & de Guevara, O. L. (1997). Nutritional value of edible insects from the state of Oaxaca, Mexico. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10, 142–157.
- Rumpold, B. A., & Schlüter, O. K. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular Nutrition and Food Research*, 57(5), 802–823.
- Rustan, A. C., & Drevon, C. a. (2005). Fatty acids: structures and properties. *Encyclopedia of Life Sciences*, 1–7.
- Saad, A., Touati, B., Draoui, B., Tabti, B., Abdenebi, A., & Benaceur, S. (2014). Mathematical modeling of moisture sorption isotherms and determination of isosteric heats of sorption of *Ziziphus* Leaves. *Hindawi Publishing Corporation*, 1-8.
- Sánchez-muros, M., Barroso, F. G., & Manzano-agugliaro, F. (2014). Insect meal as renewable source of food for animal feeding : a review. *Journal of Cleaner Production*, 65, 16–27.
- Sandoval, A. J., Barreiro, J. A., & J, M. A. (2011). Determination of moisture adsorption isotherms of rice flour using a dynamic vapor sorption technique. *Interciencia*, 36(11), 848 – 852.
- Schmidt, S. J. (2007). Water mobility in foods. In, *Water activity prediction and moisture sorption isotherms*, G. V Barbosa-Cánovas, A. J. Fontana, S. J. Schmidt, & T. P. Labuza, Blackwell Publishing and the Institute of Food Technologists, Iowa- Oxford-Victoria, pp. 47–109.
- Schramm, L. L. (2006). *Emulsions, Foams, and Suspensions: Fundamentals and Applications*. *Emulsions, Foams, and Suspensions: Fundamentals and Applications*. retrieved on 22 february 2016 from <http://doi.org/10.1002/3527606750>
- Serpil, S., & Servet Gulum, S. (2006). *Physical properties of food*. D. R. Heldman, D. A. Golden, R. W. Hartel, J. H. Hotchkiss, M. G. Johnson, J. Joseph Montecalvo, L. Silva, Springer Science+Business Media, Ankara, pp. 1 - 267.
- Sihamala, O., Bhulaidok, S., Li-rong, S., & Duo, L. (2010). Lipids and fatty acid composition of dried edible red and black ants. *Agricultural Sciences in China*, 9(7), 1072–1077.

- Simopoulos, A. P. (2004). Omega-6/Omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. *Food Reviews International*, 20(1), 77–90.
- Simopoulos, A. P. (2006). Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 60(9), 502–507.
- Simopoulos, A. P. (2008). The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine*, 233(6), 674–88.
- Simopoulos, A. P. (2010). The omega-6/omega-3 fatty acid ratio: health implications. *Oleagineux Corps Gras Lipides*, 17(5), 267–275.
- Simopoulos, A. P. (2016). An increase in the Omega-6/Omega-3 fatty acid ratio increases the risk for obesity. *Nutrients*, 8(3), 1–17.
- Singh, A. K., & Kumari, N. (2014). Moisture sorption isotherm characteristics of ground flaxseed. *Journal of Food Processing & Technology*, 5(4), 5–7.
- Siriamornpun, S., & Thammapat, P. (2008). Insects as a delicacy and a nutritious food in Thailand. *Using Food Science and Technology to Improve Nutrition and Promote National Development*, 1–11.
- Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. D., Fujimoto, E. K., Goeke, N. M., Olson, B. J., & Klenk, DC.(1985). Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry*, 150, 76-85.
- Smith, S. E. (1947). The sorption of water vapor by high polymers. *Journal of the American Chemical Society*, 69, 646–651.
- Stanley-Samuelson, D. W., Jurenka, R. a., Cripps, C., Blomquist, G. J., & de Renobales, M. (1988). Fatty acids in insects: composition, metabolism, and biological significance. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 9(1), 1–33.
- Sun, C., & Gunasekaran, S. (2009). Effects of protein concentration and oil-phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate with xanthan gum. *Food Hydrocolloids*, 23(1), 165–174.
- Sushchik, N. N., Yurchenko, Y. A., Gladyshev, M. I., Belevich, O. E., Kalachova, G. S., & Kolmakova, A. A. (2013). Comparison of fatty acid contents and composition in major lipid classes of larvae and adults of mosquitoes (Diptera : Culicidae) from a steppe region. *Insect Science*, 20, 585–600.



- Tadros, T. F. (2013). *Emulsion Formation, Stability, and Rheology*, T. F. Tadros, Wiley-VCH Verlag, GmbH & Co. pp 1- 75.
- Taitano, L. Z., & Singh, R. P. (2012). Moisture adsorption and thermodynamic properties of California grown almonds (Varieties : Nonpareil and Monterey). *International Journal of Food Studies*, 1), 61–75.
- Talla, A. (2012). Experimental determination and modelling of the sorption isotherms of Kilishi. *British Journal of Applied Science & Technology*, 2(4), 379–389.
- Tamesse, J. L., Kekeunou, S., Tchatchouang, L. J., Ndegue, O. L. M., Aissatou, L. M., Tombouck, D., & Youssa, B. (2016). Insects as food, traditional medicine and cultural rites in the west and south regions of Cameroon. *Journal of Insects as Food and Feed*, 2(3), 153–160.
- Tanyi Tambe, J., Riolo, P., Okolle, J. N., Isidoro, N., Fanciulli, P. P., & Dallai, R. (2013). Sexual size differences and colour polymorphism of *Rhynchophorus phoenicis* in the southwest region of Cameroon. *Bulletin of Insectology*, 66(1), 153–159.
- Teffo, L. S., Toms, R. B., & Eloff, J. N. (2007). Preliminary data on the nutritional composition of the edible stink-bug, *Encosternum delegorguei Spinola*, consumed in Limpopo province, South Africa. *South African Journal of Science*, 103(11-12), 434–436.
- Tzompa-Sosa, D. A., Yi, L., van Valenberg, H. J. F., van Boekel, M. A. J. S., & Lakemond, C. M. M. (2014). Insect lipid profile: Aqueous versus organic solvent-based extraction methods. *Food Research International*, 62, 1087–1094.
- Vaglia, T., Haxaire, J., Kitching, I. J., Meunier, I., & Rougerie, R. (2008). Morphology and DNA barcoding reveal three cryptic species within the *Xylophanes neoptolemus* and loelia species-groups. *Zootaxa* 1923, 18–36.
- Van Broekhoven, S., Oonincx, D. G. A. B., van Huis, A., & van Loon, J. J. A. (2015). Growth performance and feed conversion efficiency of three edible mealworm species (Coleoptera: Tenebrionidae) on diets composed of organic by-products. *Journal of Insect Physiology*, 73(May), 1–10.
- Van den Berg, C. (1984). Description of water activity of foods for engineering purposes by means of the GAB model of sorption. In *Engineering and Foods*, B. M. McKenna, Elsevier, London, pp. 311–321.
- Van Huis, A. (2013). Potential of insects as food and feed in assuring food security. *Annual Review of Entomology*, 58, 563–583.

- Van Huis, A., Itterbeeck, J. Van, Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G., & Vantomme, P. (2013). *Edible insects. Future prospects for food and feed security. Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 171, 1-201.
- Vantomme, P. (2010). Les insectes forestiers comestibles, un apport protéique négligé. *Unasylva* 236, 61, 19 – 21.
- Varka, E., Tsatsaroni, E., Xristoforidou, N., & Darda, A. (2012). Stability Study of O/W cosmetic emulsions using *Rosmarinus officinalis* and *Calendula officinalis* extracts. *Open Journal of Applied Sciences*, 2, 139–145.
- Viau, M., Genot, C., Ribourg, L., & Meynier, A. (2016). Amounts of the reactive aldehydes, malonaldehyde, 4-hydroxy-2-hexenal, and 4-hydroxy-2-nonenal in fresh and oxidized edible oils do not necessary reflect their peroxide and anisidine values. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118, 435–444.
- Wang, D., Zhai, S. W., Zhang, C. X., Bai, Y. Y., An, S. H., Xu, Y. N., Al, W. E. T. (2005). Evaluation on nutritional value of field crickets as a poultry feedstuff. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 18(5), 667 – 670.
- Wattanapongsiri, A. (1966). *A revision of the genera Rhynchophorus and dynamis (Coleoptera: curculionidae)*, Ph.D thesis in entomology, Oregon State University, pp 1-418.
- Weihrauch, J. L., & Son, Y. S. (1983). Phospholipid content of foods. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 60(12), 1971–1978.
- WHO/FAO. (2007). *Codex Alimentarius. Food Labelling*, World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nation Organization,. Rome. pp. 1 - 41.
- WHO/FAO/UNU. (2007). *Protein and amino acid requirements in human nutrition. World Health Organization technical report series*. Retrieved 27 march 2017 from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18330140>
- Womeni, H. M., Linder, M., Tiencheu, B., Mbiapo, F. T., Villeneuve, P., Fanni, J., & Parmentier, M. (2009). Oils of insects and larvae consumed in Africa: potential sources of polyunsaturated fatty acids. *Oleagineux Corps Gras Lipides*, 16(4), 230–235.
- Womeni, H. M., Tiencheu, B., Linder, M., Nabayo, M. C., Tenyang, N., Tchouanguép, F., Villeneuve, P., Fanni, J., & Parmentier, M. (2012). Nutritional value and effect of cooking , drying and storage process on some functional properties of *Rhynchophorus Phoenicis*. *International Journal of Life Science and Pharma Research*, 2(3), 203–219.
- Wu, G. (2009). Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids*, 37(1), 1–17.

- Xu, Xiang., & Gao, Y. (2013). Isolation and characterization of proteins and lipids from honeybee (*Apis mellifera L.*) queen larvae and royal jelly. *Food Research International*, 54, 330–337
- Yang, L. F., Siriamornpun, S., & Li, D. (2006). Polyunsaturated fatty acid content of edible insects in Thailand. *Journal of Food Lipids*, 13(3), 277–285.
- Yang, Q., Liu, S., Sun, J., Yu, L., Zhang, C., Bi, J., & Yang, Z. (2014). Nutritional composition and protein quality of the edible beetle *Holotrichia parallela*. *Journal of Insect Science*, 14(1), 139–139.
- Yeboah, S. O., & Mitei, Y. C. (2009). Further lipid profiling of the oil from the mophane caterpillar, *Imbrasia belina*. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(11), 1047–1055.
- Yi, J., Zhu, Z., Dong, W., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2013). Influence of free fatty acids on oxidative stability in water-in-walnut oil emulsions. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(9), 1013–1020.
- Yi, L., Lakemond, C. M. M., Sagis, L. M. C., Eisner-Schadler, V., Van Huis, A., & Van Boekel, M. A. J. S. (2013). Extraction and characterisation of protein fractions from five insect species. *Food Chemistry*, 141(4), 3341–3348.
- Zhai, J. li, Day, L., Aguilar, M.-I., & Wooster, T. J. (2013). Protein folding at emulsion oil/water interfaces. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 18(4), 257–271.
- Zhao, X., Vázquez-gutiérrez, J. L., Johansson, D. P., Landberg, R., & Langton, M. (2016). Yellow mealworm protein for food purposes - Extraction and functional properties. *PLoS One*, 11(2), 1–17.
- Zielińska, E., Baraniak, B., Karaś, M., Rybczyńska, K., & Jakubczyk, A. (2015). Selected species of edible insects as a source of nutrient composition. *Food Research International*, 77, 460–466.

# ANNEXES

---

## ANNEXES

### Annexe 1. Produits chimiques utilisés

Solution d'acide D-glucosamique (Ref 0259 >98%), HCl 37%, hydroxyde de barium, DL-norleucine (Ref N1398>99,9%), solution de ninhydrine (Ref 29670511), solution de BF<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH(14%) fournis par Sigma-Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France). Solvant d'élution pour l'analyse des acides aminés (mélange méthanol/acide trifluoro acétique/acide formique du A au F, pH 2,94 ; 3,32 ; 4,48 ; 7,97 et 10,5). Chlorure de lanthane, chlorure de césium fournis par VWR (Strasbourg, France). Le chloroforme (stabilisé à l'éthanol, pour HPLC), dichlorométhane (stabilisé à l'amylène, pour HPLC), tert-butylméthylether (pour HPLC), n-hexane (pour HPLC), méthanol absolue (pour HPLC), acétone (pour HPLC) ont été achetés à Biosolve Chimie SARL (Dieuze, France). Cyclohexane (RS Plus pour l'analyse des pesticides), Ammoniaque (30% solution), fournis par Carlo Erba Reagents SAS (Val de Reuil, France). Huile d'arachide pour émulsions (Arachide, Lesieur, Asnières sur Seine cedex, France).

## Annexe 2. Préparation des solutions tampons

Les solutions tampons suivantes, utilisées pour les différentes analyses, ont été obtenues en additionnant différentes solution d'acide et de base (<http://www.sigmaaldrich.com/life-science/core-bioreagents/biological-buffers/learning-center/buffer-reference-center.html#sthash.f8W4sene.dpuf>).

### Tampon acide citrique – Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>. pH 3,0 ; 4,0 ; 5,0 ; 6,0 ; 7,0.

Acide Citrique monohydraté, C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub> • H<sub>2</sub>O, PM : 210,14 g/mol; Une solution de 0,1 M contient 21,01 g/l.

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, PM. 141,98 g/mol; une solution de 0,2 M contient 28,40 g/L.  
x ml de solution de 0,1 M d'acide citrique et y ml 0,2 M de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> mélangé

pH	x ml 0,1M-citric acid	y ml 0,2-Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
3,0	79,45	20,55
4,0	61,45	38,55
5,0	48,50	51,50
6,0	36,85	63,15
7,0	17,65	82,35

### Tampon phosphate (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) pH 8,0

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> • 2H<sub>2</sub>O, PM 178,05 g/mol ; une solution de 0,2M contient 35,61 g/L.

NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> • H<sub>2</sub>O, PM. 138,01g/mol ; une solution de 0,2M contient 27,6 g/L.

x ml 0,2 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, y ml 0,2 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; dilué dans 100 ml avec de l'eau

pH, 25 °C	x ml 0,2 M Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	y ml 0,2 M NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
8,0	47,35	2,65

### Tampon carbonate de sodium, bicarbonate de sodium ; pH 9,0 et 10,0

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> • 10H<sub>2</sub>O, PM. 286,2 g/mol; une solution de 0,1M contient 28,62 g/L.

NaHCO<sub>3</sub>, PM. 84,0 g/mol; une solution de 0,1M contient solution contient 8,40 g/L.

x ml de 0,1M-Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>et y ml de 0,1M Na<sub>2</sub>HCO<sub>3</sub> mélangé.

pH	x ml 0,1 M-Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	y ml 0,1 M-NaHCO <sub>3</sub>
9,2	10	90
10,1	60	40

## Annexe 3. Calcul de la teneur en eau des insectes

La teneur en eau des insectes à été déterminée en deux étapes. Les insectes ont premièrement été déshydratés par lyophilisation et la quantité d'eau perdue par lyophilisation a été calculée. La seconde étape a consisté à déterminer la quantité d'eau présente dans la

farine lyophilisée. Les deux masses d'eau ont été additionnées et divisées par la masse des insectes frais de départ pour obtenir la teneur en eau de l'insecte frais.

Calcul de la masse d'eau perdue après lyophilisation des insectes frais (équation 18)

$$H_1 = M_{L1} - M_{L2} \quad (18)$$

La teneur en eau des farines a été obtenue à noté  $H_F$  a été précédemment calculée (II.4.2.3 ; équation 2).

Masse d'eau contenue dans la farine lyophilisée (équation 18)

$$H_2 = H_F \times M_{L2} \quad (19)$$

Teneur en eau de l'insecte frais est donnée par l'équation 20

$$H = \frac{(H_1 + H_2) \times 100}{M_{L1}} \quad (20)$$

La teneur en eau de l'insecte frais a été exprimée en g/100 g de matière humide

## Annexe 4. Courbes d'étalonnages

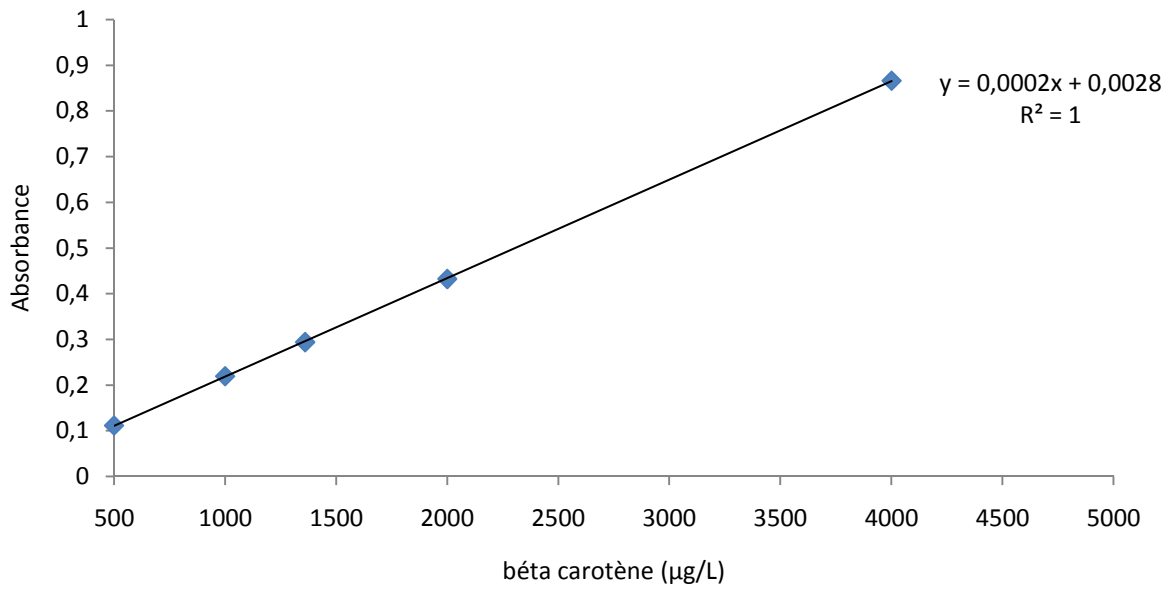


Figure a : Gamme d'étalonnage de béta-carotène

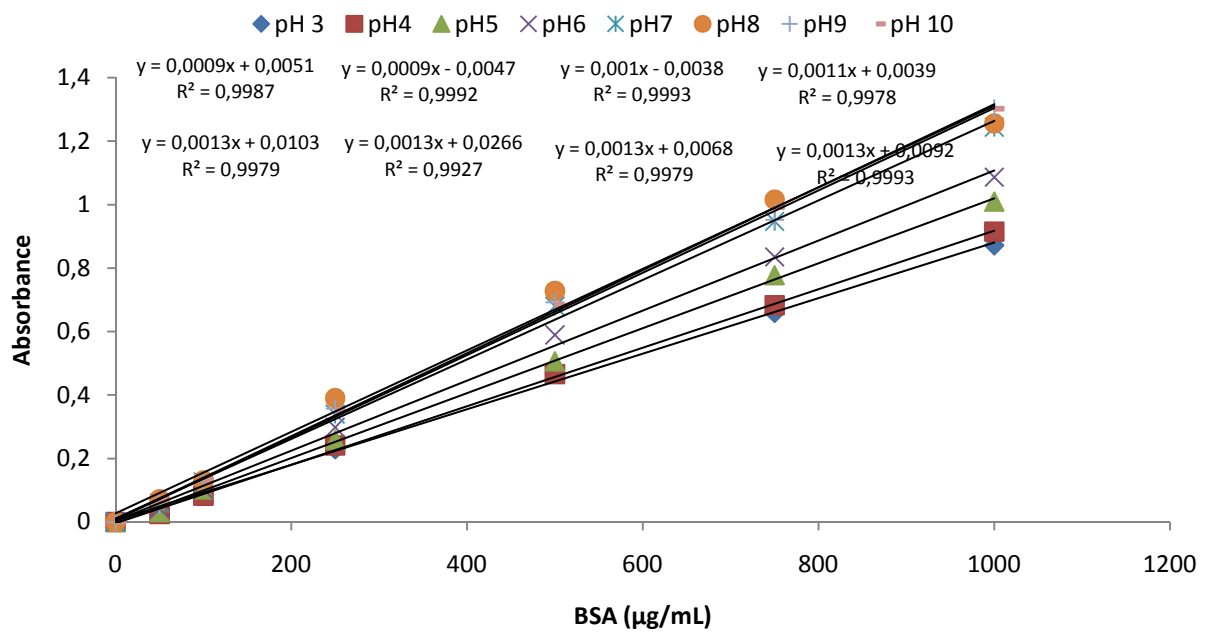


Figure b: Gamme d'étalonnage BSA



## Annexe 5. Bilan azote et acide aminés des farines d'insectes

**Tableau 1:** Masse des acides aminés, des résidus d'acides aminés et d'azote de résidus d'acides aminés dans les farines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* et des chenilles d'*Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea*

AA	PM AA	PM RAA	%N AA	%N RAA	<i>Imbrasia epimethea</i>			<i>Imbrasia truncata</i>			<i>Rhynchophorus phoenicis</i>		
	PM AA (g/mol)	PM AA -18 (g/mol)	g/100 g N		m AA (g/100 g FI)	m RAA (g/100 g FI)	m N (g/100 g FI)	m AA (g/100 g FI)	m RAA (g/100 g FI)	m N (g/100 g FI)	m AA (g/100 g FI)	m RAA (g/100 g FI)	m N (g/100 g FI)
ALA	89,09	71,09	15,72	19,70	3,9	3,1	0,61	2,9	2,3	0,46	1,5	1,2	0,24
ARG	174,2	156,2	32,16	35,87	4,1	3,7	1,31	3,5	3,1	1,13	1,5	1,4	0,49
ASP	133,1	115,1	10,52	12,17	7,8	6,7	0,82	6,2	5,4	0,66	2,3	2,0	0,25
CYS	121,2	103,2	11,56	13,58	0,8	0,7	0,09	0,9	0,8	0,10	0,9	0,8	0,10
GLU	147,1	129,1	9,52	10,85	10,6	9,3	1,01	10,2	9,0	0,97	3,6	3,2	0,34
GLY	75,07	57,07	18,66	24,55	3,8	2,9	0,70	3,6	2,7	0,67	1,2	0,9	0,22
HIS	155,2	137,2	27,08	30,63	2,6	2,3	0,70	2,4	2,2	0,66	0,6	0,6	0,17
ILEU	131,2	113,2	10,68	12,38	3,3	2,9	0,36	3,0	2,6	0,32	1,1	1,0	0,12
LEU	131,2	113,2	10,68	12,38	4,8	4,2	0,51	4,3	3,7	0,46	1,7	1,4	0,18
LYS	146,2	128,2	19,16	21,85	5,6	4,9	1,07	5,3	4,7	1,02	1,8	1,6	0,35
MET	149,2	131,2	9,39	10,68	1,4	1,2	0,13	1,2	1,1	0,11	1,3	1,1	0,12
PHE	165,2	147,2	8,48	9,52	4,2	3,7	0,35	2,9	2,6	0,25	1,0	0,9	0,09
PRO	115,1	97,1	12,17	14,43	4,3	3,7	0,53	3,9	3,3	0,47	1,7	1,5	0,21
SER	105,1	87,1	13,33	16,09	3,9	3,2	0,52	3,3	2,7	0,43	1,3	1,1	0,17
THR	119,1	101,1	11,76	13,85	4,7	4,0	0,56	3,9	3,3	0,46	1,3	1,1	0,16
TRP	204,23	186,23	13,72	15,05	1,0	0,9	0,13	0,9	0,8	0,12	0,9	0,8	0,12
TYR	181,2	163,2	7,73	8,58	6,7	6,1	0,52	9,5	8,6	0,73	2,3	2,0	0,18
VAL	117,1	99,1	11,96	14,13	4,1	3,5	0,49	3,3	2,8	0,39	1,4	1,2	0,17
<b>Total</b>	<b>2459,79</b>	<b>2135,79</b>			<b>77,6</b>	<b>66,8</b>	<b>10,42</b>	<b>71,3</b>	<b>61,6</b>	<b>9,42</b>	<b>27,6</b>	<b>23,8</b>	<b>3,67</b>

AA : acide aminé ; RAA : résidu acide aminé ; m : masse ; PM : poids moléculaire ; N : azote

**Tableau 2:** Masse des acides aminés et des résidus d'acides aminés des différents morphotypes de larves de *Rhynchophorus phoenicis*

	PM AA	PM RAA	Jaune sauvage 1		Jaune sauvage 2		Jaune sauvage 3		Blanche sauvage 1		Blanche sauvage 2		Blanche sauvage 3		Blanche élevage 1		Blanche élevage 2	
	PM	PM-18	m AA	m RAA	m AA	m RAA	m AA	m RAA	m AA	m RAA	m AA	m RAA	m AA	m RAA	m AA	m RAA	m AA	m RAA
	(g/mol)		(g/100 g FI)															
<b>ALA</b>	89,09	71,09	1,4	1,1	1,6	1,3	1,3	1,0	1,9	1,5	1,7	1,4	1,7	1,3	2,0	1,6	1,7	1,4
<b>ARG</b>	174,2	156,2	1,1	1,0	1,1	1,0	1,2	1,1	1,2	1,0	1,2	1,1	1,1	0,9	1,7	1,5	1,1	1,0
<b>ASP</b>	133,1	115,1	2,1	1,8	2,4	2,1	1,9	1,7	2,3	2,0	2,4	2,0	2,2	1,9	2,6	2,3	2,0	1,8
<b>CYS</b>	121,2	103,2	0,8	0,7	0,7	0,6	0,9	0,8	0,9	0,8	0,9	0,8	0,7	0,6	0,8	0,7	0,7	0,6
<b>GLU</b>	147,1	129,1	3,2	2,8	4,1	3,6	2,9	2,6	3,8	3,3	3,9	3,4	3,3	2,9	4,1	3,6	3,1	2,7
<b>GLY</b>	75,07	57,07	1,2	0,9	1,2	0,9	1,1	0,8	1,3	1,0	1,3	1,0	1,2	0,9	1,4	1,1	1,2	0,9
<b>HIS</b>	155,2	137,2	0,7	0,6	0,8	0,7	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7	0,6	0,7	0,6	0,9	0,8	0,7	0,6
<b>ILE</b>	131,2	113,2	1,1	1,0	1,4	1,2	1,1	1,0	1,6	1,3	1,3	1,1	1,4	1,2	1,5	1,3	1,4	1,2
<b>LEU</b>	131,2	113,2	1,5	1,3	2,1	1,8	1,6	1,4	2,1	1,8	1,9	1,6	2,1	1,8	2,2	1,9	1,9	1,7
<b>LYS</b>	146,2	128,2	1,6	1,4	1,9	1,7	1,6	1,4	1,8	1,5	1,9	1,6	1,7	1,5	2,0	1,7	1,5	1,4
<b>MET</b>	149,2	131,2	1,2	1,1	1,3	1,1	1,1	1,0	1,3	1,1	1,3	1,1	1,2	1,1	1,3	1,1	1,1	1,0
<b>PHE</b>	165,2	147,2	1,0	0,9	1,2	1,0	0,9	0,8	1,0	0,9	1,1	1,0	1,1	1,0	1,2	1,1	0,9	0,8
<b>PRO</b>	115,1	97,1	1,6	1,4	1,9	1,6	1,3	1,1	1,8	1,5	1,5	1,3	1,4	1,2	1,5	1,3	1,6	1,3
<b>SER</b>	105,1	87,1	1,0	0,8	1,2	1,0	1,0	0,8	1,2	1,0	1,2	1,0	1,2	1,0	1,4	1,1	1,1	0,9
<b>THR</b>	119,1	101,1	1,5	1,3	1,3	1,1	1,3	1,1	1,3	1,1	1,3	1,1	1,5	1,2	1,6	1,4	1,3	1,1
<b>TRP</b>	204,23	186,23	0,9	0,8	0,9	0,8	1,0	0,9	1,0	0,9	0,9	0,8	1,0	0,9	1,0	0,9	0,9	0,8
<b>TYR</b>	181,2	163,2	3,1	2,8	3,0	2,7	2,3	2,1	2,1	1,9	2,9	2,6	3,1	2,8	3,2	2,9	2,8	2,5
<b>VAL</b>	117,1	99,1	2,2	1,9	1,7	1,5	1,3	1,1	3,1	2,6	1,5	1,3	1,6	1,4	1,8	1,5	2,9	2,5
<b>Total</b>	<b>2459,79</b>	<b>2135,79</b>	<b>27,1</b>	<b>23,4</b>	<b>29,8</b>	<b>25,7</b>	<b>24,4</b>	<b>21,1</b>	<b>30,2</b>	<b>26,0</b>	<b>29,0</b>	<b>25,0</b>	<b>28,0</b>	<b>24,2</b>	<b>32,1</b>	<b>27,7</b>	<b>28,0</b>	<b>24,1</b>

AA : acide aminé ; RAA : résidu acide aminé ; m : masse ; PM : poids moléculaire ; N : azote

## Annexe 6. Masse des ions moléculaires des triglycérides

Tableau 3: Masse des ions moléculaires des TAG obtenus par MALDI TOF

LN RP1			LN RP2			LN RP3		
m/z	Intens.	Res.	m/z	Intens.	Res.	m/z	Intens.	Res.
580,54	103	1828	580,54	152	1851	580,51	25,4	1843
581,49	61,4	2346	581,48	71,7	2081	581,46	30	1981
582,52	89,2	2010	582,53	136	2035	583,46	44,5	2776
583,39	37,7	1164	583,44	54,8	1276	585,45	20,8	1759
584,52	62,9	2555	584,52	81,6	2417	589,49	53,9	3260
585,48	54,7	2006	585,47	68,3	1748	590,47	45,3	3393
590,5	51,4	2542	589,02	42	1515	595,47	137	3322
592,51	38,6	2225	590,5	59,6	2343	600,56	34	3695
597,51	48,1	3485	592,52	50,2	2025	603,65	103	2610
601,53	43,3	2983	592,98	42,1	1391	605,49	33	1915
603,68	94,1	1211	597,51	60,6	3664	609,43	27,7	2352
606,51	43,4	2945	601,54	49,5	3565	611,47	25,3	4032
613,47	39,6	3222	603,7	123	1012	613,42	22,3	3571
615,51	35,4	3776	605,47	44	3405	617,58	23,7	2479
648,54	57,4	2720	606,51	45,2	3283	619,5	50,3	3291
688,54	159	2870	608,48	40,4	2483	633,49	37,6	2904
701,59	29,4	1828	613,47	59,7	3281	639,51	146	3755
730,62	75,1	3209	648,54	75,8	2467	647,53	26,7	3562
827,89	133	3284	657,51	36,3	3763	649,52	37,8	3068
853,89	120	3513	659,47	44,7	2687	653,48	23,9	1970
855,93	1001	3869	688,55	221	2850	657,47	21,1	3015
881,96	1161	3701	701,61	40	1538	663,55	43,2	3526
884	124	3355	730,6	113	3328	677,55	32,6	2997
1033,93	29,6	3226	789,66	25,9	1819	683,53	126	3818
			827,91	200	3056	688,47	28	2489
			833,68	26,5	2753	691,57	22	3946
			853,91	178	3378	693,54	22	2576
			855,95	1616	3584	707,56	30,7	3708
			881,97	1863	3499	721,6	31,5	3669
			884,01	191	3474	727,58	106	3796
			921,72	28,1	3184	735,57	22,7	3884
			991,83	18,6	2252	743,52	20,5	3891
			1033,94	34,8	3443	751,6	24,3	3334
						765,58	20,8	2956
						771,62	91,8	3577
						787,64	17,3	3508
						815,61	57,5	4721
						827,85	143	4206
						853,85	129	4058
						855,89	1494	4460
						859,65	31,6	3769
						879,89	53,8	7473
						881,92	1716	4395
						903,68	22,8	3216
						947,67	16,3	3253

m/z : masse/charge ; Intens : Intensité ; LN : lipides neutres ; RP : *Rhynchophorus phoenicis* ; TAG : triglycérides ; MALDI TOF : Matrix Assisted Light Detector Induction Time Of Flight

Annexe 7. Chromatogramme des classes de lipides neutres des chenilles de *Imbrasia truncata* et *Imbrasia epimethea* après différents traitements

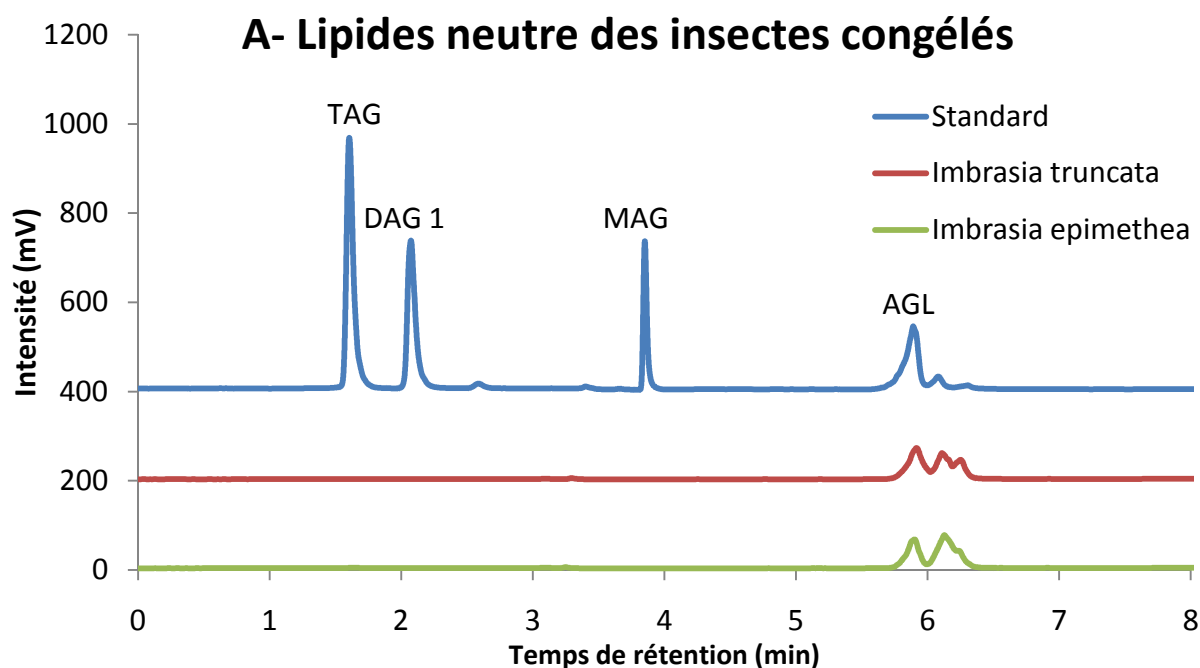


Figure c: Chromatogramme classes de lipides neutres de chenilles sacrifiées, congelées, dégelées, et éviscérées d'*Imbrasia epimethea* et *Imbrasia truncata*

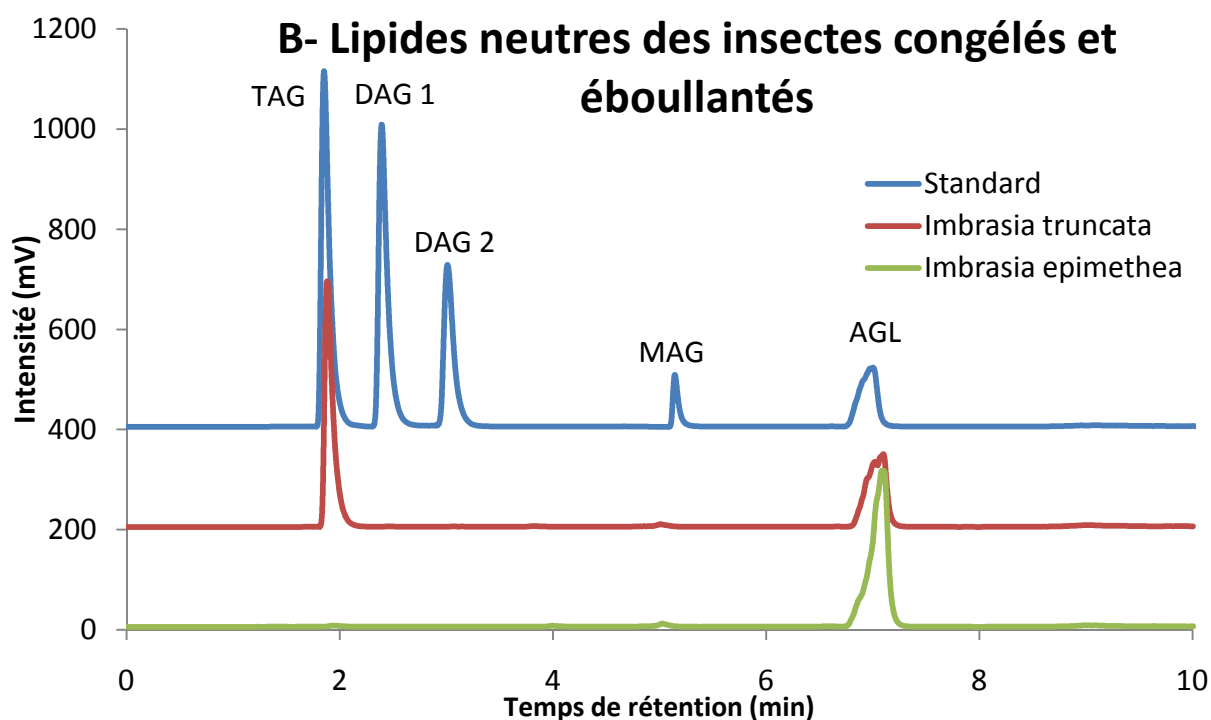


Figure d: chromatogramme classes de lipides neutres des chenilles congelées, ébouillantées, dégelées et éviscérées d'*Imbrasia epimethea* et *Imbrasia truncata*

TAG : triacylglycérol ; DAG : diacylglycérol ; MAG: monoacylglycérol ; AGL: acides gras libres

Annexe 8. Compositions en acides aminés des protéines et en acides gras des larves de *Rhynchophorus phoenicis*Tableau 4 : composition en acides gras des acides gras totaux des larves de *Rhynchophorus phoenicis* (g/100g FA)

Acides gras	Type de larves											
	Jaunes Sauvages				Blanches Sauvages				Blanches Élevages			
	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Moyenne	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Moyenne	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Moyenne
<b>FA amount</b>	635 ± 6a	619 ± 33a	643 ± 20a	<b>634 ± 19A</b>	892 ± 49a	860 ± 33a	905 ± 50a	<b>886 ± 44A</b>	841 ± 75a	986 ± 141a	855 ± 65a	<b>894 ± 111A</b>
<b>C12</b>	0,06 ± 0,05a	/	/	<b>0,02 ± 0,04A</b>	0,12 ± 0,01a	/	/	<b>0,04 ± 0,06A</b>	0,16 ± 0,01a			<b>0,05 ± 0,08A</b>
<b>C14</b>	1,86 ± 0,02a	1,88 ± 0,04a	1,3 ± 1,1a	<b>1,6 ± 0,7B</b>	2,62 ± 0,05a	1,5 ± 1,3a	2,80 ± 0,07a	<b>2,3 ± 0,9A</b>	2,92 ± 0,04a	2,6 ± 0,1a	2,77 ± 0,05a	<b>2,8 ± 0,2A</b>
<b>C15</b>	/	/	/	/	0,16 ± 0,00a	0,10 ± 0,08ab	0,08 ± 0,00b	<b>0,11 ± 0,05B</b>	0,24 ± 0,01b	0,14 ± 0,00c	0,30 ± 0,00a	<b>0,23 ± 0,07A</b>
<b>C16</b>	29,2 ± 0,2a	29,2 ± 0,1a	30,3 ± 1,1a	<b>29,6 ± 0,8B</b>	38,0 ± 0,6b	35,1 ± 0,9c	39,5 ± 0,4a	<b>37,5 ± 2,02A</b>	38,7 ± 0,2a	38,1 ± 0,4a	37,8 ± 0,3a	<b>38,2 ± 0,5A</b>
<b>C18</b>	3,34 ± 0,01a	3,1 ± 0,4b	2,9 ± 0,1b	<b>3,1 ± 0,3C</b>	4,67 ± 0,04a	4,4 ± 0,1b	4,13 ± 0,03c	<b>4,4 ± 0,2B</b>	5,7 ± 0,2a	4,89 ± 0,04b	5,72 ± 0,05a	<b>5,4 ± 0,4A</b>
<b>C20</b>	0,47 ± 0,06a	0,45 ± 0,08a	0,45 ± 0,08a	<b>0,46 ± 0,06C</b>	0,71 ± 0,08a	0,61 ± 0,05a	0,45 ± 0,05b	<b>0,6 ± 0,3B</b>	0,76 ± 0,05a	0,8 ± 0,1a	0,82 ± 0,05a	<b>0,81 ± 0,07A</b>
<b>C24</b>	/	/	/	/	0,93 ± 1,62a	0,9 ± 1,5a	/	<b>0,6 ± 1,2A</b>	/	/	/	/
<b>C16:1n-9</b>	0,47 ± 0,00a	0,48 ± 0,02a	0,45 ± 0,05a	<b>0,47 ± 0,03A</b>	0,25 ± 0,02a	0,33 ± 0,01a	0,28 ± 0,01a	<b>0,28 ± 0,03B</b>	0,1 ± 0,1b	0,21 ± 0,01a	0,21 ± 0,01a	<b>0,18 ± 0,07C</b>
<b>C16:1n-7</b>	3,33 ± 0,01a	3,5 ± 0,2a	3,5 ± 0,2a	<b>3,4 ± 0,2A</b>	2,64 ± 0,06b	2,54 ± 0,07b	3,08 ± 0,05a	<b>2,8 ± 0,3B</b>	2,39 ± 0,01a	2,58 ± 0,02a	2,43 ± 0,03a	<b>2,47 ± 0,09C</b>
<b>c17:1</b>	/	/	/	/	/	/	/	/	0,05 ± 0,04b	/	0,08 ± 0,01a	<b>0,04 ± 0,04A</b>
<b>C18:1n-9</b>	57,55 ± 0,06a	58,0 ± 0,8a	57,9 ± 0,6a	<b>57,8 ± 0,5A</b>	45,2 ± 0,9c	49,3 ± 1,2a	46,4 ± 0,2b	<b>47,0 ± 2,0B</b>	42,9 ± 0,1b	46,9 ± 0,4a	42,7 ± 0,3b	<b>44,2 ± 2,0C</b>
<b>C18:1n-7</b>	/	0,14 ± 0,00a	0,15 ± 0,00a	<b>0,09 ± 0,08A</b>	0,04 ± 0,03b	0,10 ± 0,00a	0,02 ± 0,04b	<b>0,05 ± 0,04A</b>	0,08 ± 0,01a	0,00 ± a	0,09 ± 0,00a	<b>0,07 ± 0,03A</b>
<b>C20:1n-9</b>	0,12 ± 0,01a	0,08 ± 0,00a	0,14 ± 0,02a	<b>0,11 ± 0,03A</b>	0,06 ± 0,05ab	0,10 ± 0,02a	/	<b>0,05 ± 0,05B</b>	0,11 ± 0,01a	0,19 ± 0,09a	0,10 ± 0,01a	<b>0,13 ± 0,07A</b>
<b>C22:1n-9</b>	0,5 ± 0,1a	0,42 ± 0,01a	0,43 ± 0,04a	<b>0,44 ± 0,06A</b>	0,23 ± 0,05a	0,34 ± 0,06a	0,26 ± 0,07a	<b>0,28 ± 0,07B</b>	0,3 ± 0,1a	0,22 ± 0,04a	0,20 ± 0,02a	<b>0,24 ± 0,09B</b>
<b>C18:2n-6</b>	2,77 ± 0,06a	2,4 ± 0,5b	2,14 ± 0,03c	<b>2,5 ± 0,4B</b>	3,32 ± 0,07b	3,8 ± 0,1a	2,27 ± 0,02c	<b>3,1 ± 0,7B</b>	4,36 ± 0,06b	2,70 ± 0,01c	5,45 ± 0,01a	<b>4,17 ± 1,20A</b>
<b>C18:3n-3</b>	0,39 ± 0,01a	0,35 ± 0,06a	0,31 ± 0,00a	<b>0,35 ± 0,04B</b>	1,02 ± 0,02a	1,01 ± 0,08a	0,7 ± 0,6a	<b>0,9 ± 0,3A</b>	1,23 ± 0,02a	0,70 ± 0,00b	1,38 ± 0,02a	<b>1,10 ± 0,31A</b>
<b>Total SFA</b>	35,0 ± 0,2a	34,6 ± 0,5a	34,9 ± 0,7a	<b>34,9 ± 0,5C</b>	47,2 ± 1,1a	42,5 ± 1,5b	47,0 ± 0,5a	<b>45,6 ± 2,5B</b>	48,4 ± 0,1a	46,5 ± 0,4b	47,4 ± 0,3a	<b>47,5 ± 0,9A</b>
<b>Total MUFA</b>	61,9 ± 0,1a	62,6 ± 1,0a	62,6 ± 0,8a	<b>62,4 ± 0,7A</b>	48,5 ± 1,0c	52,7 ± 1,3a	50,0 ± 0,2b	<b>50,4 ± 2,0B</b>	46,0 ± 0,1b	50,1 ± 0,3a	45,8 ± 0,3b	<b>47,3 ± 2,1C</b>
<b>Total PUFA</b>	3,16 ± 0,07a	2,8 ± 0,6ab	2,45 ± 0,03b	<b>2,8 ± 0,4C</b>	4,3 ± 0,1b	4,8 ± 0,2a	3,01 ± 0,57c	<b>4,1 ± 0,9B</b>	5,59 ± 0,07b	3,41 ± 0,02c	6,83 ± 0,01a	<b>5,3 ± 1,5A</b>
<b>Total UFA</b>	65,0 ± 0,2a	65,4 ± 0,5a	65,1 ± 0,7a	<b>65,2 ± 0,5A</b>	52,8 ± 1,1b	57,5 ± 1,5a	53,0 ± 0,5b	<b>54,4 ± 2,5B</b>	51,6 ± 0,1b	53,4 ± 0,4a	52,6 ± 0,3ab	<b>52,6 ± 0,9C</b>
<b>n-6/n-3</b>	7,2 ± 0,1a	7,0 ± 0,1a	6,9 ± 0,2a	<b>7,0 ± 0,2A</b>	3,27 ± 0,04a	3,7 ± 0,2a	2,12 ± 0,02a	<b>3,2 ± 0,7B</b>	3,54 ± 0,03a	3,86 ± 0,02a	4,0 ± 0,05a	<b>3,8 ± 0,2B</b>

Pour chaque lot, la valeur indiquée est la moyenne de trios analyses.

Effet lots : a l'intérieur d'une ligne et pour chaque type de larve, les valeurs moyennes portant, différentes lettres minuscules sont significativement différent (p < 0,05).

Effets type de larves : A l'intérieur d'une même ligne, les valeurs moyennes d'acide gras, portant différentes lettre majuscules sont significativement différent (p < 0,05).

AG: acides gras; AGS: acide gras saturé; AGMI: acide gras monoinsaturé; AGPI: acide gras polyinsaturé ; / : non déterminé (< 0,01 g/ 100 g AG)

**Tableau 5:** concentration en acides gras des lipides des larves de *Rhynchophorus phoenicis* (mg/g lipide)

acides gras	Type de larves											
	Jaunes Sauvages				Blanches Sauvages				Blanches Élevages			
	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Moyenne	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Moyenne	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Moyenne
C12	0,4 ± 0,3a	/	/	<b>0,1 ± 0,3A</b>	1,1 ± 0,1a	/	/	<b>0,4 ± 0,6A</b>	1,3 ± 0,2a	0,0 ± 0,0b	0,0 ± 0,0b	<b>0,4 ± 0,7A</b>
C14	11,8 ± 0,1a	11,7 ± 0,4a	8,1 ± 7,1a	<b>10,4 ± 4,2B</b>	23,3 ± 1,5a	19,0 ± 0,1a	25,4 ± 1,2a	<b>23,0 ± 2,8A</b>	24,6 ± 2,4a	25,7 ± 2,6a	23,6 ± 2,0a	<b>24,6 ± 2,2A</b>
C15	/	/	/	/	1,4 ± 0,1a	1,3 ± 0,0a	0,7 ± 0,0b	<b>1,1 ± 0,3B</b>	2,0 ± 0,2b	1,4 ± 0,2c	2,6 ± 0,2a	<b>2,0 ± 0,5A</b>
C16	186 ± 2a	181 ± 10a	195 ± 10a	<b>188 ± 9B</b>	339 ± 15a	302 ± 4b	358 ± 19a	<b>333 ± 27A</b>	325 ± 29a	375 ± 50a	323 ± 24a	<b>341 ± 40A</b>
C18	21,2 ± 0,1a	19,0 ± 3,3a	18,7 ± 1,2a	<b>19,7 ± 1,9C</b>	41,7 ± 2,4a	37,7 ± 0,8a	37,4 ± 1,8a	<b>38,9 ± 2,6B</b>	47,7 ± 3,2a	48,2 ± 7,3a	48,9 ± 3,8a	<b>48,3 ± 4,5A</b>
C20	3,0 ± 0,4a	2,8 ± 0,6a	2,9 ± 0,6a	<b>2,9 ± 0,5C</b>	6,3 ± 0,4a	5,2 ± 0,4ab	4,1 ± 0,4b	<b>5,2 ± 1,0B</b>	6,4 ± 0,7a	8,3 ± 2,2a	7,0 ± 0,9a	<b>7,2 ± 1,5A</b>
C24	/	/	/	/	8,8 ± 15,3a	7,8 ± 13,5a	/	<b>5,6 ± 11,0A</b>	/	/	/	<b>0,0 ± 0,0A</b>
C16:1n-9	3,0 ± 0,0a	3,0 ± 0,0a	2,9 ± 0,3a	<b>3,0 ± 0,1A</b>	2,3 ± 0,2a	2,8 ± 0,0a	2,5 ± 0,2a	<b>2,5 ± 0,3B</b>	1,1 ± 1,0a	2,0 ± 0,3a	1,8 ± 0,1b	<b>1,7 ± 0,7C</b>
C16:1n-7	21,2 ± 0,2a	21,7 ± 0,4a	22,6 ± 0,8a	<b>21,8 ± 0,8A</b>	23,5 ± 1,1b	21,8 ± 0,3b	27,9 ± 1,5a	<b>24,4 ± 2,9A</b>	20,1 ± 1,8b	25,4 ± 3,4a	20,8 ± 1,5b	<b>22,1 ± 3,2A</b>
c17:1	/	/	/	/	/	/	/	/	0,4 ± 0,4b	/	0,7 ± 0,1a	<b>0,4 ± 0,4A</b>
C18:1n-9	366 ± 4a	359 ± 14a	372 ± 8a	<b>366 ± 9B</b>	403 ± 14a	424 ± 8a	420 ± 22a	<b>416 ± 17A</b>	361 ± 33b	462 ± 70a	365 ± 28b	<b>396 ± 64AB</b>
C18:1n-7	0,0 ± 0,0b	0,9 ± 0,0a	1,0 ± 0,0a	<b>0,6 ± 0,5A</b>	0,3 ± 0,3b	0,8 ± 0,0a	0,2 ± 0,4b	<b>0,5 ± 0,4A</b>	0,7 ± 0,0a	/	0,8 ± 0,1a	<b>0,5 ± 0,4A</b>
C20:1n-9	0,5 ± 0,4a	0,5 ± 0,1a	0,9 ± 0,2a	<b>0,6 ± 0,3B</b>	0,5 ± 0,5a	0,9 ± 0,2a	/	<b>0,5 ± 0,5B</b>	0,9 ± 0,1b	1,9 ± 0,8a	0,9 ± 0,2b	<b>1,2 ± 0,7A</b>
C22:1n-9	2,9 ± 0,6a	2,6 ± 0,2a	2,8 ± 0,4a	<b>2,8 ± 0,4A</b>	2,1 ± 0,6a	2,9 ± 0,4a	2,3 ± 0,5a	<b>2,4 ± 0,6A</b>	2,6 ± 1,1a	2,2 ± 0,5a	1,7 ± 0,1a	<b>2,2 ± 0,7A</b>
C18:2n-6	17,6 ± 0,5a	15,1 ± 3,8a	13,7 ± 0,6a	<b>15,5 ± 2,3C</b>	29,6 ± 1,1a	32,5 ± 0,6a	20,6 ± 1,0b	<b>27,6 ± 5,5B</b>	36,7 ± 3,7b	26,7 ± 4,0c	46,6 ± 3,6a	<b>36,7 ± 9,2A</b>
C18:3n-3	2,5 ± 0,1a	2,2 ± 0,5a	2,0 ± 0,0a	<b>2,2 ± 0,3B</b>	9,1 ± 0,3a	8,7 ± 0,4a	6,8 ± 5,4a	<b>8,2 ± 2,9A</b>	10,4 ± 1,0a	6,9 ± 1,0b	11,8 ± 0,8a	<b>9,7 ± 2,3A</b>
Total AGS	222 ± 3a	214 ± 14a	225 ± 12a	<b>221 ± 9B</b>	422 ± 33a	366 ± 27b	425 ± 21a	<b>404 ± 37A</b>	407 ± 35a	459 ± 62a	405 ± 31a	<b>424 ± 47A</b>
Total AGMI	393 ± 3a	388 ± 14a	402 ± 8a	<b>395 ± 10B</b>	432 ± 15a	453 ± 8a	453 ± 24a	<b>446 ± 18A</b>	387 ± 35b	494 ± 74a	392 ± 29b	<b>424 ± 68AB</b>
Total AGPI	20,0 ± 0,5a	17,2 ± 4,3a	15,7 ± 0,6a	<b>17,7 ± 2,6C</b>	38,7 ± 1,4a	41,3 ± 0,4a	27,4 ± 6,3b	<b>35,8 ± 7,2B</b>	47,0 ± 4,7b	33,6 ± 5,0c	58,4 ± 4,4a	<b>46,3 ± 11,5A</b>
Total AGI	413,2 ± 3,3a	404,9 ± 18,5a	418,1 ± 8,9a	<b>413,0 ± 10,2B</b>	471 ± 17a	494 ± 8a	480 ± 29a	<b>482 ± 20,2A</b>	434 ± 40a	527 ± 79a	450 ± 34a	<b>470 ± 64A</b>
Total AG	635,3 ± 5,8a	619,2 ± 32,9a	642,6 ± 20,5a	<b>634,0 ± 19,5B</b>	892 ± 49a	860 ± 33a	905 ± 50a	<b>886 ± 43,8A</b>	841 ± 75a	986 ± 141a	855 ± 65a	<b>894 ± 111A</b>
n-6/n-3	7,2 ± 0,1a	7,0 ± 0,1a	6,9 ± 0,2a	<b>7,0 ± 0,2A</b>	3,3 ± 0,0a	3,7 ± 0,2a	2,12 ± 0,02a	<b>3,2 ± 0,7B</b>	3,5 ± 0,0a	3,9 ± 0,0a	4,0 ± 0,1a	<b>3,8 ± 0,2B</b>

Pour chaque lot, la valeur indiquée est la moyenne de trios analyses.

Effet lots : a l'intérieur d'une ligne et pour chaque type de larve, les valeurs moyennes portant, différentes lettres minuscules sont significativement différent (p < 0,05).

Effets type de larves : A l'intérieur d'une même ligne, les valeurs moyennes d'acide gras, portant différentes lettre majuscules sont significativement différents (p < 0,05).

AG: acides gras; AGS: acide gras saturé; AGMI: acide gras monoinsaturé; AGPI: acide gras polyinsaturé ; / : non déterminé (< 0,1 mg/g lipide)

Tableau 6 : Composition en acides aminés des protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* (mg/g protéine)

	Jaunes sauvages				Blanches sauvages				Blanches élevages				Protéine de référence*
	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Moyenne (n=3)	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Moyenne (n=3)	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Moyenne (n=3)	
<b>AANI</b>													
ALA	46,0	48,9	52,5	<b>49,1±3,3a</b>	54,1	56,1	57,2	<b>55,8 ± 1,6a</b>	65,0	52,3	52,4	<b>56,6 ± 7,3a</b>	
ARG	38,8	37,2	52,9	<b>43,0 ± 8,6a</b>	37,9	43,1	40,8	<b>40,6 ± 2,6a</b>	61,8	36,2	41,9	<b>46,6 ± 13,4a</b>	
ASP	72,8	80,6	84,2	<b>79,2 ± 5,8a</b>	72,9	81,8	81,0	<b>78,6 ± 4,9a</b>	93,0	66,3	80,4	<b>79,9 ± 13,4a</b>	
GLU	113,3	138,1	129,6	<b>127,0 ± 12,6a</b>	121,7	138,2	126,4	<b>128,8 ± 8,5a</b>	148,4	100,9	131,9	<b>127,1 ± 24,1a</b>	
GLY	38,3	36,3	40,2	<b>38,3 ± 2,0a</b>	37,1	39,2	38,7	<b>38,4 ± 1,1a</b>	43,7	35,3	33,5	<b>37,5 ± 5,4a</b>	
Pro	56,2	60,2	53,2	<b>56,5 ± 3,5a</b>	54,9	51,7	52,4	<b>53,0 ± 1,7a</b>	53,6	50,2	49,2	<b>51,0 ± 2,3a</b>	
SER	34,0	37,2	40,7	<b>37,3 ± 3,4a</b>	35,1	41,0	42,4	<b>39,5 ± 3,9a</b>	46,4	33,0	36,6	<b>38,7 ± 7,0a</b>	
<b>TAANI</b>	<b>399,4</b>	<b>438,4</b>	<b>453,4</b>	<b>430 ± 28a</b>	<b>413,7</b>	<b>451,1</b>	<b>438,9</b>	<b>435 ± 24a</b>	<b>511,8</b>	<b>374,3</b>	<b>425,8</b>	<b>434 ± 73a</b>	
<b>AAI</b>													
HIS	24,5	26,4	28,6	<b>26,5 ± 2,1a</b>	23,9	25,9	28,0	<b>25,9 ± 2,0a</b>	32,0	22,6	25,2	<b>26,6 ± 4,8a</b>	15
ILEU	40,1	48,1	48,6	<b>45,6 ± 4,8a</b>	49,0	44,9	51,0	<b>48,3 ± 3,1a</b>	52,6	45,7	44,5	<b>47,6 ± 4,3a</b>	30
LEU	53,1	69,5	70,4	<b>64,3 ± 9,8a</b>	66,6	65,7	77,4	<b>69,9 ± 6,5a</b>	79,0	62,3	67,8	<b>69,7 ± 8,5a</b>	59
LYS	57,9	64,6	68,5	<b>63,7 ± 5,3a</b>	56,3	65,4	65,6	<b>62,5 ± 5,3a</b>	70,5	50,9	65,7	<b>62,3 ± 10,2a</b>	45
THR	51,3	42,8	54,6	<b>49,5 ± 6,1a</b>	40,1	45,2	53,7	<b>46,3 ± 6,9a</b>	55,8	41,6	45,5	<b>47,6 ± 7,3a</b>	23
VAL	75,8	56,6	55,7	<b>62,7 ± 11,3a</b>	94,9	52,3	59,5	<b>68,9 ± 22,8a</b>	63,3	93,0	54,4	<b>70,2 ± 20,2a</b>	39
PHE	35,1	40,4	41,9	<b>39,1 ± 3,6a</b>	32,4	40,1	41,8	<b>38,1 ± 5,0a</b>	45,0	30,6	40,0	<b>38,5 ± 7,3a</b>	30
TRP	31,6	30,7	44,4	<b>35,6 ± 7,7a</b>	32,3	31,9	38,3	<b>34,2 ± 3,6a</b>	36,5	29,8	28,2	<b>31,5 ± 4,4a</b>	6
TYR	112,9	103,9	106,2	<b>107,7 ± 4,7a</b>	69,1	105,1	121,9	<b>98,7 ± 27,0a</b>	118,8	95,2	94,9	<b>103,0 ± 13,7a</b>	
<b>TAAA</b>	<b>179,6</b>	<b>175,0</b>	<b>192,5</b>	<b>182 ± 9a</b>	<b>133,7</b>	<b>177,1</b>	<b>202,0</b>	<b>171 ± 36a</b>	<b>200,3</b>	<b>155,6</b>	<b>163,0</b>	<b>173 ± 25a</b>	
CYS	27,8	22,9	38,5	<b>29,7 ± 8,0a</b>	28,0	30,8	25,8	<b>28,2 ± 2,5a</b>	28,1	22,4	24,7	<b>25,1 ± 2,9a</b>	6
MET	43,0	44,0	48,6	<b>45,2 ± 3,0a</b>	41,7	46,0	45,7	<b>44,5 ± 2,4a</b>	47,1	36,3	38,3	<b>40,6 ± 5,7a</b>	16
<b>TAAS</b>	<b>70,8</b>	<b>66,9</b>	<b>87,1</b>	<b>74,9 ± 10,7a</b>	<b>69,7</b>	<b>76,8</b>	<b>71,5</b>	<b>72,7 ± 4,9a</b>	<b>75,2</b>	<b>58,7</b>	<b>63,1</b>	<b>65,7 ± 8,6a</b>	
<b>TAAI</b>	<b>553,1</b>	<b>549,7</b>	<b>606,0</b>	<b>570 ± 32a</b>	<b>534,3</b>	<b>553,3</b>	<b>608,6</b>	<b>565 ± 87a</b>	<b>628,6</b>	<b>530,3</b>	<b>529,1</b>	<b>563 ± 90a</b>	269,0
<b>TAA</b>	<b>952,5</b>	<b>988,2</b>	<b>1059,4</b>	<b>1000 ± 54a</b>	<b>948,0</b>	<b>1004,4</b>	<b>1047,6</b>	<b>1000 ± 111a</b>	<b>1140,5</b>	<b>904,6</b>	<b>954,9</b>	<b>1000 ± 162a</b>	
% TAAI	58,1	55,6	57,2	<b>57,0 ± 1,2a</b>	56,9	55,6	58,6	<b>57,0 ± 1,5a</b>	54,6	58,1	54,9	<b>55,9 ± 1,9a</b>	

- Protéine de référence (WHO/FAO/UNU 2007)

Pour chaque type de larve, la valeur indiquée est la moyenne des analyses effectuées sur les trois lots du groupe.

Pour chaque type de larves, la valeur moyenne de l'acide aminé avec différentes lettre minuscule dans une ligne sont significativement différente. (p < 0,05).

AAS: acide amine soufré; AAA: acide aminé aromatique; AAI : acide aminé indispensable; AANI: acide aminé non indispensable ; AAT: acide aminé totaux

## Annexe 9. Teneurs en eau à l'équilibre des farines d'insectes

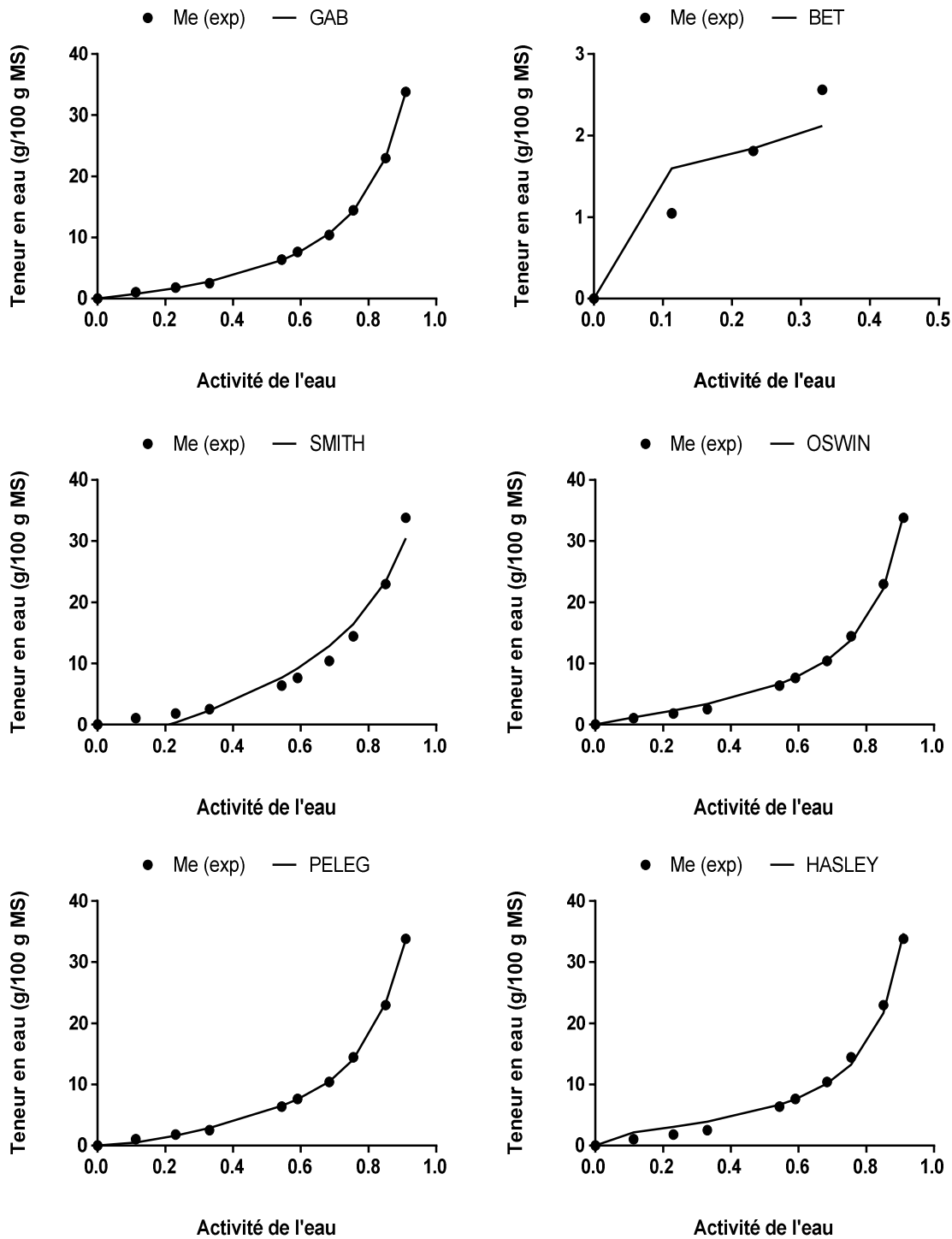
Tableau 7 : Teneurs en eau à l'équilibre des farines d'insectes à différentes températures (20, 25, 30 et 40 °C)

Sels	20°C				30°C				40°C			
	Aw	R. p	I. t	I. e	Aw	R. p	I. t	I. e	Aw	R. p	I. t	I. e
LiCl	<b>0,11</b>	1,0 ± 0,1	1,5 ± 0,3	1,4 ± 0,1	<b>0,11</b>	1,1 ± 0,2	0,8 ± 0,2	1,3 ± 0,1	<b>0,11</b>	0,9 ± 0,0	0,6 ± 0,1	1,2 ± 0,5
CH <sub>3</sub> COOK	<b>0,23</b>	1,8 ± 0,1	2,9 ± 0,2	2,6 ± 0,1	<b>0,22</b>	1,9 ± 0,1	2,1 ± 0,1	1,5 ± 0,2	<b>0,20</b>	1,9 ± 0,6	1,2 ± 0,1	2,2 ± 0,1
MgCl <sub>2</sub>	<b>0,33</b>	2,6 ± 0,2	3,8 ± 0,2	4,5 ± 0,2	<b>0,32</b>	2,6 ± 0,2	3,1 ± 0,3	2,7 ± 0,1	<b>0,32</b>	2,3 ± 0,2	2,3 ± 0,1	3,3 ± 0,4
Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	<b>0,54</b>	6,4 ± 0,2	6,4 ± 0,2	5,8 ± 0,2	<b>0,51</b>	5,1 ± 0,3	4,7 ± 0,1	4,6 ± 0,1	<b>0,48</b>	3,8 ± 0,3	4,3 ± 0,1	4,6 ± 0,1
NaBr	<b>0,59</b>	7,6 ± 0,2	7,1 ± 0,2	6,5 ± 0,2	<b>0,56</b>	6,7 ± 0,2	5,7 ± 0,3	5,4 ± 0,1	<b>0,53</b>	5,2 ± 0,6	5,2 ± 0,3	5,3 ± 0,1
CuCl <sub>2</sub>	<b>0,68</b>	10,4 ± 0,3	8,8 ± 0,2	7,9 ± 0,1	<b>0,69</b>	10,7 ± 0,3	7,8 ± 0,2	8,4 ± 0,2	<b>0,68</b>	8,8 ± 0,1	7,0 ± 0,1	7,7 ± 0,2
NaCl	<b>0,76</b>	14,4 ± 0,3	10,9 ± 0,1	9,8 ± 0,1	<b>0,75</b>	13,8 ± 0,1	9,2 ± 0,1	11,2 ± 0,1	<b>0,75</b>	10,9 ± 0,9	8,0 ± 0,1	8,5 ± 0,1
KCl	<b>0,85</b>	23,0 ± 0,3	14,7 ± 0,2	14,0 ± 0,1	<b>0,84</b>	21,3 ± 0,4	12,7 ± 0,3	16,1 ± 0,2	<b>0,82</b>	16,5 ± 1,4	11,0 ± 0,3	11,4 ± 0,1
BaCl <sub>2</sub>	<b>0,91</b>	33,8 ± 0,7	19,7 ± 0,2	19,3 ± 0,3	<b>0,90</b>	34,2 ± 0,4	16,3 ± 0,6	24,0 ± 0,2	<b>0,89</b>	27,2 ± 1,0	14,7 ± 0,5	16,7 ± 0,3

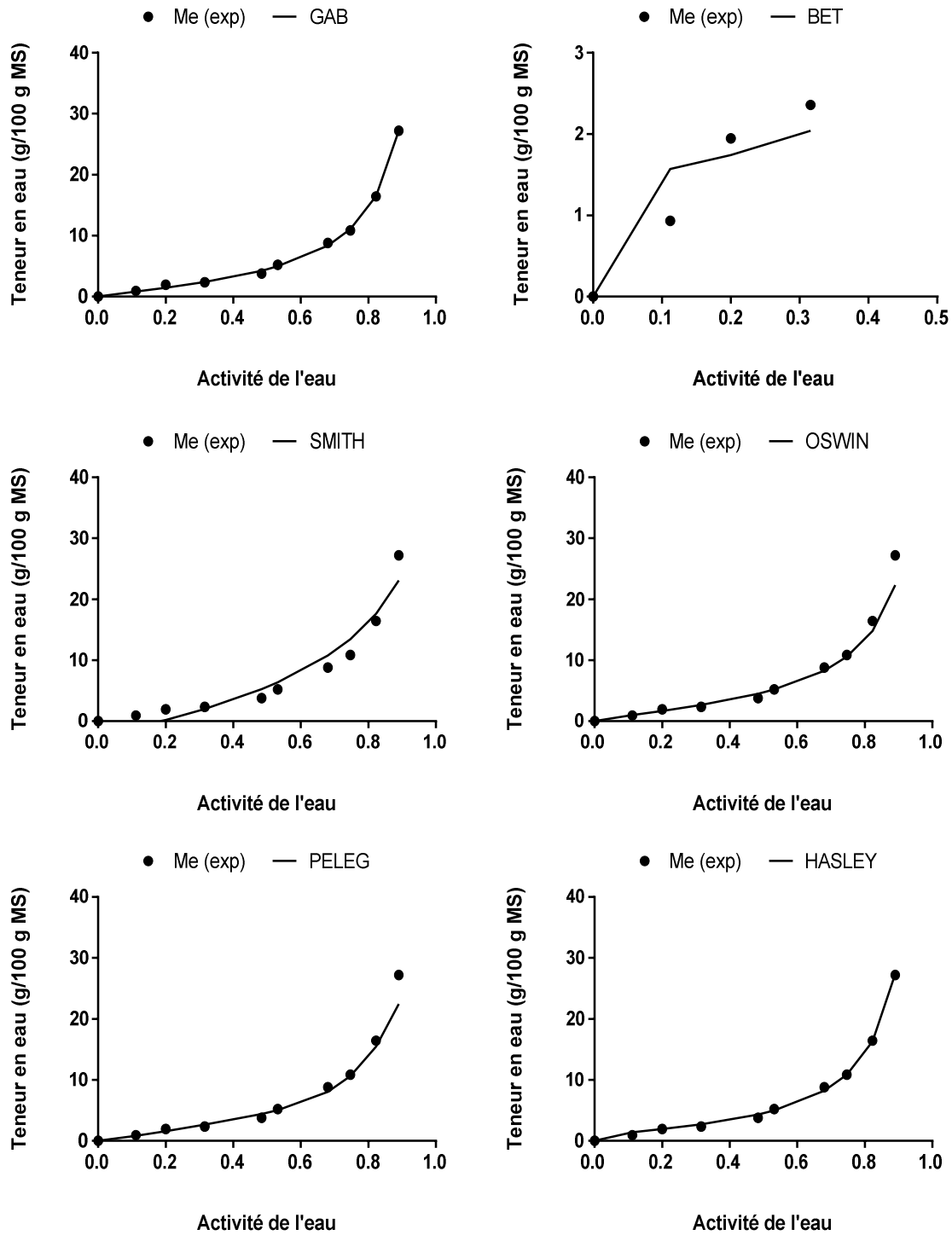
Les valeurs d'humidité relative du tableau sont la moyenne ± écart-type de 3-5 répétitions  
*R.p* = *Rhynchophorus phoenicis* ; *I.t* = *Imbrasia truncata* ; *I.epi* = *Imbrasia epimethea*



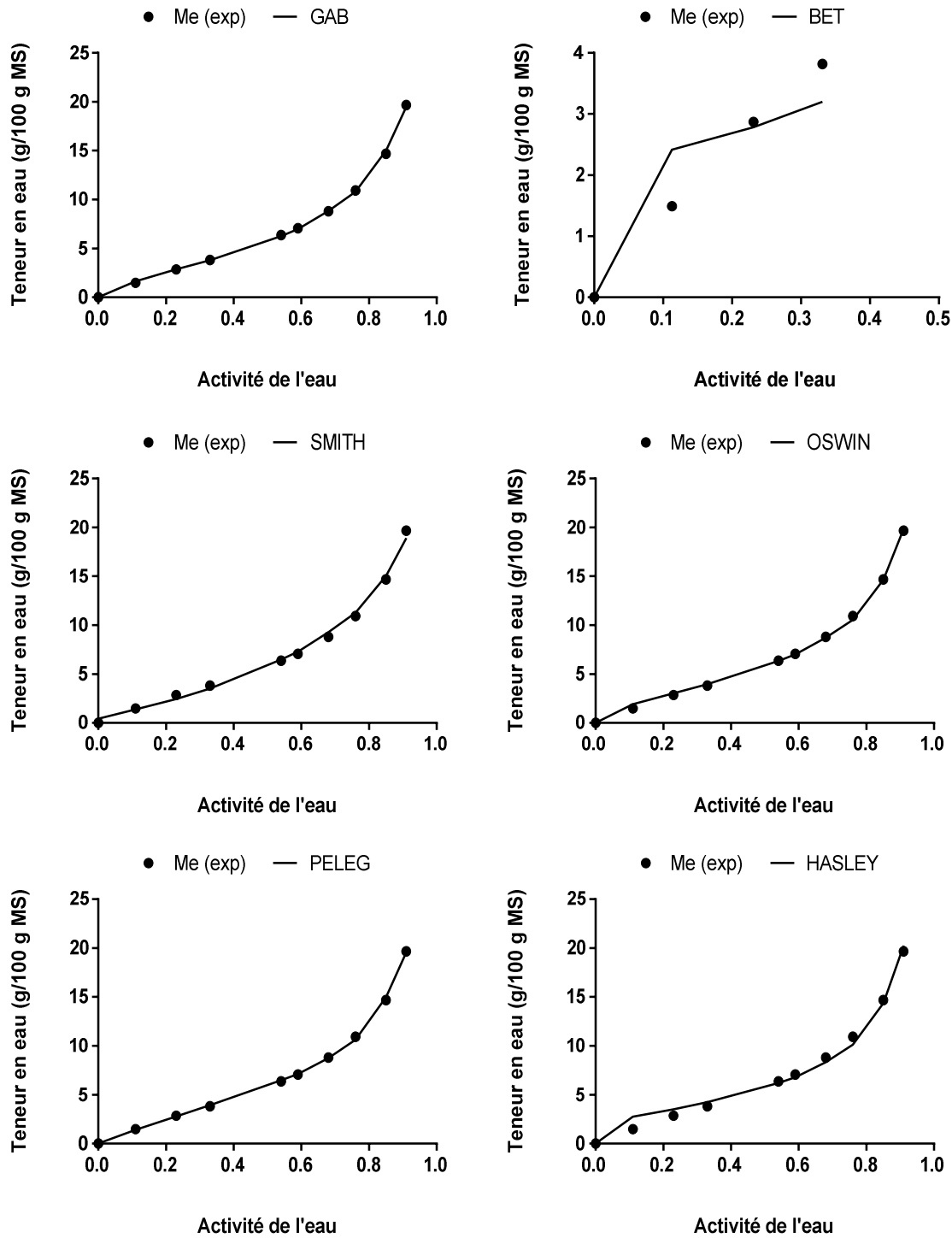
**Annexe 10. Ajustement des modèles aux isothermes d'adsorption des farines d'insectes pour les températures de 20 et 40°C**



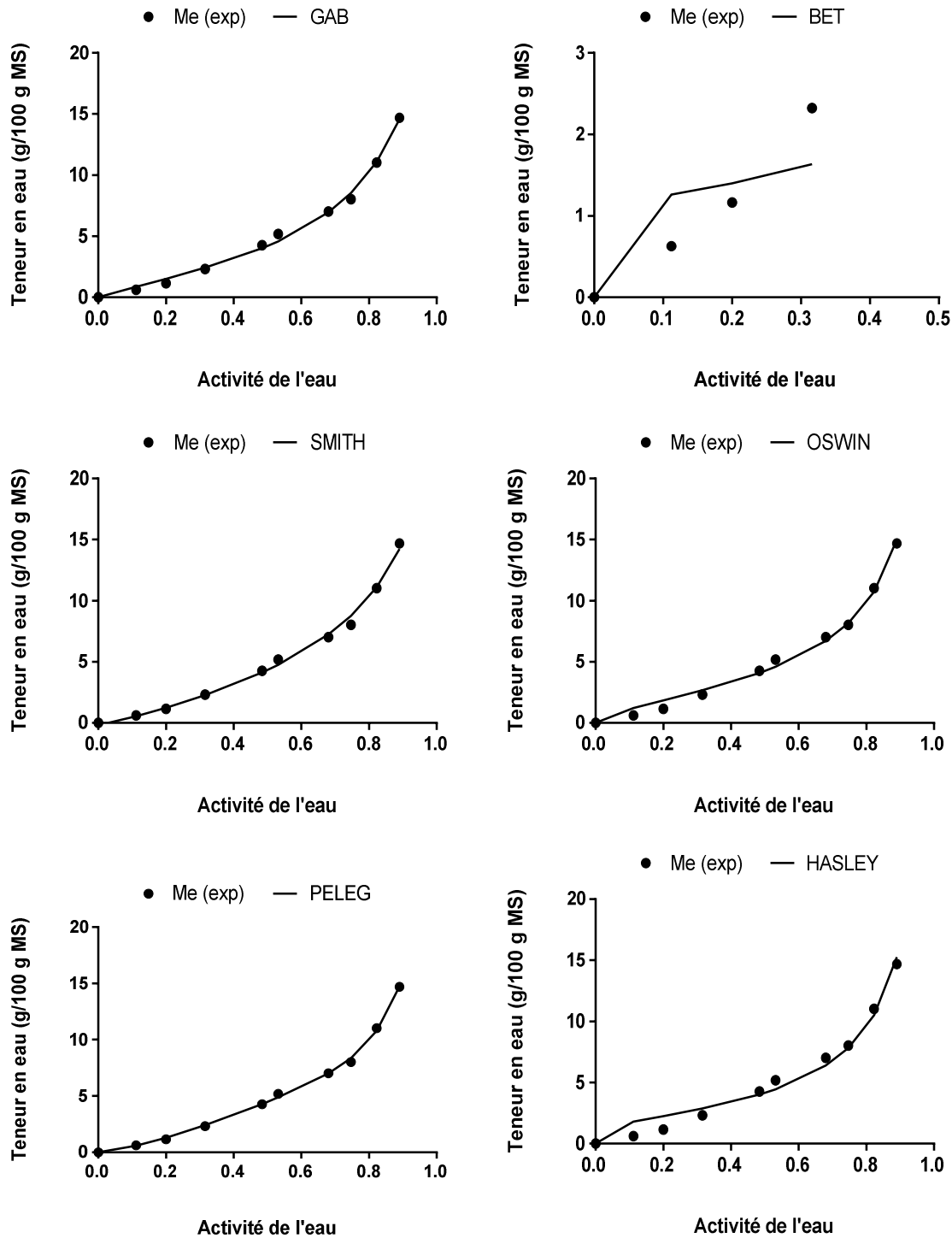
**Figure e:** Isotherme d'adsorption de la farine des larves de *Rhynchophorus phoenicis* ajusté aux modèles de GAB, BET, SMITH, OSWIN, PELEG et HASLEY (T= 20 °C)



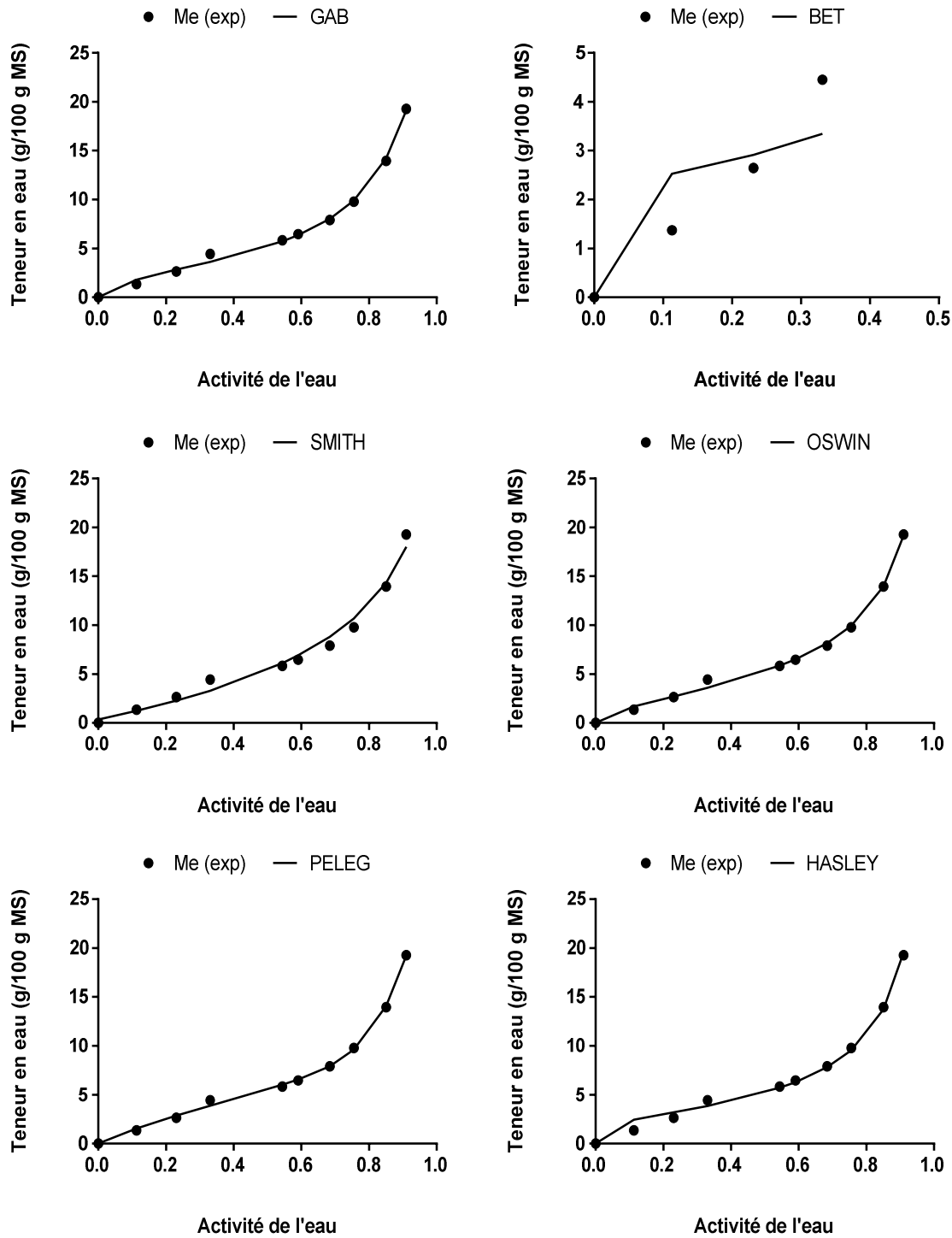
**Figure f:** Isotherme d'adsorption de la farine des larves de *Rhynchophorus phoenicis* ajusté aux modèles de GAB, BET, SMITH, OSWIN, PELEG et HASLEY ( $T = 40^\circ\text{C}$ )



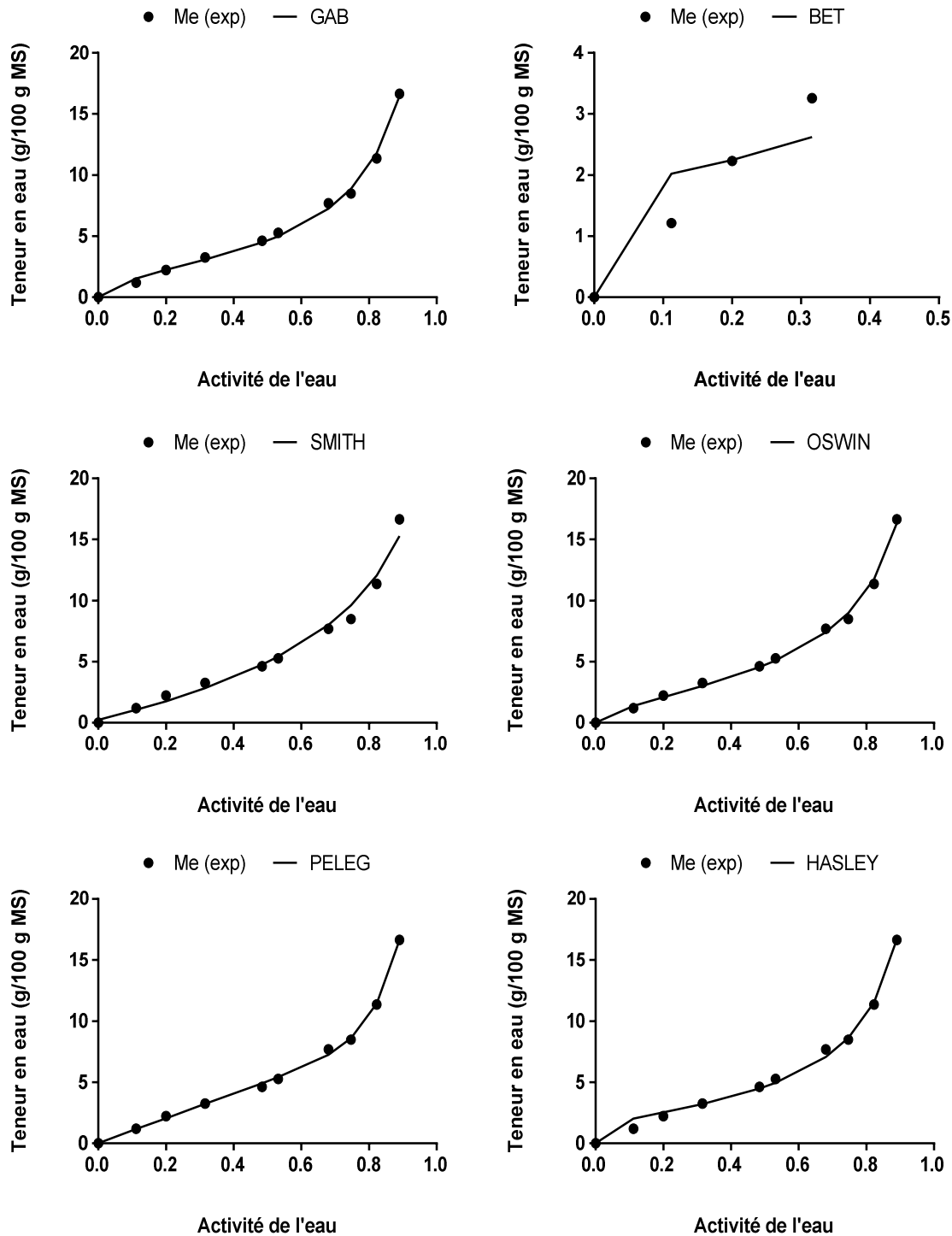
**Figure g:** Isotherme d'adsorption de la farine des larves d'*Imbrasia truncata* ajusté aux modèles de GAB, BET, SMITH, OSWIN, PELEG et HASLEY (T= 20 °C)



**Figure h:** Isotherme d'adsorption de la farine des larves d'*Imbrasia truncata* ajusté aux modèles de GAB, BET, SMITH, OSWIN, PELEG et HASLEY (T= 40 °C)



**Figure i:** Isotherme d'adsorption de la farine des larves d'*Imbrasia epimethea* ajusté aux modèles de GAB, BET, SMITH, OSWIN, PELEG et HASLEY (T= 20 °C)



**Figure j:** Isotherme d'adsorption de la farine des larves d'*Imbrasia epimethea* ajusté aux modèles de GAB, BET, SMITH, OSWIN, PELEG et HASLEY ( $T = 40^\circ\text{C}$ )

Annexe 11.      **Activité de l'eau et chaleur isostérique des farines d'insectes****Tableau 8:** Activité de l'eau pour chaque teneur en eau des farines d'insectes

	Teneur en eau g/100 g MS	Température			Activité de l'eau
		293°K	303°K	313°K	
<i>Rhynchophorus phoenicis</i>	2,5	0,30	0,32	0,33	
	5	0,48	0,48	0,53	
	10	0,67	0,68	0,72	
	15	0,77	0,77	0,81	
	20	0,82	0,83	0,85	
	25	0,86	0,86	0,88	
	30	0,89	0,89	0,90	
<i>Imbrasia truncata</i>	2,5	0,19	0,27	0,33	
	5	0,45	0,52	0,54	
	10	0,73	0,77	0,80	
	15	0,85	0,88	0,89	
	20	0,91	0,95	0,94	
<i>Imbrasia epimethea</i>	2,5	0,20	0,32	0,25	
	5	0,44	0,52	0,50	
	10	0,77	0,73	0,79	
	15	0,87	0,82	0,88	
	20	0,92	0,87	0,91	

**Tableau 9:** Évolution de la chaleur isostérique nette d'adsorption des différents insectes en fonction de la teneur en eau

Teneur en eau	<i>Rhynchophorus phoenicis</i>		<i>Imbrasia truncata</i>		<i>Imbrasia epimethea</i>	
	$-q_{st}/R$	$q_{st}$	$-q_{st}/R$	$q_{st}$	$-q_{st}/R$	$q_{st}$
2,5 (g/100 g MS)			-1031	8,57	-482,8	4,01
5 (g/100 g MS)	-210,5	1,75	-390,1	3,24	-229,3	1,91
10 (g/100 g MS)	-159	1,32	-191,8	1,59	-57,03	0,47
15 (g/100 g MS)	-100,4	0,83	-98,62	0,82	-25,03	0,21
20 (g/100 g MS)	-65,11	0,54	-60,6	0,50	-17,16	0,14
25 (g/100 g MS)	-36,1	0,30				
30 (g/100 g MS)	-14,98	0,12				

## Annexe 12. Teneur en protéines extraites par concentration en broyat

Tableau 10 : Teneur en protéines extraites par concentration en broyat

Moyenne Abs Échantillon	[protéine solution testée] (µg/mL)	Facteur de dilution	[protéine] échantillon (µg/mL)	[protéine] échantillon (mg/mL)	Volume départ 10 mL (mg)	Broyat (mg)	Rdt Extraction (g/100g MF)
0,139	76,73	10	767,33	0,77	7,673	507,7	1,51
1,763	1159,40	10				507,7	
0,305	187,40	10				507,7	3,69
0,270	164,07	10	1640,67	1,64	16,407	1003,94	1,63
0,233	139,40	10	1394,00	1,39	13,940	1003,94	1,39
0,260	157,40	10	1574,00	1,57	15,740	1003,94	1,57
0,437	275,40	10	2754,00	2,75	27,540	1999,99	1,38
0,423	266,07	10	2660,67	2,66	26,607	1999,99	1,33
0,457	288,73	10	2887,33	2,89	28,873	1999,99	1,44
0,556	354,73	10	3547,33	3,55	35,473	2998,66	1,18
0,606	388,07	10	3880,67	3,88	38,807	2998,66	1,29
0,607	388,73	10	3887,33	3,89	38,873	2998,66	1,30
0,700	450,73	10	4507,33	4,51	45,073	4011,12	1,12
0,707	455,40	10	4554,00	4,55	45,540	4011,12	1,14
0,691	444,73	10	4447,33	4,45	44,473	4011,12	1,11
0,772	498,73	10	4987,33	4,99	49,873	5016,64	0,99
0,799	516,73	10	5167,33	5,17	51,673	5016,64	1,03



**Annexe 13. Classes de lipides et d'acides gras des extraits aqueux de larves de *Rhynchophorus phoenicis***

**Tableau 11:** Teneur en lipides et classes de lipides des extraits aqueux de protéines de larves de *Rhynchophorus phoenicis* (pH 3,0 à 10,0)

pH	TAG (mg/mL)	AGL (mg/mL)	Lipides (mg/mL)
3,0	0,23 ± 0,07 b	0,127 ± 0,008 b	0,35 ± 0,07
4,0	0,28 ± 0,01 b	0,058 ± 0,004 b	0,34 ± 0,01
5,0	0,22 ± 0,09 b	0,058 ± 0,020 b	0,28 ± 0,11
6,0	0,21 ± 0,02 b	0,157 ± 0,056 b	0,37 ± 0,07
7,0	0,25 ± 0,02 b	0,074 ± 0,002 b	0,32 ± 0,02
8,0	0,30 ± 0,05 b	0,33 ± 0,03 b	0,63 ± 0,08
9,0	0,95 ± 0,02 a	0,37 ± 0,08 b	1,33 ± 0,09
10,0	0,92 ± 0,06 a	0,62 ± 0,44 a	1,54 ± 0,35

Pour chaque colonne, les valeurs avec différentes lettres minuscules sont statistiquement différents (P < 0,05 ; n=3)

**Tableau 12:** Teneur en acide gras des lipides des extraits aqueux de protéines des larves de *Rhynchophorus phoenicis* à différents pH (mg/mL d'extrait aqueux de protéines)

	pH3	pH4	pH5	pH6	pH7	pH8	pH9	pH10
<b>Total AG (µg)</b>	194,8 ± 1,8	94,5 ± 8,0	72,4 ± 34,2	168,9 ± 24,3	99,2 ± 4,5	333,4 ± 12,4	1625,8 ± 330,4	1339,9 ± 127,1
<b>C12</b>	5,1 ± 0,9	4,3 ± 0,2	3,2 ± 1,3	4,8 ± 1,1	4,3 ± 0,3	4,4 ± 0,4	3,5 ± 0,9	2,3 ± 0,1
<b>C14</b>	7,2 ± 2,8	1,9 ± 0,2	1,4 ± 0,7	4,3 ± 0,5	1,8 ± 0,1	8,1 ± 0,4	33,4 ± 5,8	25,6 ± 2,4
<b>C16</b>	79,0 ± 9,3	36,6 ± 3,4	28,5 ± 12,9	66,8 ± 10,1	35,9 ± 1,6	73,1 ± 2,8	435,8 ± 46,8	350,4 ± 35,0
<b>C16:1n-9</b>	3,4 ± 0,2	2,2 ± 0,2	1,4 ± 0,8	3,7 ± 0,3	1,5 ± 0,0	2,1 ± 0,1	7,8 ± 1,9	6,1 ± 0,5
<b>C16:1n-7</b>				2,3 ± 0,8	3,7 ± 0,1	16,8 ± 0,7	67,1 ± 21,2	49,7 ± 5,1
<b>C17:1</b>				0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	2,9 ± 1,6	2,6 ± 0,4
<b>C18</b>	26,2 ± 2,3	16,4 ± 1,4	12,8 ± 5,5	23,2 ± 5,4	18,0 ± 1,2	23,2 ± 0,9	87,3 ± 13,0	73,0 ± 6,1
<b>C18:1n-9</b>	48,0 ± 2,7	15,9 ± 2,9	13,6 ± 8,0	47,2 ± 4,2	23,1 ± 0,5	167,1 ± 7,0	828,4 ± 205,8	685,0 ± 73,4
<b>C18:1n-7</b>					1,6 ± 0,5			
<b>C18:2n-6</b>	5,0 ± 0,3	2,0 ± 0,3	1,6 ± 1,3	4,9 ± 0,4	1,9 ± 0,4	20,6 ± 0,9	105,4 ± 29,5	93,6 ± 10,0
<b>C18:3n-3</b>			0,8 ±	2,1 ± 0,3		6,3 ± 0,1	27,2 ± 6,5	24,1 ± 2,5
<b>C20</b>	2,2 ± 0,9	7,8 ± 0,4	6,8 ± 1,8	1,8 ± 0,4		2,0 ± 0,3	10,7 ± 1,3	11,4 ± 0,3
<b>C20:1n-9</b>						2,9 ± 0,2	10,6 ± 9,3	4,1 ± 2,5
<b>C22</b>	2,4 ± 0,1	2,0 ± 0,2	1,7 ± 0,4	2,8 ± 0,8	2,0 ± 0,1	2,1 ± 0,4	4,4 ± 1,1	5,3 ± 1,0
<b>C22:1n-9</b>	16,4 ± 18,1	5,5 ± 0,6	4,3 ± 0,5	5,2 ± 0,6	5,5 ± 1,1	4,8 ± 0,2	4,8 ± 0,5	6,4 ± 1,5

**Annexe 14. Fréquence des diamètres en volume des émulsions à base de concentrat de protéines de des larves de *Rhynchophorus phoenicis* en fonction du pH.**

**Tableau 13:** Distribution des tailles ( $D_{4,3}$ ) des émulsions de concentrat de protéines de *Rhynchophorus phoenicis*

Diamètre ( $\mu\text{m}$ )	pH 3		pH 5		pH 7		pH 9	
	(1% SDS)	pH 3	(1% SDS)	pH 5	(1% SDS)	pH 7	(1% SDS)	pH 9
0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00
0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,00	0,00	0,14
0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	0,12	0,00	0,18
0,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,25	0,15	0,00	0,24
0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31	0,19	0,10	0,31
0,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,36	0,22	0,13	0,39
0,23	0,11	0,00	0,00	0,00	0,41	0,26	0,16	0,47
0,26	0,12	0,00	0,00	0,00	0,45	0,29	0,19	0,54
0,30	0,13	0,00	0,00	0,00	0,47	0,31	0,22	0,61
0,34	0,14	0,00	0,00	0,00	0,47	0,31	0,24	0,66
0,39	0,14	0,00	0,00	0,00	0,44	0,30	0,26	0,67
0,45	0,14	0,00	0,00	0,00	0,39	0,29	0,29	0,63
0,51	0,14	0,00	0,00	0,00	0,34	0,28	0,32	0,59
0,58	0,15	0,00	0,00	0,00	0,32	0,28	0,37	0,56
0,67	0,17	0,00	0,00	0,00	0,32	0,31	0,45	0,57
0,77	0,22	0,00	0,00	0,00	0,36	0,37	0,59	0,66
0,88	0,31	0,00	0,00	0,00	0,46	0,51	0,83	0,86
1,01	0,48	0,00	0,12	0,00	0,66	0,78	1,26	1,31
1,15	0,86	0,11	0,24	0,00	1,14	1,38	2,09	2,21
1,32	1,58	0,26	0,53	0,00	2,01	2,47	3,45	3,79
1,51	2,73	0,61	1,11	0,00	3,31	4,07	5,26	5,93
1,73	4,40	1,30	2,12	0,11	5,09	6,23	7,53	8,40
1,98	6,77	2,68	3,91	0,34	7,47	9,00	10,15	11,06
2,27	9,63	5,20	6,77	0,92	10,18	11,88	12,45	13,03
2,60	12,36	9,06	10,55	2,27	12,52	13,94	13,60	13,42
2,98	13,99	13,61	14,30	4,99	13,58	14,20	12,99	11,95
3,41	13,76	17,07	16,41	9,45	12,77	12,35	10,72	9,12
3,91	11,70	17,50	15,70	14,93	10,32	9,08	7,61	5,96
4,47	8,62	14,49	12,43	18,98	7,16	5,62	4,64	3,32
5,12	5,53	9,66	8,17	18,89	4,27	2,93	2,44	1,58
5,87	3,13	5,19	4,48	14,46	2,20	1,28	1,11	0,64
6,72	1,58	2,26	2,08	8,44	0,99	0,48	0,44	0,22
7,70	0,72	0,80	0,82	4,02	0,39	0,15	0,16	0,00
8,82	0,29	0,23	0,28	1,58	0,14	0,00	0,00	0,00
10,10	0,11	0,00	0,00	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00
11,57	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00
13,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

# **LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS**

---

## LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

### I. Publications dans journaux à comité de lecture

**Aymar Rodrigue FOGANG MBA**, Germain KANSCI, Michèle VIAU, Nordine HAFNAOUI, Anne MEYNIER, Gustave DEMMANO, Claude GENOT, 2017. Lipid and amino acid profiles support the interest of *Rhynchophorus phoenicis* larvae for human nutrition. *Journal of Food Composition and Analysis*, 60, 64-73

**Aymar Rodrigue FOGANG MBA**, Germain KANSCI, Michèle Viau, Lucie Ribourg, John FOGOHO MUAFOR; Nordine HAFNAOUI, Philippe LE GALL, Claude GENOT, 2018. Growing conditions and morphotypes of African palm weevil (*Rhynchophorus phoenicis*) larvae influence their lipophilic nutrient but not their amino acid compositions. *Journal of Food Composition and Analysis*, 69, 87 - 97

### II. Communications orales ou affichés dans les colloques, congrès nationaux et internationaux

#### 1. Communications orales

**Aymar Rodrigue Fogang Mba**, Germain Kansci, Michèle Viau, Claude Genot (2016). Lipid profiling of an African edible insect: *Rhynchophorus phoenicis* larvae. Conférence annuelle du Comité Camerounais de Biosciences, 01-03 décembre 2016, Bangangté, Cameroun.

**Aymar Rodrigue Fogang Mba**, Germain Kansci, Michèle Viau, Claude Genot (2016). Two Cameroonian edible caterpillars as supplementary sources of dietary proteins and dietary fats to address malnutrition. Conférence annuelle du Comité Camerounais de Biosciences, 01-03 décembre 2016, Bangangté, Cameroun.

#### 2. Communications affichées

Aymar Rodrigue Fogang Mba, Élisabeth DAVID-BRIAND, Michèle VIAU, Germain KANSCI, Alain RIAUBLANC, **Claude GENOT** (2017). Solubility and emulsifying properties of aqueous extracts and protein concentrate from African palm weevil larvae. *Biopolymers 2017-Key Ingredients for the Food Transition*, Nantes, France.

**Aymar Rodrigue Fogang Mba**, Germain KANSCI, Patricia CORBIÈRE, Catherine LOISEL, Claude GENOT (2017). Aptitude au stockage d'un insecte comestible : isotherme d'adsorption et chaleur isostérique de *Rhynchophorus phoenicis*. 3<sup>ième</sup> Conférence Nationale de Nutrition de la Société Camerounaise des Sciences de la Nutrition, 10 – 12 Octobre 2017, Université de Yaoundé I, Cameroun.

**Aymar Rodrigue FOGANG MBA**, Michelle VIAU, Élisabeth DAVID-BRIAND, Michèle VIAU, Germain KANSCI, Alain RIAUBLANC, Claude GENOT (2016). Influence of pH on the emulsifying properties of aqueous extract of *Rhynchophorus phoenicis* Larvae. Food Colloids 2016, avril 2016, Wageningen, Netherlands.

**Aymar Rodrigue FOGANG MBA**, Germain KANSCI, Gustave DEMMANO, Claude GENOT (2014). Étude des propriétés nutritionnelles et de l'aptitude à transformation de trois insectes consommés au Cameroun. 1<sup>er</sup> colloque Insectinov 2014, 01-03 décembre 2014, Romainville, France.

**TIRÉS À PART DES PUBLICATIONS**

---



Original research article

## Lipid and amino acid profiles support the potential of *Rhynchophorus phoenicis* larvae for human nutrition



Aymar Rodrigue Fogang Mba<sup>a,b</sup>, Germain Kansci<sup>b</sup>, Michèle Viau<sup>a</sup>, Nordine Hafnaoui<sup>c</sup>, Anne Meynier<sup>a</sup>, Gustave Demmano<sup>b</sup>, Claude Genot<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> UR1268 BIA (Biopolymères Interactions Assemblages), INRA, 44300 Nantes, France

<sup>b</sup> University of Yaounde I, Department of Biochemistry, Laboratory of Food Science and Metabolism, PO Box 812, Yaounde, Cameroon

<sup>c</sup> UNH (Human Nutrition Unit), INRA, Université d'Auvergne, CRNH Auvergne, 63000 Clermont-Ferrand, France

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Edible insects  
*Rhynchophorus phoenicis* larvae  
 Lipids  
 Proteins  
 Fatty acids  
 Amino acids  
 Triacylglycerols  
 Phospholipids

### ABSTRACT

In view of future use of insects in the diet, *Rhynchophorus phoenicis* larvae were evaluated for their potential as protein and lipid sources. Their lipid and protein contents represented  $21.35 \pm 2.01$  g/100 g and  $8.18 \pm 0.44$  g/100 g fresh weight (FW), respectively, with energy content of 940.0 kJ (224.9 kcal)/100 g FW. Indispensable amino acids were in higher amounts than in Food and Agriculture Organization (FAO) reference protein, with remarkably high scores for tryptophan and sulfur amino acids. Total lipids comprised neutral lipids ( $97.53 \pm 0.05$  g/100 g lipid), glycolipids ( $0.59 \pm 0.04$  g/100 g), phospholipids ( $1.88 \pm 0.06$  g/100 g) and tocopherols ( $146 \pm 13$  µg/g). Total and neutral lipids had palmitic and oleic acids (38 and 46 g/100 g total fatty acids, respectively) as main fatty acids, and palmitoyl, dioleoylglycerol (POO) ( $36.4 \pm 0.3\%$ ) and dipalmitoyl, oleylglycerol (PPO) ( $30.3 \pm 0.3\%$ ) as main triacylglycerol molecular species. This composition explains the lipid melting/crystallization profile. Polyunsaturated fatty acids represented  $0.76 \pm 0.17$  g/100 g fresh larvae (linoleic acid:  $0.58 \pm 0.11$  g/100 g; alpha-linolenic acid:  $0.17 \pm 0.06$  g/100 g). They concentrated in the phospholipids, characterised by a majority of choline-carrying species and high levels of lyso-phospholipids. These results confirm that *Rhynchophorus phoenicis* larvae are a potential alternative source of dietary fat and proteins that can be used to address under-nutrition and malnutrition.

### 1. Introduction

Insects represent more than 90% of the living animal species on the earth. With the increase of the human population to 9 billion people in 2050, great attention is being paid to insects as a source of food and energy (Van Huis et al., 2013). If entomophagy is not well accepted in Western countries, it is practiced in many other regions of the world, such as Asia, South America, Australia and Africa (Ramos-Elorduy et al., 1997; Van Huis et al., 2013; Caparros Megido et al., 2014). Indeed, at least 2000 species of insects are already consumed by humans around the world, including 500 species in Africa (Jongema, 2015). In this region, one of the most eaten orders is coleoptera (Van Huis et al., 2013). *Rhynchophorus phoenicis* is a coleoptera of *Curculionidae* family. Also known as African palm weevil, it is widespread throughout tropical Africa, and used as a food source by many populations. African palm weevils are consumed as delicacies as part of the normal diet throughout the year and during times of shortage by rural populations (Womeni et al., 2012; Tamesse et al., 2016). They

now can be bred and small production units are being developed in Central Africa (Muafor et al., 2015). *Rhynchophorus phoenicis* larvae are rich in lipids and proteins and contain vitamins A, B<sub>2</sub> and C, while minerals and carbohydrates are minor compounds (Rumpold and Schlüter, 2013). *Rhynchophorus phoenicis* larvae were claimed to contain high proportions (50.9 g/100 g total fatty acids) of essential polyunsaturated fatty acids, mainly composed of linoleic acid with a small proportion of linolenic acid (Womeni et al., 2009). This result contrasts with other data showing lower contents of these fatty acids in the larvae (Rumpold and Schlüter, 2013). Fractionation of *Rhynchophorus phoenicis* larvae yielded mainly neutral lipids (88 g/100 g total lipids) and polar lipids (11 g/100 g total lipids) (Ekpo et al., 2009). To our knowledge, information on the detailed compositions of the lipid fractions, such as their fatty acid compositions, is presently missing. These data are of interest because content and composition of lipids not only influence their nutritional and functional properties, but also those of the overall food. For instance triacylglycerol molecular species, including the regiospecific distribution of the fatty acids on the

\* Corresponding author.

E-mail address: [claude.genot@inra.fr](mailto:claude.genot@inra.fr) (C. Genot).

triacylglycerol molecules are important in nutrition, as they can affect fatty acids bioavailability and metabolism (Michalski et al., 2013). Molecular species of triacylglycerols of *Rhynchophorus ferrugineus* larvae were determined by liquid chromatography analysis (Ali et al., 2006), but to our knowledge such data are lacking for *Rhynchophorus phoenicis* larvae. The quantity of vitamins E components (tocopherol isomers) and the different classes of phospholipids (dietary supply in ethanolamine, choline, inositol, ... moieties) carried by this food source also remain unknown. To sum up, few or no information exists on the detailed composition of the lipids of *Rhynchophorus phoenicis* larvae and their thermal properties. Concerning amino acid composition of the larvae, eighteen amino acids have been identified, among them, most of the indispensable amino acids (Ekpo and Onigbinde, 2005). Their quantities were found sometimes higher to that of FAO reference proteins (WHO/FAO/UNU, 2007). However, the quantities of some indispensable amino acids such as tryptophan and cysteine were not evaluated and need to be established.

Altogether, accurate data about lipid and protein composition of *Rhynchophorus phoenicis* larvae are needed to evaluate both the functional and nutritional properties of the larvae and to develop the use of insect-derived products in the food industry. In this context the aim of this work was to determine the detailed amino acid and lipid composition (fatty acid composition of total lipids and of main lipid fractions, lipid classes, triacylglycerol molecular species, tocopherol isomers contents) of *Rhynchophorus phoenicis* larvae and to determine the thermal properties of the total lipid extract.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Larvae sampling, preparation of freeze-dried insect flour and experimental design

Four batches of living *Rhynchophorus phoenicis* larvae were used in this study. Three of them were collected in the wild from 3 different raffia palm trees at Elende, a village located 90 km of Yaoundé, Cameroon. The last batch consisted of larvae purchased at the local markets NkolNdongo, MvogAtangana Mballa and Mvog-Mbi of Yaoundé (Cameroon). Ten (10) larvae were randomly selected in each batch and weighed individually. The weight of the larvae collected from the wild ranged between 4.8 g and 9.5 g with an average weight of  $6.6 \pm 1.2$  g. The larvae collected in market weighed between 4.7 and 7.7 g with an average weight at  $6.1 \pm 0.9$  g. The living insects were washed with tap water, frozen and stored at  $-20$  °C until further use.

To obtain the insect flours, the frozen insects were freeze-dried for 72 h, and then ground into powder with a laboratory mill (20,000 rpm; M 20, IKA, Staufen, Germany). The insects were weighed before and after freeze-drying to calculate water losses. The resulting flour was stored in air-tight flasks at  $-20$  °C until subsequent analysis.

Water, protein, ash and amino acid analyses were performed on the freeze-dried insect flours (4 batches) while total lipids were extracted from the raw insects after thawing. Detailed analysis of lipids was performed on the total lipids extracted from only the larvae collected at the market place. Each analysis was performed in triplicate, unless otherwise specified, and data reported as means  $\pm$  standard deviation. Variance analysis and comparison of means (Tukey HSD) were performed with XLSTAT software (Version 2013.2.04, Addinsoft™, Paris, France) with a threshold value of 0.05 ( $p < 0.05$ ).

### 2.2. Chemicals and solvents

D-Glucosaminic acid solution (Ref 0259 >98%), 37% HCl, barium hydroxide, ninhydrin reagent solution (Ref 29670511) and  $\text{BF}_3/\text{CH}_3\text{OH}$  (14%) were supplied by Sigma-Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France). Eluting solvents for amino acid analysis (solvents A to F, pH 2.94–10.5) were furnished by VWR (France). Chloroform (Stab Ethanol, HPLC grade), dichloromethane (amylene stabilized, HPLC grade), tert-

butyl methyl ether (HPLC grade), *n*-hexane (HPLC grade), methanol absolute (HPLC grade Supra-Gradient), acetone (HPLC grade) were purchased from Biosolve Chimie SARL (Dieuze, France). Cyclohexane (RS Plus for residual pesticide analysis) and ammonia (30% solution for analysis ACS) were purchased from Carlo Erba Reagents SAS (Val de Reuil, France).

### 2.3. Determination of water, ash, protein and lipid contents

To measure the water content of the insect flour, 3 g of flour were dried at 103 °C until constant weight for at least 4 h (AOAC, 1996). Water content of the fresh insects was calculated from the water contents of the insect flours combined with the water losses during freeze-drying.

Ash content of the insect flour was measured by weighing 3 g of the flour before and after its incineration in a muffle oven at 550 °C for at least 15 h (AOAC, 1996).

Protein content was determined according to the Dumas method with an elemental analyser for nitrogen (Vario ISOTOPE Cube; Elementar, Frankfurt, Germany) with nitrogen-to-protein conversion factor of 6.25.

Total lipids were extracted according to Folch et al. (1957) with slight modifications. Dichloromethane which is more volatile than chloroform was used instead of chloroform during the extraction step. Briefly, approximately 10 g of thawed insects were extracted twice with 70 mL dichloromethane/methanol (2:1, v/v). The extracted lipids were dried, weighed, then solubilized in  $\text{CHCl}_3$  and finally stored at  $-20$  °C until further analysis.

The energy value was calculated using the Atwater coefficient, using 16.2 kJ (4 kcal)/g for proteins and total carbohydrates and 37.62 kJ (9 kcal)/g for lipids.

### 2.4. Amino acid analysis

Amino acid composition of *Rhynchophorus phoenicis* larvae flour was achieved by ion-exchange chromatography after protein hydrolysis. Briefly, samples were accurately weighed and an internal standard (DL-norleucine, ref N1398, Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) was added to allow further quantification of amino acids. Four conditions of protein hydrolysis were carried out to recover all amino acids. Three acid hydrolyses (HCl 6 N, 110 °C) were carried out, namely: 24 h, 24 h after oxidation by performic acid for the determination of sulfur amino acids, and 48 h for branched-chained amino acids. One alkaline hydrolysis ( $\text{Ba}(\text{OH})_2$ , 4 N, 110 °C, 16 h) was performed for tryptophan determination. Immediately after hydrolysis, HCl (or  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ ) was removed under vacuum with an evaporator concentrator (Genevac 2-EZ, SP Scientific, UK). The amino acids were dissolved in the loading buffer and then separated by ion-exchange chromatography with ninhydrin post-column reaction (Hitachi L8900 HPLC apparatus; ScienceTec, Villebon-sur-Yvette, France). Twenty microliters of sample hydrolysates were injected with the auto sampler at 4 °C. The stationary phase was made of cations of polystyrene-divinylbenzene copolymer (125 mm L  $\times$  4 mm ID, Li-Form, PEEK), and the mobile phase consisted of lithium acetate buffers with increasing pH values (2.94–10.51). Separated amino acids were derivatized by ninhydrin and then detected at 570 nm, except for proline at 440 nm. Cysteine and methionine were detected as cysteine acid and methionine sulfone, respectively. Indispensable amino acid scores were defined for each indispensable amino acid as the ratio of its content in the insect proteins to that in the reference protein (WHO/FAO/UNU, 2007).

### 2.5. Analysis of the lipid extracts

#### 2.5.1. Lipid extract fractionation

Total lipids (TL) were fractionated by solid-phase extraction (SPE) with a 500 mg silica gel bonded column (Interchrom UPTI-CLEAN-SI-S,



Interchim, Montluçon, France) as described by [Juaneda and Rocquelin \(1985\)](#). Cartridges were conditioned first with 2 mL of methanol and then with 5 mL of chloroform. Lipids (100 mg in 1 mL chloroform) were loaded onto the cartridges under vacuum. The neutral lipids were first eluted with 6 mL of chloroform. Glycolipids (GL) were then recovered with 6 mL acetone and finally phospholipids (PL) with 6 mL methanol. The collected fractions were dried under a stream of nitrogen and finally weighed. The fractions were dissolved in chloroform and stored at  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  until further analysis.

### 2.5.2. Tocopherol analysis

Tocopherols were analysed as described by [Kabri et al. \(2013\)](#). The separation of tocopherol isomers ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  and  $\delta$  tocopherols) was achieved by HPLC UltiMate 3000 RS System (Dionex, Voisins Le Bretonneux, France) equipped with a polar silica column (Dionex Polar Advantage 2; 250 mm  $\times$  3 mm, 3  $\mu\text{m}$ ) and quantified with fluorescence detection (RF2000, Dionex; excitation: 295 nm; emission: 330 nm). The mobile phase consisted of *n*-hexane/*tert*-butyl methyl ether (90:10, v/v). Twenty microliters of lipid extract solubilized in *n*-hexane (100 mg/mL) were injected and eluted in isocratic mode at a flow rate of 0.5 mL/min. Samples were maintained at  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  and column at  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ . The compounds were identified by comparison of their time of retention with authentic standards (tocopherol set 613424; Calbiochem, Germany) and  $\gamma$ -tocotrienol (T0702; Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France), also used for the external calibration. The results were expressed as  $\mu\text{g}$  tocopherols per g lipid.

### 2.5.3. Determination of classes of neutral lipids and phospholipids

Neutral and phospholipid fractions purified by SPE were further analysed by high-performance liquid chromatography (HPLC) with a modular UltiMate 3000 RS System (Dionex, Voisins Le Bretonneux, France) equipped with an UptisphereStrategy column (150 mm  $\times$  4.6 mm, 2.2  $\mu\text{m}$ , 100  $\text{\AA}$ ; Interchim, Montluçon, France), and coupled to an evaporative light scattering detector (ELSD) Sedex 85 (Sedere S.A., Alfortville, France). Chromeleon<sup>®</sup> Chromatography Management Software (Dionex) was used for system control and data processing. Approximately 5  $\mu\text{g}$  of each lipid fraction in 10  $\mu\text{L}$  chloroform were eluted separately using a gradient from solvent A: chloroform to solvent B: methanol/ammonia (30% in water)/chloroform (92:7:1, v/v/v). The gradient started from 100% A to 20% B in 3 min and then increased to 100% B in 9 min. After a plateau at 100% B for 3 min programmed for PL analysis only, the column was equilibrated at 100% A for 3 min. The analysis was carried out at  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  with a flow rate of 1 mL/min. The ELSD temperature was set at  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , the nebulizer gas pressure (dried and filtered air) was fixed at 3 bars and the photomultiplier sensitivity was set to gain 6. Lipid classes were identified by comparison of their retention times to those of lipid standards and their concentrations calculated by the use of calibration curves obtained with each standard. Triolein, diolein, monoolein, oleic acid, phosphatidylcholine (PC), phosphatidylethanolamine (PE), phosphatidylserine (PS), phosphatidylinositol (PI), sphingomyelin (SPH) lyso-phosphatidylcholine (LPC) were purchased from Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France). The glycolipid fraction was also analysed using glycolipid standards (digalactosyl-diacylglycerol (DGDG), monogalactosyl-monoacylglycerol (MGMG) and monogalactosyl-diacylglycerol (MGDG)) purified from wheat flour at the laboratory as described previously ([Bottier et al., 2007](#)).

### 2.5.4. Fatty acid composition of lipid fractions

Fatty acid composition of total, neutral and polar lipids of *Rhynchophorus phoenicis* larvae were determined after transmethylation of 1 mg lipid with  $\text{BF}_3/\text{CH}_3\text{OH}$  14% in the presence of an internal standard (C17:0) according to [Morrison and Smith \(1964\)](#). Analysis of fatty acid methyl esters (FAME) was performed on a gas chromatograph (Clarus<sup>®</sup> 680 GC, Perkin Elmer, High Wycombe, UK) paired with a splitless injector and a flame ionization detector. Fatty acid methyl

esters were separated on a capillary column (DB225, 30 m  $\times$  0.25 mm, film thickness 0.25  $\mu\text{m}$ , Agilent Technologies) after splitless injection. The carrier gas ( $\text{H}_2$ ) was set at 2 mL  $\text{min}^{-1}$ . The initial temperature of the oven was held at  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  for 3 min and then increased to  $180\text{ }^{\circ}\text{C}$  at  $15\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  followed by an isotherm for 7 min. The temperature was finally increased to  $220\text{ }^{\circ}\text{C}$  at  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  and held at  $240\text{ }^{\circ}\text{C}$  for 10 min. The temperature of the flame ionization detector was maintained at  $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Individual fatty acids were identified by comparison of their retention times with those of standards (FAMEmix; Supelco, Sigma Saint Quentin Fallavier, France). Area of peaks corresponding to each fatty acid were integrated and corrected by response factor of individual fatty acids ([Ackman, 1993](#)). Results were expressed as percentage of each fatty acid (FA) to the total identified fatty acids (TFA) (g/100 g TFA) and as  $\text{mg g}^{-1}$  lipids.

### 2.5.5. Identification of triacylglycerol (TAG) molecular species

**2.5.5.1. Separation and quantification by reverse-phase HPLC.** The TAG molecular species were separated by reverse-phase liquid chromatography UltiMate 3000 RS System (Dionex, Voisins Le Bretonneux, France) on two paired columns (Nucleoshell RP 18 HPLC column, 90A, 2.7  $\mu\text{m}$ , 4.6  $\times$  150 mm; Macherey-Nagel, Hoerdtt, France). Sample dissolved in chloroform/methanol (1:1; v/v) (10 mg/mL) was eluted using a gradient elution from solvent A: acetonitrile to solvent B: chloroform. The gradient went from 15% B to 45% B in 65 min. The mobile phase was brought back to initial conditions and the column was allowed to equilibrate for 3 min until the next injection. The mobile phase flow rate was 1 mL  $\text{min}^{-1}$ . The TAGs were detected by an ELSD Sedex 85 (Sedere S.A., Alfortville, France). TAGs were separated according to their equivalent carbon number (ECN) calculated as follows:

$$\text{ECN} = \text{number of carbons on the fatty chain} - 2 \times \text{number of double bonds.}$$

The content of each identified TAG was expressed as percentage of total TAGs. Individual peaks were identified by comparing their retention times with those of pure TAG standard (triolein: OOO, Sigma, Saint-Quentin Fallavier, France) and oils of known TAG compositions (olive, sunflower, rapeseed and nut oils). They were quantified by comparison of their peak areas with a calibration curve plotted from the peak areas given by 5–80  $\mu\text{g}$  triolein (0.25–4 mg/mL).

### 2.5.5.2. Identification by matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry (MALDI TOF).

Five microliters of *Rhynchophorus phoenicis* neutral lipid fraction (2 mg/mL) were mixed with 45  $\mu\text{L}$  of a matrix. A 0.5- $\mu\text{L}$  aliquot of the mixture was then applied directly to a stainless steel MALDI target. The matrix consisted of 2.5 dihydroxybenzoic acid (DHB: 5 mg/mL) solubilized in methanol/water (90%, v/v). Subsequently, samples were allowed to crystallize at room temperature. Spectra were acquired on an Autoflex-Speed MALDI-TOF spectrometer (Bruker Daltonics, Wissembourg, France) equipped with a Smart beam laser (355 nm, 1000 Hz) and controlled with the Flex Control 3.4 software package ([Bruker, 2017](#); <http://www.bruker.com>). The mass spectrometer was operated with a positive polarity in the reflectron mode, and spectra were acquired in the  $m/z$  range 500–1000. The mass spectrometer (time-of-flight) was calibrated with polyethylene glycol (PEG) using the following  $m/z$ : 525.2887, 569.3149, 613.3411, 657.3673, 701.3936, 745.4198, 789.4460, 833.4722, 877.4984, 921.5246, 965.5509, 1009.5771, 1053.6033, 1097.6295, 1141.6557, and 1185.6819. Each spot was shot with the laser and spectra accumulated. TAGs were ionized as sodium adducts,  $m/z$  corresponding to  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ . A dedicated database ([Lipids Maps](#), <http://www.lipidmaps.org/tools/ms>) was used to deduce the possible molecular species from the  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  obtained by MALDI TOF. The software also takes into account the fatty acid composition of the TAGs.

### 2.5.6. Differential scanning calorimetry (DSC) of *Rhynchophorus phoenicis* total lipids

Thermal properties of *Rhynchophorus phoenicis* total lipids were characterized by DSC (Q100; TA Instruments, Guyancourt, France). The calorimeter was calibrated with indium. An empty sealed aluminium pan was used as a reference in each test. Between 5–15 mg of *Rhynchophorus phoenicis* oil were accurately weighted in aluminium pans (Tzero® Pans; ref 901683; 40 µL, TA, Waters, Guyancourt, France), which were then sealed. Pans were inserted in the DSC apparatus, which was equilibrated at 25 °C prior to analysis. To erase the thermal history of the lipids, the pans were heated at 70 °C for 10 min. The samples were cooled to –60 °C at the rate of 1 °C/min and equilibrated at this temperature for 3 min. Then, they were heated up to +70 °C at the rate of 5 °C/min. Thermograms were analysed with TA Universal Analysis software. DSC parameters used to describe melting and crystallization behaviour of *Rhynchophorus phoenicis* larvae total lipids were: heat transitions (J/g), peak maximum temperatures (°C), and onset temperatures (°C). Analyses were performed in triplicate.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Proximate composition of *Rhynchophorus phoenicis* larvae

The assessment of the nutritional value of *Rhynchophorus phoenicis* larvae and its comparison to other food sources is essential to evaluate their incorporation in the human diet. Proximate composition of *Rhynchophorus phoenicis* larvae is presented in Table 1, its results of separate analysis (triplicates) performed on the four batches of *Rhynchophorus phoenicis* larvae.

The water content of *Rhynchophorus phoenicis* larvae batches ranged between 69.50 ± 0.09 g/100 g FW (market batch) and 71.07 ± 0.11 g/100 g FW (one wild batch), with a mean value of 70.15 ± 0.68 g/100 g FW (FW) (Table 1). These values are in a very narrow range even if significant difference within batches ( $p < 0.05$ ) can be observed (data not shown). They are higher than the water contents reported by Womeni et al. (2012) on *Rhynchophorus phoenicis* larvae (61.9 ± 0.2 g/100 g FW), and by Nowak et al. (2016) on *Tenebrio molitor* larvae (62.1 g/100 g FW). They are similar to water content of fresh meat and meat products. Due to this high water content, leading to an elevated water activity (close to 1), after death, *Rhynchophorus phoenicis* larvae can suffer microbial adulteration. Drying will decrease their water activity and thus minimize microbial activity.

The ash content of *Rhynchophorus phoenicis* larvae batches ranged from 0.50 ± 0.02 g/100 g FW (market larvae, significantly different from the 3 other batches,  $p < 0.05$ ) to 0.81 ± 0.02 g/100 g FW with a mean value of 0.65 ± 0.14 g/100 g FW (2.18 ± 0.41 g/100 g dry weight (DW)) (Table 1). These values are lower than those obtained by Womeni et al. (2012): 5.5 ± 0.2 g/100 g DW.

Protein content of different batches of *Rhynchophorus phoenicis* larvae did not differ significantly ( $p > 0.05$ ), ranging from 7.78 ± 0.27 to 8.42 ± 0.21 g/100 g FW, with a mean value of 8.18 ± 0.44 g/100 g FW (27.5 ± 1.51 g/100 g DW) (Table 1). These values are within the range of protein contents of *Rhynchophorus phoenicis* larvae (10.3–35.6 g/100 g DW) reported by Rumpold and Schlüter (2013). Compared to other animal sources of proteins, the levels are lower than that of lean pork (91 g/100 g dry weight), chicken

(91 g/100 g dry weight), lean beef (90 g/100 g dry weight), ham (63 g/100 g dry weight), and eggs (48 g/100 g dry weight), skimmed milk powder and pasteurized milk (37 g/100 g dry weight) (Heinz and Hautzinger, 2007; Anses, 2016 (<https://pro.anses.fr/tableciqual/>)). As the limit for the food label ‘source of protein’ is 5 g/100 g edible portion (EP) and 10 g/100 g EP for ‘high in protein’ (Nowak et al., 2016), *Rhynchophorus phoenicis* larvae can be considered as an acceptable source of proteins, but they cannot replace other animal sources of protein since their contents are lower than these values.

Total lipid contents of the four batches of *Rhynchophorus phoenicis* larvae were similar ( $p > 0.05$ ), ranging from 19.9 ± 0.8 g/100 g FW to 22.6 ± 1.1 g/100 g FW with a mean value of 21.35 ± 2.01 g/100 g FW or 71.62 ± 7.61 g/100 g DW. This content is higher than the value obtained by Ekpo et al. (2009): 66.6 ± 0.3 g/100 g DW, and Banjo et al. (2006): 31.4 g/100 g DW. The observed differences may be related to the age and stage of maturation of the larvae (Oonincx, 2015). Unfortunately, the larvae developmental stage was often not indicated in these studies, contrary to our work where the weight of the larvae, which can be related to their development stage, was measured for each batch and reported (see Materials and methods Section). Compared with lipid contents of others animal sources (dry weight basis), *Rhynchophorus phoenicis* larvae are fatter by far than chicken meat: 3.6 g/100 g, lean pork: 4.8 g/100 g, lean beef: 7.2 g/100 g, eggs: 38 g/100 g. To conclude, our data show that *Rhynchophorus phoenicis* larvae are a good source of lipids.

Proximate analysis allowed us to calculate the energy content of *Rhynchophorus phoenicis* larvae. Due to their high lipid content, the energy content ranged from 912.5 (218.3) kJ (kcal)/100 g FW to 986.1 (235.8) kJ (kcal)/100 g FW with a mean value of 940.0 kJ (kcal)/100 g FW. Based on dry weight, energy content is 3154.1 kJ (754.6 kcal)/100 g DW. This result is close to that obtained by Womeni et al. (2012): 2985.4 kJ/100 g dry weight (714.2 kcal/100 g dry weight). It is by far higher than the energy supplied by beef meat: 1735 kJ/100 g DW (421.8 kcal/100 g DW) or fish: 1662 kJ/100 g DW (397.2 kcal/100 g DW) (Zielińska et al., 2015). As the whole *Rhynchophorus phoenicis* larvae are generally consumed, they are an excellent source of lipids and can be used for energy supply, in the case of food insecurity and malnutrition. Several factors such as the sampling, storage conditions of the samples, but also the stage of development of the larvae, their geographical origin, diet and life conditions (Tzompa-Sosa et al., 2014; Payne et al., 2015) can explain partly the differences observed between our results and literature data. *Rhynchophorus phoenicis* larvae collected from the wild (3 batches) and those collected at the market place had very similar proximate compositions, showing that we have analysed different batches of insects of similar origins and close development stages. In a further study, we intend to analyse *Rhynchophorus phoenicis* larvae from different well-identified origins, in order to establish the variability of their proximal composition and consequences on their nutritional values.

### 3.2. Amino acid composition and indispensable amino acid score of *Rhynchophorus phoenicis* larvae

Proteins are the second main components of *Rhynchophorus phoenicis* larvae: 8.18 ± 0.44 g/100 g FW. The nutritional quality of these proteins was assessed by the analysis of their amino acid composition (Table 2). *Rhynchophorus phoenicis* larvae proteins contained 18 amino

**Table 1**  
Proximate composition of *Rhynchophorus phoenicis* larvae.

	water (g/100 g)	lipids (g/100 g)	proteins (g/100 g)	ash (g/100 g)	energy (kJ (kcal)/100 g)
fresh weight	70.15 ± 0.68	21.35 ± 2.01	8.18 ± 0.44	0.65 ± 0.14	940.0 (224.9)
dry weight	/	71.62 ± 7.61	27.50 ± 1.51	2.18 ± 0.41	3154.1 (754.6)

Mean ± standard deviation;  $n = 12$ ; 4 batches analyzed in triplicate.

**Table 2**  
Amino acid content of proteins of *Rhynchophorus phoenicis* larvae.

Amino acid (AA)	mg/100 g FW	mg/g protein(A)	WHO/FAO/UNU (2007) mg/g protein (B)	<sup>a</sup> <i>Rhynchophorus phoenicis</i> IAA score (A/B)
NIAA				
arginine	384 ± 61	47 ± 6		
proline	505 ± 37	62 ± 3		
aspartic acid	716 ± 21	88 ± 4		
serine	379 ± 24	46 ± 3		
glutamic acid	1142 ± 45	140 ± 10		
glycine	388 ± 12	48 ± 3		
alanine	532 ± 32	65 ± 5		
Total DAA	4046 ± 77	495 ± 18		
valine	577 ± 229	71 ± 29	39	1.81
isoleucine	424 ± 57	52 ± 7	30	1.73
leucine	607 ± 74	74 ± 10	59	1.26
histidine	221 ± 18	27 ± 3	15	1.81
lysine	560 ± 25	69 ± 4	45	1.52
tryptophan	286 ± 26	35 ± 3	6	5.84
threonine	425 ± 43	52 ± 5	23	2.26
tyrosine	831 ± 210	102 ± 26		
phenylalanine	330 ± 29	40 ± 4	30	1.35
Aromatic AA	1161 ± 238	142 ± 30		
methionine	398 ± 9	49 ± 2	16	3.05
cysteine	265 ± 22	32 ± 3	6	5.40
Sulfur AA	663 ± 26	81 ± 4		
Total IAA	4925 ± 352	603 ± 51	269	2.24

Results are means ± standard deviation; n = 4(4 batches).

FAO: Food and Agriculture Organisation, WHO: World Health Organization; UNU: United Nations University; AA: amino acids; IAA: indispensable amino acids; DAA: dispensable amino acids.

<sup>a</sup> Indispensable amino acid scores were defined as the ratios, for each indispensable amino acid, of its content in the insect proteins and in the FAO reference protein.

**Table 3**  
Fatty acid composition of the lipids of *Rhynchophorus phoenicis* larvae.

fatty acids	total lipids (n = 12 <sup>a</sup> )			lipid fractions from larvae collected at the market place (n = 3)					
	g/100 g FA	mg/g lipid	g/100 g FW	total lipids	g/100 g FA	mg FA/g lipid	TAGs	glycolipids	phospholipids
				g/100 g FA	mg FA/g lipid	g/100 g FA	g/100 g FA	g/100 g FA	g/100 g FA
C12	0.13 ± 0.01	1.1 ± 0.1	0.02 ± 0.00	0.1 ± 0.0	1.1 ± 0.1	0.2 ± 0.0	/	/	/
C14	2.7 ± 0.3	22.9 ± 2.4	0.50 ± 0.06	2.8 ± 0.2	22.7 ± 0.4	3.0 ± 0.0	3.1 ± 0.3	0.6 ± 0.0	0.6 ± 0.0
C15	0.13 ± 0.03	1.1 ± 0.3	0.02 ± 0.01	0.1 ± 0.0	1.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0
C16	37.8 ± 1.8	327 ± 26	7.07 ± 0.81	38.6 ± 0.6	309.4 ± 11.9	39.1 ± 0.3	37.7 ± 2.7	19.8 ± 0.4	19.8 ± 0.4
C18	4.6 ± 0.4	39 ± 3	0.85 ± 0.07	5.1 ± 0.1	40.6 ± 2.9	5.1 ± 0.2	6.1 ± 0.7	7.0 ± 0.3	7.0 ± 0.3
C20	0.62 ± 0.12	5.4 ± 0.9	0.12 ± 0.02	0.7 ± 0.0	5.8 ± 0.4	0.7 ± 0.0	0.7 ± 0.2	4.4 ± 0.1	4.4 ± 0.1
C21	/	/	/	/	/	/	/	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0
C22	/	/	/	/	/	/	0.1 ± 0.1	3.1 ± 0.1	3.1 ± 0.1
C23	/	/	/	/	/	/	/	0.6 ± 0.2	0.6 ± 0.2
C24	2.71 ± 0.13	25.0 ± 2.2	0.55 ± 0.06	/	/	/	/	/	/
C16:1n-9	0.27 ± 0.04	2.3 ± 0.4	0.05 ± 0.01	0.2 ± 0.0	1.7 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1
C16:1n-7	2.76 ± 0.22	24 ± 3	0.52 ± 0.07	2.8 ± 0.1	22.3 ± 0.8	2.8 ± 0.0	2.6 ± 0.4	3.2 ± 0.0	3.2 ± 0.0
C18:1n-9	46.6 ± 1.9	403 ± 29	8.72 ± 0.95	45.4 ± 0.8	364.4 ± 25.1	45.1 ± 0.1	41.6 ± 1.4	27.2 ± 1.2	27.2 ± 1.2
C18:1n-7	0.08 ± 0.02	0.7 ± 0.2	0.02 ± 0.00	/	/	/	0.2 ± 0.0	/	/
C20:1n-9	0.12 ± 0.05	0.9 ± 0.5	0.02 ± 0.01	0.2 ± 0.1	1.3 ± 0.4	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.8 ± 0.0	0.8 ± 0.0
C22:1n-9	0.28 ± 0.07	1.8 ± 1.2	0.05 ± 0.01	trace	trace	trace	0.3 ± 0.2	1.4 ± 0.5	1.4 ± 0.5
C18:2n-6	3.13 ± 0.58	27 ± 5	0.58 ± 0.11	3.1 ± 0.0	25.2 ± 1.6	2.9 ± 0.0	5.3 ± 1.4	22.2 ± 0.4	22.2 ± 0.4
C18:3n-3	0.92 ± 0.28	7.9 ± 2.6	0.17 ± 0.06	0.9 ± 0.1	7.2 ± 1.5	0.7 ± 0.0	1.4 ± 0.5	8.2 ± 0.5	8.2 ± 0.5
C22:2n-6	/	/	/	/	/	/	/	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1
Total SFA	46.0 ± 2.3	398 ± 34	9.14 ± 1.04	47.5 ± 1.0	381 ± 16	48.1 ± 0.5	48 ± 4	36.3 ± 1.1	36.3 ± 1.1
Total MUFA	49.91 ± 1.94	432 ± 32	9.37 ± 1.05	48.5 ± 0.9	390 ± 27	48.3 ± 0.2	45.3 ± 2.0	33.0 ± 1.8	33.0 ± 1.8
Total PUFA	4.04 ± 0.74	35 ± 6	0.76 ± 0.17	4.0 ± 0.2	32 ± 3	3.6 ± 0.1	6.7 ± 1.9	30.8 ± 1.0	30.8 ± 1.0
Total UFA	53.96 ± 2.30	467 ± 34	10.13 ± 1.23	52.5 ± 1.1	422 ± 30	51.9 ± 0.3	52.0 ± 3.9	63.8 ± 2.8	63.8 ± 2.8
Total FA	102.7 ± 4.6	865 ± 56	19.27 ± 2.26	100	803 ± 46	100	100	100	100
n-6/n-3	3.27	3.0 ± 1.1	3.39	3.50	3.49	4.0	3.6	2.7	2.7

<sup>a</sup> Means of analysis performed on four batches; /: not detected (< 0.1 mg/g lipid; < 0.01 g/100 g total FA).

acids. The most abundant amino acid was glutamic acid (140 ± 10 mg/g protein) and the least abundant was histidine (27 ± 3 mg/g protein). Results show that *Rhynchophorus phoenicis* larvae are good sources of the sulfur-containing amino acids: cysteine (32 ± 3 mg/g protein) and methionine (49 ± 2 mg/g protein). This is highlighted by their indispensable amino acid (IAA) scores (Table 2). These two amino acids are important in detoxification mechanisms. Other amino acids sometimes considered as indispensable because they are required by infants and growing children were present in appreciable amounts: 102 ± 26 mg/g protein for tyrosine and 47 ± 6 mg/g protein for arginine. Tryptophan, which is destroyed by acid hydrolysis, was determined after alkaline hydrolysis. It represented 35 ± 3 mg/g protein; that is a higher amount than reported previously: 25.1 mg/g protein (Ekpo and Onigbinde, 2005). Remarkably, tryptophan had the highest IAA score: 5.84. This amino acid is important in nutrition because it is a precursor for important metabolites such as serotonin and nicotinamide. Its content is low in cereals, especially maize, where it is one of the limiting amino acids (WHO/FAO/UNU, 2007). IAA scores were all above 1 for proteins of *Rhynchophorus phoenicis* larvae meaning that these amino acids were present in equal or higher quantities than in the reference protein pattern for humans (WHO/FAO/UNU, 2007). The sum of total essential amino acids (603 ± 51 mg/g of protein) was two times higher than that of reference protein pattern (269 mg/g protein) (WHO/FAO/UNU, 2007); higher than the value obtained by Ekpo and Onigbinde (2005): 369.8 mg/g protein, and Womeni et al. (2012): 394.3 mg/g protein who didn't measure tryptophan and cysteine. The value obtained in the present study is also higher than that obtained by Yi et al. (2013) on *Tenebrio molitor* (437 mg/g protein). The quality of amino acids of proteins of *Rhynchophorus phoenicis* larvae encourages its use in the supplementation of cereal diets, which are lacking or are poor in some particular indispensable amino acids, such as lysine, threonine, and tryptophan.

### 3.3. Composition of the lipid fraction of *Rhynchophorus phoenicis* larvae

#### 3.3.1. Fatty acid composition of total lipids

Fatty acid (FA) composition of animal tissues is an outcome of species and diet. Fatty acid composition of total lipids extracted from *Rhynchophorus phoenicis* larvae is shown in Table 3. Total lipids of *Rhynchophorus phoenicis* larvae are composed of unsaturated fatty acids (UFA):  $53.96 \pm 2.30$  g/100 g total fatty acid (TFA) and saturated fatty acids (SFA):  $46.0 \pm 2.3$  g/100 g TFA. The major fatty acids are oleic (C18:1n-9,  $46.6 \pm 1.9$  g/100 g TFA) and palmitic acids (C16:0,  $37.8 \pm 1.8$  g/100 g TFA). Polyunsaturated fatty acids (PUFA) represented  $4.04 \pm 0.74$  g/100 g TFA. They comprised linoleic acid (C18:2 n-6):  $3.13 \pm 0.58$  g/100 g TFA, and  $\alpha$ -linolenic acid (C18:3 n-3):  $0.92 \pm 0.28$  g/100 g TFA. In total, 15 fatty acids were detected, identified and quantified in the total lipid extracts. Several minor fatty acids were present only as traces (C22:1 n-9), or even undetected (C24:0) in the total lipid extracts of the larvae supplied at the market place. However, the fatty acid compositions of the 4 batches of larvae were very similar, even if small but significant differences could be observed ( $p < 0.05$  for several fatty acids, data not shown) between batches. The fatty acid composition of the total lipids extracted from the larvae supplied at the market place was accordingly very close to the mean composition calculated for the 4 batches (compare columns 2 and 4 and columns 3 and 5 in Table 3). These results differ greatly from the data obtained by Womeni et al. (2009) on *Rhynchophorus phoenicis* larvae: they reported 94.49 g UFA/100 g TFA, with linoleic acid (45.46 g/100 g) and palmitoleic acid (C16:1 n-7, 37.60 g/100 g) as main unsaturated fatty acids,  $\alpha$ -linolenic acid accounting for only 4.19 g/100 g TFA. These differences may be due to the insect origin, diet or environment, such as temperature, humidity, photoperiod (Ooninx, 2015). The method of lipid extraction can also affect the fatty acid profiles of extracts (Tzompa-Sosa et al., 2014).

Total fatty acids (TFA) represented  $865 \pm 56$  mg/g lipid (Table 3), which is a normal value for crude total lipids, consider the presence of the glycerol backbone in the triacylglycerols, the chemical groups of the polar lipids and the presence of an unsaponifiable fraction which has not been evaluated in the present study apart for the tocopherols. This information is however of interest to convert the fatty acid composition of the total lipid extracts into amounts of fatty acids supplied by a portion of edible insect. Regarding the amounts of n-6 and n-3 PUFAs, it is important to evaluate the contribution of the specific food in supplying the body with the recommended daily intake: 4.4 g/day for linoleic acid and 1.8 g/day for  $\alpha$ -linolenic acid for adults (Anses, 2011). According to our results, the amount of linoleic acid supplied by 100 g of fresh *Rhynchophorus phoenicis* larvae is  $0.58 \pm 0.11$  g. At the same time,  $0.17 \pm 0.06$  g of  $\alpha$ -linolenic acid are supplied by 100 g of the fresh larvae. These quantities represent 13.2% and 9.4% of the recommended daily intakes for linoleic and  $\alpha$ -linolenic acids, respectively. These results show that this insect should be used with an alternative source of essential fatty acids in the case of a poor or unbalanced diet. In total lipids, the n-6/n-3 PUFAs ratio was equal to 3.4 (Table 3). This value is lower than the target value of 5, while current Western diets are characterized by ratios of 10 or above. This value is therefore very interesting from a nutritional point of view because the larvae lipid supply can contribute to an overall healthy balance in the diet of n-6 and n-3 PUFA. A low n-6/n-3 ratio is effective for the prevention of cardiovascular diseases, whereas a ratio of 10:1 has adverse consequences (Simopoulos, 2008).

As *Rhynchophorus phoenicis* larvae collected from the wild and those collected from market were morphologically similar (same weights indicating similar larvae development stages), had the same lipid and protein contents and amino acid compositions (Tables 1 and 2) and showed similar fatty acid compositions (Table 3), only the lipids extracted from larvae collected at the market place were used for the detailed analysis of the lipid fractions (tocopherol composition, fractionation, neutral lipids and polar lipid classes and fatty acid composi-

**Table 4**

Lipid classes and tocopherols in the lipids extracted from *Rhynchophorus phoenicis* larvae collected at the market place (mean  $\pm$  standard deviation; n = 3).

lipids fraction	g/100 g lipids
triacylglycerols <sup>a</sup>	97.53 $\pm$ 0.05
glycolipids	0.59 $\pm$ 0.04
phospholipids	1.88 $\pm$ 0.06
phospholipids	g/100 g phospholipids
PE	32.7 $\pm$ 0.9
LPE + PI	17.0 $\pm$ 1.1
PS	3.8 $\pm$ 0.8
PC	20.6 $\pm$ 1.5
SPH	6.9 $\pm$ 0.4
LPC	19.0 $\pm$ 1.9
tocopherols	( $\mu$ g/g lipids)
$\alpha$ -tocopherol	95 $\pm$ 10
$\beta$ -tocopherol	18 $\pm$ 4
$\gamma$ -tocopherol	19 $\pm$ 3
$\delta$ -tocopherol	14 $\pm$ 1
Total tocopherols	146 $\pm$ 13

PE: phosphatidylethanolamine; LPE: lyso-phosphatidylethanolamine; PS: phosphatidylserine; PI: phosphatidylinositol; PC: phosphatidylcholine; SPH: sphingomyelin; LPC: lyso-phosphatidylcholine.

<sup>a</sup> Neutral lipids were designed as triacylglycerols because neither partial glycerol, nor free fatty acids have been detected in the neutral fraction by HPLC.

tion, TAG structures and thermal properties).

#### 3.3.2. Tocopherol composition

Tocopherols are antioxidant molecules also known as vitamin E. Its major biological role is to protect PUFAs and other components of cell membranes and low-density lipoprotein (LDL) from oxidation by free radicals (FAO & WHO, 2001). The isomeric composition of tocopherols present in *Rhynchophorus phoenicis* larvae is presented in Table 4. *Rhynchophorus phoenicis* larvae lipids contained  $\alpha$ -tocopherol ( $95 \pm 9$   $\mu$ g/g lipid),  $\beta$ -tocopherol ( $17 \pm 3$   $\mu$ g/g lipid),  $\gamma$ -tocopherol ( $18 \pm 3$   $\mu$ g/g lipid) and  $\delta$ -tocopherol ( $14 \pm 0$   $\mu$ g/g lipid). Tocotrienols, present in high proportions in palm fruits, were not detected. The total tocopherol content of *Rhynchophorus phoenicis* larvae lipid was  $146 \pm 13$   $\mu$ g/g lipids. It is higher than the contents of *Achetadomesticus*: 121  $\mu$ g/g lipid (81 IU/kg); mealworm *Tenebrio molitor*: 45  $\mu$ g/g lipid ( $30 \pm 3$  IU/kg), and lower than the content of waxworm *Galleria mellonella*: 758  $\mu$ g/g lipid (509 IU/kg), reported previously (Barker et al., 1998). To our knowledge, there is no previous study giving the tocopherol composition of *Rhynchophorus phoenicis* larvae. The presence of vitamin E in *Rhynchophorus phoenicis* larvae may be an asset during the processing of raw insects into derived products.

#### 3.3.3. Neutral and polar lipid contents

Determination of the composition of the lipid extracts is important to propose alternative uses of the insects, for example as flour or ingredient in food products. For instance, PLs show good emulsifying properties and can be used as a delivery system for liposoluble constituents (Genot et al., 2013). There is some evidence that PLs have beneficial health effects, such as regulation of inflammatory reactions, preventive and therapeutic activity on some types of cancer, and reduce the effect of some drugs (Küllenberg et al., 2012). Table 4 shows the distribution of main lipid fractions in the total lipids extracted from *Rhynchophorus phoenicis* larvae collected from the market place. Neutral lipids were by far the major fraction accounting for  $97.53 \pm 0.05$  g/



100 g of total lipids. This result is similar to that obtained by Gbogouri et al. (2013) on *Rhynchophorus palmarum* (98 g/100 g total lipid) and higher than that obtained by Ekpo et al. (2009) on *Rhynchophorus phoenicis* larvae (88.4 g/100 g of total lipid), *Imbrasia* larvae (85.1 g/100 g total lipid) and *Macrotermes bellicosus* (69.9 g/100 g of total lipids). Phospholipids accounted for  $1.88 \pm 0.06$  g/100 g of total lipid extracts and glycolipids for  $0.59 \pm 0.04$  g/100 g of total lipid extracts. These values are lower than those obtained by Ekpo et al. (2009) on *Rhynchophorus phoenicis* larvae: 8.2 g/100 g of total lipids for phospholipids and 2.6 g/100 g of total lipid for glycolipids.

### 3.3.4. Composition of neutral and phospholipid fractions

Table 4 presents, for the first time, quantitative results regarding the lipid classes of *Rhynchophorus phoenicis* larvae. According to liquid chromatography analysis, neutral lipid fraction was only composed of triacylglycerols (TAGs). Free fatty acids (FFA), monoacylglycerols and diacylglycerols were not detected. This result indicates that no or undetectable hydrolysis occurred for this fraction during larvae processing and preparation of lipid extracts. Ethanolamine phospholipids (phosphatidylethanolamine, PE and lyso-phosphatidyl-ethanolamine, LPE) represented 49.7 g/100 g phospholipids; choline phospholipids, namely phosphatidylcholine (PC) and lyso-phosphatidylcholine (LPC) accounted for 39.6 g/100 g phospholipids. They were followed by smaller amounts of phosphatidylinositol (PI), sphingomyelin (SPH) and phosphatidylserine (PS). This composition in phospholipid classes differs to the composition reported for *Tenebrio molitor* (Coleoptera), with PC (39.8 g/100 g phospholipids) and PE (41.7 g/100 g phospholipids) as the only phospholipids (Fast, 1966). The fairly high proportions of LPC (near 20%) and LPE (17%) in the lipid extracts of *Rhynchophorus phoenicis* larvae may indicate either hydrolysis of PC and PE during larvae storage or at one step or another of the extract preparation, or could correspond to the specific composition of the membranes of this insect. It is not surprising that the free fatty acids (FFAs), which would have been formed during phospholipid hydrolysis, were not detected in the neutral lipid fraction, because of the low content in LPC and LPE of total lipids. Further studies are needed to better understand the reason for the presence of lyso-phospholipids in the lipid extracts of the larvae.

Glycolipids were also analysed by liquid chromatography. The chromatograms showed six peaks among which one was identified as monogalactosyl-monoacylglycerol (data not shown).

### 3.3.5. Fatty acid composition of lipid fractions

Fatty acid of total lipids, neutral lipids, glycolipids and phospholipids of *Rhynchophorus phoenicis* larvae collected at market place were analyzed. Unsurprisingly, the fatty acid composition of neutral lipids and total lipids of the larvae were similar, as neutral lipid fraction accounted for 98% of total lipids. The same fatty acids were identified in the glycolipid fraction as in the neutral lipids except for C22:0 and C18:1 *n*-7 (Table 3) present at very low percentages (0.1 and 0.2 g/100 g FA, respectively).

Data on the fatty acid composition of phospholipids of Coleoptera are scarce in the literature. The fatty acid composition of the phospholipid fraction of *Rhynchophorus phoenicis* larvae lipid extracts is reported here for the first time. Phospholipid fraction of *Rhynchophorus phoenicis* larvae is majorly composed of UFA ( $63.8 \pm 2.8$  g/100 g TFA); SFA represented  $36.3 \pm 1.1$  g/100 g TFA. The major fatty acids were oleic acid ( $27.2 \pm 1.2$  g/100 g TFA), linoleic acid ( $22.2 \pm 0.4$  g/100 g TFA) and palmitic acid ( $19.8 \pm 0.4$  g/100 g TFA). PUFAs accounted for  $30.8 \pm 1.0$  g/100 g TFA. They were thus present in higher amounts than in the total and neutral lipids. This result is in agreement with previous studies indicating that in insects, as in other animals, phospholipids contain more PUFAs than neutral lipids (Maldjian et al., 1996). PUFAs of *Rhynchophorus phoenicis* larvae phospholipids were composed exclusively of linoleic acid ( $22.2 \pm 0.4$  g/100 g TFA),  $\alpha$ -linolenic acid ( $8.2 \pm 0.5$  g/100 g TFA) and a low percentage of

C22:2 *n*-6 ( $0.4 \pm 0.1$  g/100 g TFA). By comparison, phospholipids of banded cucumber beetles *Diabrotica balteata* contained  $46.0 \pm 1.5$  g/100 g TFA of linoleic acid and  $3.1 \pm 0.7$  g/100 g TFA of  $\alpha$ -linolenic acid (Ogg et al., 1993). According to our results, and in agreement with most literature data reported on *Rhynchophorus phoenicis* larvae and on another Coleoptera: *Tenebrio molitor* (Fast, 1966), phospholipids of *Rhynchophorus phoenicis* larvae do not contain long-chain polyunsaturated fatty acids. This result differs from the total lipids and phospholipids of vertebrates, which contain long chain polyunsaturated fatty acids. It also contrasts with the data reported by Rumpold and Schlüter (2013), who showed the presence of C20:4*n*-6 and C20:5*n*-3 in various edible insects, including several coleoptera. These authors even reported the quantification of arachidonic acid (AA, C20:4*n*-6) in *Rhynchophorus phoenicis* larvae in one study. Long-chain PUFA such as AA, eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) have been detected in several insects, such as mosquitoes (Diptera), termitic insects (beetles, termites, crickets) and freshwater insects (Sushchik et al., 2013; Raksakantong et al., 2010; Yang et al., 2006; Ghioni et al., 1996; Maldjian et al., 1996). According to Sánchez-Muros et al. (2014), terrestrial insects are deficient in EPA and DHA, whereas EPA is present in aquatic insects. A possible explanation of the absence of LC-PUFA in the lipid extracts of *Rhynchophorus phoenicis* larvae is that the delta-5 and delta-6 desaturase enzymes are either lacking or poorly active in the larvae. In other insects and animals and in certain microalgae, these enzymes can be used for the conversion of C18:2*n*-6 and C18:3*n*-3 into long-chain polyunsaturated fatty acids, such as arachidonic acid, EPA and DHA (Yang et al., 2006; Hashimoto et al., 2008; Stanley-Samuelson et al., 1988). A number of putatively functional and pseudogenized acyl-CoA desaturase genes have been accordingly sequenced or partially sequenced in insects (Helmkamp et al., 2014). In insects, such as crickets and mealworm beetle, the conversion efficiency of C18:3*n*-3 into EPA looks very low, if any, as compared to chicken and quails (Komprda et al., 2013).

The FA composition of the PL of *Rhynchophorus phoenicis* larvae was also characterized by the absence of lauric acid (C12:0), detected in neutral (0.2 g/100 g TFA) and total lipids (0.1 g/100 g TFA), and the presence of uncosanoic acid (C21:0), docosanoic acid (C22:0) tricosanoic acid (C23:0); erucic acid (C22:1*n*-9) and docosadienoic acid (C22:2*n*-6) (Table 3).

### 3.3.6. Molecular species of triacylglycerols (TAGs) by HPLC-ELSD and MALDI TOF

Nutritional and physicochemical properties of TAGs are related to the distribution of fatty acids on the glycerol backbone. Therefore, the knowledge of the TAG molecular species can provide valuable information on lipid properties, such as melting point range, solid fat index, and crystal structure. These physical properties affect food properties from texture to taste. Fat oxidative stability is, in part, dependent on TAG composition and structure (Neff et al., 2001). Neutral lipid fraction of *Rhynchophorus phoenicis* larvae lipid was submitted to reverse-phase HPLC. Some possible TAG structures were tentatively identified and quantified. MALDI-TOF was used as a complementary technique to confirm the identification of TAGs structures (Table 5). Neither technique can specify the position of fatty acids on the glycerol backbone. From the combination of HPLC and MALDI-TOF data, 17 molecular species were tentatively identified for the first time in *Rhynchophorus phoenicis* larvae: OOLn, LLO, PoOO, POL, MOO, PPOo, PPL, MOP, PPPo, OSLa, POO, PPO, OMS, SPP, PSO, PPG and PSS (where O is oleic acid, La is lauric acid, Ln is linolenic acid, L is linoleic acid, P is palmitic acid, Po is palmitoleic acid, M is myristic acid, G is gadoleic acid, S is stearic acid; Table 5). Two TAGs accounted for 2/3 of identified TAG structures: POO ( $36.4 \pm 0.3$  g/100 g of TAGs) and PPO ( $30.3 \pm 0.3$  g/100 g of TAGs), as could be expected from the fatty acid composition and a random distribution of the FA on the glycerol backbone. Two trisaturated TAGs (SPP and SSP) tentatively identified by HPLC were not detected by MALDI-TOF, possibly due to ionization

**Table 5**  
Triacylglycerols identified in the lipids of *Rhynchophorus phoenicis* larvae by HPLC-ELSD and MALDI TOF analysis.

TAG	TAG $m/z$ [M+Na] <sup>+</sup>	CN:DB	ECN	% TAG (g/100 g)
OOLn	903.68	54:5	44	traces
LLO		54:5	44	
PoOO	879.89	52:3	46	3.7 ± 0.2
POL		52:3	46	
MOO	853.91	50:2	46	7.1 ± 0.2
PPoO		50:2	46	
PPL		50:2	46	
MOP	827.85	48:1	46	7.9 ± 0.0
PPP <sub>o</sub>		48:1	46	
OSLa		48:1	46	
POO	881.96	52:2	48	36.4 ± 0.3
PPO	855.83	50:1	48	30.3 ± 0.3
OMS		50:1	48	
SPP	n.i. (expected 857)	50:0	50	traces
PSO	884.00	52:1	50	12.8 ± 0.2
PPG		52:1	50	
PSS	n.i. (expected 886)	52:0	52	1.8 ± 0.1

A triacylglycerol (TAG) is represented by its 3 fatty acids esterified on the glycerol backbone. CN: carbon number; DB: number of double bonds; ECN: equivalent carbon number; La: lauric acid (12:0); M: myristic (14:0); P: palmitic acid (16:0); S: stearic acid (18:0); O: Po: palmitoleic acid (16:1); oleic acid (18:1n-9), G: gadoleic acid (20:1); L: linoleic acid (18:2n-6); Ln: linolenic acid (18:3n-3); n.i.: not identified.

difficulty. These results confirm the complementarity of the two techniques for the identification and quantification of TAG molecular species. In contrast to our results, only OOO (50 g/100 g of TAGs) and POO (41.7 g/100 g of TAGs 50 g/100 g of TAGs) were identified in *Rhynchophorus ferrugineus* larvae by Ali et al. (2006). These authors did not present the fatty acid composition of the lipids and used only HPLC-ELSD (ECN and retention time only) to identify the TAGs, which seems insufficient to confirm the identity of TAG structures. In our study triolein (OOO) was clearly not identified whereas oleic acid accounted for 46 g/100 g TFA. Oleic acid could compose TAG molecular species with one palmitic acid (POO) or two (PPO), the second main fatty acid in the larvae total lipids (37 g/100 g TFA).

### 3.3.7. Thermal properties of *Rhynchophorus phoenicis* larvae lipid extracts

Differential scanning calorimetry (DSC) is a technique suitable for determining the thermal properties of lipids. It was used to determine the melting and crystallization profiles of *Rhynchophorus phoenicis* larvae lipid extracts. As shown in Fig. 1, both crystallization and melting curves exhibited peaks with a broad range of temperatures. This can be explained by the fact that lipid extracts are complex mixtures of TAGs (at least 17) and polar lipids. They do not have a single melting point such as pure compounds, but melting and crystallization ranges (Michalski et al., 2013). The crystallization range of *Rhynchophorus phoenicis* larvae lipid was between  $7.8 \pm 0.4$  °C and  $-9.4 \pm 1.1$  °C. This large range of crystallization temperatures explains the liquid aspect of *Rhynchophorus phoenicis* lipids when left at room temperature (20–25 °C). The crystallization curve showed one exotherm with three overlapping peaks, with the maximum located at  $-3.3 \pm 0.2$  °C. This can be explained by the crystallization of triacylglycerol species containing two or more saturated fatty acids, representing more than 40% of total TAGs. The  $T_{\text{onset}}$  of the peak was  $-1.8 \pm 0.4$  °C and the area of the peak was  $83.5 \pm 1.9$  J/g.

The melting curve showed a large endothermic peak with the following characteristics. The heat transition was  $82.5 \pm 0.7$  J/g and the  $T_{\text{onset}}$  was  $13.0 \pm 0.5$  °C. The temperature range of the melting peak started at the  $T_{\text{onset}}$  of  $4.1 \pm 0.1$  °C and ended at  $28.5 \pm 0.3$  °C. On the thermogram, a first peak was present at  $14.4 \pm 0.3$  °C, which probably corresponds to the melting of POO. The maximum of the peak was located at  $21.4 \pm 0.1$  °C, which could correspond to the melting of PPO. Accordingly, the melting temperatures of triglyceride standards: 25.3 °C for PPO and 15.1 °C for POO (Che Man et al., 1999) are very close to our results, knowing that *Rhynchophorus phoenicis* larvae lipids are a mixture of compounds. In contrast, Nzikou et al. (2010) found three low melting temperatures ( $-20.4$  °C,  $-21.3$  °C,  $+1.1$  °C) for *Rhynchophorus phoenicis* larvae lipids. Compared to other animals and vegetable fats, the melting temperature range of *Rhynchophorus phoenicis* larvae lipid extracts is lower than that of chicken fat (30–34 °C) and palm oil (33–40 °C); and close to that of coconut oil (23–26 °C) (Firestone, 2013). These results suggest the use of *Rhynchophorus phoenicis* larvae lipids as an oil and not as a solid fat in industrial applications.

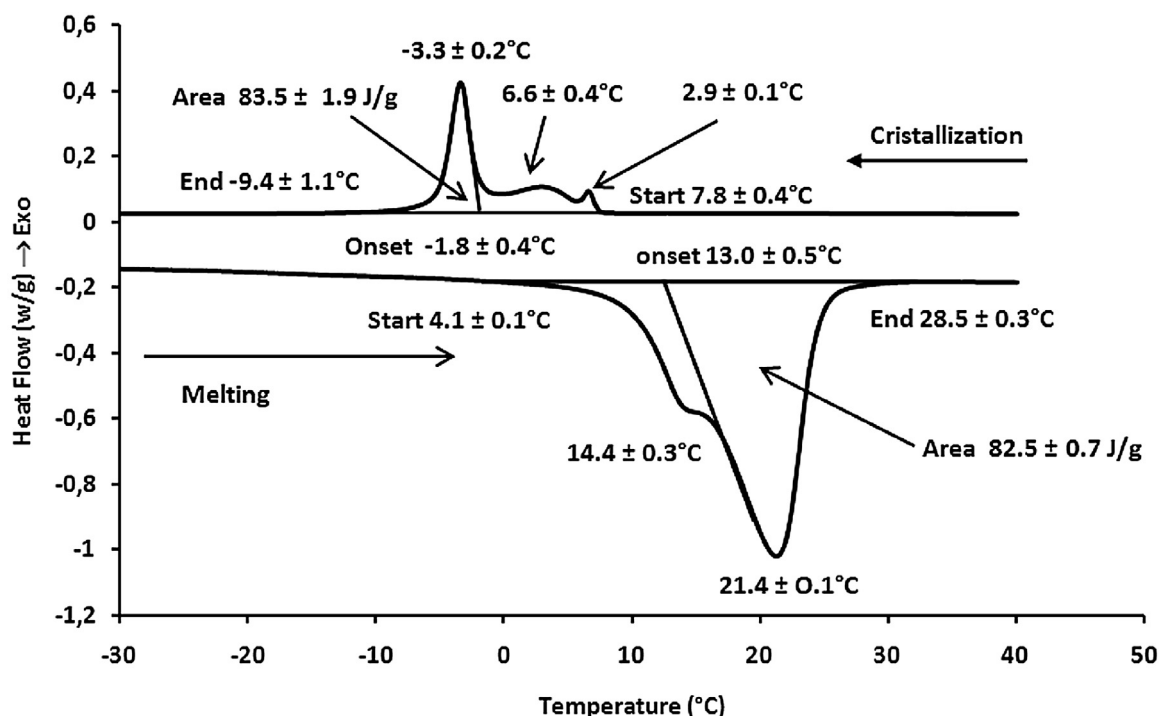


Fig. 1. Crystallization and melting curves of *Rhynchophorus phoenicis* larvae lipid.

#### 4. Conclusion

Lipid and amino acid profiles of *Rhynchophorus phoenicis* larvae show that this insect is a good source of energy, due to its high content of dietary fat and a source of proteins with remarkable amino acid scores. *Rhynchophorus phoenicis* larvae contain all the indispensable amino acids in a quantity up to that of reference protein (WHO/FAO/UNU, 2007), indicating its potential in providing some limiting amino acids, such as tryptophan. The lipids of *Rhynchophorus phoenicis* larvae are composed of MUFA ( $49.9 \pm 1.9$  g/100 g TFA), SFA ( $46.0 \pm 2.3$  g/100 g TFA). PUFAs are at lower quantities ( $4.0 \pm 0.7$  g/100 g TFA) but present a favourable n-6/n-3 ratio (< 5). Only TAGs were detected in the neutral lipid fraction, which represents about 98 g/100 g lipid. TAG structures were identified for the first time. POO and PPO represented more than 2/3 of the TAG molecular species. They explain in a large part the melting range temperatures (4–30 °C) of the lipid extracts. Phospholipids of *Rhynchophorus phoenicis* larvae contained approximately 40% choline phospholipids (LPC and PC). They were more unsaturated than the total lipids (linoleic acid: 22.2 g/100 g TFA and alpha-linolenic acid: 8.2 g/100 g TFA) and characterized by the absence of long-chain polyunsaturated fatty acids and high contents of lyso-phospholipids. Because of the aptitude of these larvae to be transformed, their conditions of storage should be now studied as well as the influence of growing conditions on their composition.

#### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

#### Funding

This work was supported in part by the SCAC (Service de Coopération et d'Action Culturelle) of the French Embassy of Yaoundé – Cameroon [Code projet Prisme/Numéro Prisme: 0185 CMR B16 0011]. <https://cm.ambafrance.org/Bourses-du-gouvernement-francais>.

#### Acknowledgements

The authors wish to thank Lucie Ribourg, Marion De Carvalho and Mathieu Fanuel for helping us in tocopherol analysis, DSC analysis of lipid extracts and MALDI TOF analysis of TAGs structures. We also thank John Fogoh Muafor from Living Forest Trust (LIFT) and Ministry of Forestry and Wildlife (Cameroon) for providing the larvae from the wild.

#### References

AOAC, 1996. Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th ed. AOAC, USA: Gaithersburg, MD.

Ackman, R., 1993. Application of GLC to lipid separation and analysis: qualitative and quantitative analysis. In: Perkins, E.G. (Ed.), Analysis of Fats, Oils, and Derivatives. American Oil Chemists' Society Urbana (IL, USA), pp. 270–300.

Ali, O.M., Chu, K.L., Wang, C.W., 2006. Neutral lipid profile of sago worm, the larva of weevil *Rhynchophorus ferrugineus*. Proceedings of the 1st International Conference on Natural Resources Engineering & Technology 1, 233–236.

Anses, 2011. Actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras. Rapport D'expertise Collective 2011, n°2006-SA-03359 ANC AG, 323.

Anses, 2016. French food composition Table Ciqual version 2016. Retrieved 7 February 2017 from: <https://pro.anses.fr/tableciqual/>.

Banjo, A.D., Lawal, O.A., Songonuga, E.A., 2006. The nutritional value of fourteen species of edible insects in southwestern Nigeria. Afr. J. Biotechnol. 5 (3), 298–301.

Barker, D., Fitzpatrick, M.P., Dierenfeld, E.S., 1998. Nutrient composition of selected whole invertebrates. Zool. Biol. 17, 123–134.

Bottier, C., Géan, J., Artzner, F., Desbat, B., Pézolet, M., Renault, A., Marion, D., Vié, V., 2007. Galactosyl headgroup interactions control the molecular packing of wheat lipids in Langmuir films and in hydrated liquid-crystalline mesophases. Biochim. Biophys. Acta 1768, 1526–1540.

Bruker, 2017. Bruker: Overview autoflex – High-Performance MALDI-TOF Systems. Retrieved 14 February 2017 from: <https://www.bruker.com/products/mass->

spectrometry-and-separations/maldi-toftof/autoflex/overview.html.

Caparros Megido, R., Sablon, L., Geuens, M., Brostaux, Y., Alabi, T., Blecker, C., Drugmand, D., Haubruge, E., Francis, F., 2014. Edible insects acceptance by Belgian consumers: promising attitude for entomophagy development. J. Sens. Stud. 29 (1), 14–20.

Che Man, Y.B., Haryati, T., Ghazali, H.M., Asbi, B.A., 1999. Composition and thermal profile of crude palm oil and its products. J. Am. Oil Chem. Soc. 76 (2), 237–242.

Ekpo, K.E., Onigbinde, A.O., 2005. Nutritional potentials of the larva of *Rhynchophorus phoenicis* (F). Pak. J. Nutr. 4 (5), 287–290.

Ekpo, K.E., Onigbinde, A.O., Asia, I.O., 2009. Pharmaceutical potentials of the oils of some popular insects consumed in southern Nigeria. Afr. J. Pharm. Pharmacol. 3 (2), 051–057.

FAO and WHO, 2001. Human Vitamin and Mineral Requirements. Human Vitamin and Mineral Requirements, 303. <http://www.fao.org/3/a-y2809e.pdf>.

Fast, P.G., 1966. A comparative study of the phospholipids and fatty acids of some insects. Lipids 1 (3), 209–215.

Firestone, D., 2013. In: Firestone, D. (Ed.), Physical and Chemical Characteristics of Oils, Fats, and Waxes. AOCS Press, Urbana.

Folch, J., Lees, M., Stanley, G.H.S., Sloane Stanley, G., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. J. Biol. Chem. 226 (1), 497–509.

Gbogouri, G.A., Beugre, G.A.M., Brou, K., Atchibri, O.A., Linder, M., 2013. *Rhynchophorus palmarum* L. larva, an edible insect in Côte d'Ivoire: nutritional value and characterization of the lipid fraction. Int. J. Chem. Sci. 11 (4), 1692–1704.

Genot, C., Kabri, T.H., Meynier, A., 2013. Stabilisation of omega-3 oils and enriched foods using emulsifiers. In: Jacobsen, C., Nielsen, N.S., Frisenfeldt Hom, A.-D. (Eds.), Food Enrichment with Omega-3 Fatty Acids. Woodhead Publishing Limited, Oxford, GB, pp. 150–193. <http://doi.org/10.13140/2.1.3493.3762>.

Ghioni, C., Bell, J.G., Sargent, J.R., 1996. Polyunsaturated fatty acids in neutral lipids and phospholipids of some freshwater insects. Comp. Biochem. Physiol. 114 (2), 161–170.

Hashimoto, K., Yoshizawa, A.C., Okuda, S., Kuma, K., Goto, S., 2008. The repertoire of desaturases and elongases reveals fatty acid variations in 56 eukaryotic genomes. J. Lipid Res. 49, 183–191.

Heinz, G., Hautzinger, P., 2007. Meat Processing Technology for Small-to Medium Scale Producers. FAO, Bangkok.

Helmkamp, M., Cash, E., Gadau, J., 2014. Evolution of the insect desaturase gene family with an emphasis on social Hymenoptera. Mol. Biol. Evol. 32 (2), 456–471.

Jongema, Y., 2015. World list of edible insects. Retrieved 3 October 2016, from [http://www.wur.nl/upload\\_mm/7/4/1/ca8baa25-b035-4bd2-9fdc-a7df1405519a\\_WORLD\\_LIST\\_EDIBLE\\_INSECTS\\_2015.pdf](http://www.wur.nl/upload_mm/7/4/1/ca8baa25-b035-4bd2-9fdc-a7df1405519a_WORLD_LIST_EDIBLE_INSECTS_2015.pdf).

Juaneda, P., Rocquelin, G., 1985. Rapid and convenient separation of phospholipids and non phosphorus lipids from rat heart using silica cartridges. Lipids 20 (1), 40–41.

Küllenberg, D., Taylor, L.A., Schneider, M., Massing, U., 2012. Health effects of dietary phospholipids. Lipids Health Dis. 11 (1), 3–18.

Kabri, T.H., Meynier, A., Bontemps, D., Gaillard, C., Foucat, L., Linder, M., Genot, C., 2013. Formulation of sub-micron emulsions containing docosahexaenoic acid esterified in triacylglycerols or phospholipids. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 115 (11), 1294–1308.

Komprda, T., Zornikova, G., Rozikova, V., Borkovcova, M., Przywarova, A., 2013. The effect of dietary *Salvia hispanica* seed on the content of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in tissues of selected animal species, including edible insects. J. Food Compos. Anal. 32, 36–43.

LIPID MAPS, 2017. LIPID MAPS Tools: LIPID MAPS Lipidomics Gateway. Retrieved 7 February 2017 from: [https://www.lipidmaps.org/tools/ms/glycerolipids\\_batch\\_bulk.html](https://www.lipidmaps.org/tools/ms/glycerolipids_batch_bulk.html).

Maldjian, A., Cristofori, C., Noble, R.C., Speake, B.K., 1996. The fatty acid composition of brain phospholipids from chicken and duck embryos. Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol. 115 (2), 153–158.

Michalski, M.C., Genot, C., Gayet, C., Lopez, C., Fine, F., Joffre, F., Vandevure, J.L., Bouvier, J., Chardigny, J.M., Raynal-Ljutovac, K., 2013. Multiscale structures of lipids in foods as parameters affecting fatty acid bioavailability and lipid metabolism. Prog. Lipid Res. 52 (4), 354–373.

Morrison, W.R., Smith, L.M., 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethyl acetals from lipids with boron trifluoride methanol. J. Lipid Res. 5 (13), 600–608.

Muafor, F.J., Gnetegha, A.A., Le Gall, P., Levang, P., 2015. Exploitation, Trade and Farming of Palm Weevil Grubs in Cameroon. Center for International Forestry Research Content, Bogor, Indonesia.

Neff, W.E., Byrdwell, W.C., List, G.R., 2001. Triacylglycerol structures of food fats high in saturated acids. J. Liquid Chromatogr. Relat. Technol. 24 (6), 837–854.

Nowak, V., Persijn, D., Rittenschober, D., Charroindere, U.R., 2016. Review of food composition data for edible insects. Food Chem. 193, 39–46.

Nzikou, J.M., Mbemba, F., Mvoula-Tsiéri, M., Diabangouaya-Batéla, B., Malela, K.E., Kimbonguila, A., Ndangui, C.B., Pambou-Tobi, N.P., Silou, Th., Desobry, S., 2010. Characterisation and nutritional potentials of *Rhynchophorus phoenicis* larva consumed in Congo-Brazzaville. Curr. Res. J. Biol. Sci. 2 (3), 189–194.

Ogg, C.L., Meinke, L.J., Howard, R.W., Stanley-Samuels, D.W., 1993. Phospholipid and triacylglycerol fatty acid compositions of five species of *Diabrotica* (insecta: coleoptera: chrysomelidae). Comp. Biochem. Physiol. Part B Biochem. 105 (1), 69–77.

Oninxc D.G.A.B., Insects as Food and Feed: Nutrient Composition and Environmental Impact. PhD Thesis, 2015, Wageningen University.

Payne, C.L., Scarborough, P., Rayner, M., Nonaka, K., 2015. A systematic review of nutrient composition data available for twelve commercially available edible insects, and comparison with reference values. Trends Food Sci. Technol. 47, 69–77.

Raksakantong, P., Meeso, N., Kubola, J., Siriamornpun, S., 2010. Fatty acid and proximate composition of eight Thai edible tercolous insects. Food Res. Int. 43 (1),

- 350–355.
- Ramos-Elorduy, J., Manuel, J., Moreno, P., Prado, E.E., Perez, M.A., Otero, J.L., de Guevara, O.L., 1997. Nutritional value of edible insects from the State of Oaxaca, Mexico. *J. Food Compos. Anal.* 157, 142–157.
- Rumpold, B.A., Schlüter, O.K., 2013. Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Mol. Nutr. Food Res.* 57 (5), 802–823.
- Sánchez-muros, M., Barroso, F.G., Manzano-aguilaro, F., 2014. Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. *J. Clean. Prod.* 65, 16–27.
- Simopoulos, A.P., 2008. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp. Biol. Med.* (Maywood, N.J.) 233 (6), 674–688.
- Stanley-Samuelson, D.W., Jurenka, R.A., Cripps, C., Blomquist, G.J., de Renobales, M., 1988. Fatty acids in insects: composition, metabolism, and biological significance. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 9 (1), 1–33.
- Sushchik, N.N., Yurchenko, Y.A., Gladyshev, M.I., Belevich, O.E., Kalachova, G.S., Kolmakova, A.A., 2013. Comparison of fatty acid contents and composition in major lipid classes of larvae and adults of mosquitoes (Diptera: Culicidae) from a steppe region. *Insect Sci.* 20, 585–600.
- Tamesse, J.L., Kekeunou, S., Tchatchouang, L.J., Ndegue, O.L.M., Aissatou, L.M., Tombouck, D., Youssa, B., 2016. Insects as food, traditional medicine and cultural rites in the west and south regions of Cameroon. *J. Insects Food Feed* 2 (3), 153–160.
- Tzompa-Sosa, D.A., Yi, L., van Valenberg, H.J.F., van Boekel, M.A.J.S., Lakemond, C.M.M., 2014. Insect lipid profile: aqueous versus organic solvent-based extraction methods. *Food Res. Int.* 62, 1087–1094.
- Van Huis, A., Itterbeeck, J., Van, Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G., Vantomme, P., 2013. Edible insects. Future Prospects for Food and Feed Security, vol. 171 Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/docrep/018/i3253e/i3253e.pdf>.
- WHO/FAO/UNU, 2007. Protein and amino acid requirements in human nutrition. World Health Organization technical report series. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18330140>.
- Womeni, H.M., Linder, M., Tiencheu, B., Mbiapo, F.T., Villeneuve, P., Fanni, J., Parmentier, M., 2009. Oils of insects and larvae consumed in Africa: potential sources of polyunsaturated fatty acids. *ACL Oleagineux Corps Gras Lipides* 16 (4), 230–235.
- Womeni, H.M., Tiencheu, B., Linder, M., Nabayo, M.C., Tenyang, N., Tchouanguép, F., Villeneuve, P., Fanni, J., Parmentier, M., 2012. Nutritional value and effect of cooking, drying and storage process on some functional properties of *Rhynchophorus phoenicis*. *Int. J. Life Sci. Pharm. Res.* 2 (3), 203–219.
- Yang, L.F., Siriamornpun, S., Li, D., 2006. Polyunsaturated fatty acid content of edible insects in Thailand. *J. Food Lipids* 13 (3), 277–285.
- Yi, L., Lakemond, C.M.M., Sagis, L.M.C., Eisner-Schadler, V., van Huis, A., van Boekel, M.A.J.S., 2013. Extraction and characterisation of protein fractions from five insect species. *Food Chem.* 141 (4), 3341–3348.
- Zielińska, E., Baraniak, B., Karaś, M., Rybczyńska, K., Jakubczyk, A., 2015. Selected species of edible insects as a source of nutrient composition. *Food Res. Int.* 77, 460–466.





## Growing conditions and morphotypes of African palm weevil (*Rhynchophorus phoenicis*) larvae influence their lipophilic nutrient but not their amino acid compositions



Aymar Rodrigue Fogang Mba<sup>a,b</sup>, Germain Kansci<sup>a</sup>, Michèle Viau<sup>b</sup>, Lucie Ribourg<sup>b</sup>, John Fogoh Muafor<sup>c</sup>, Nordine Hafnaoui<sup>d</sup>, Philippe Le Gall<sup>e,f</sup>, Claude Genot<sup>b,\*</sup>

<sup>a</sup> University of Yaoundé I, Department of Biochemistry, Laboratory of Food Science and Metabolism, PO Box 812, Yaoundé, Cameroon

<sup>b</sup> UR 1268 BIA (Biopolymères Interactions Assemblages), INRA, 44300, Nantes, France

<sup>c</sup> Living Forest Trust (LIFT), s/c IRD (Institut de Recherche pour le Développement), BP 1857, Yaoundé, Cameroon

<sup>d</sup> UMR 1019 UNH (Human Nutrition Unit), INRA, Université d'Auvergne, CRNH Auvergne, 63000, Clermont-Ferrand, France

<sup>e</sup> UR 072, IRD (Institut de Recherche pour le Développement), BP1857, Yaoundé, Cameroon

<sup>f</sup> Evolution, Génomes, Comportement & Ecologie, CNRS, IRD, Univ. Paris-Sud, Université Paris-Saclay, 91198, Gif-sur-Yvette, France

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Food composition  
Food analysis  
Edible insect  
*Rhynchophorus phoenicis*  
African palm weevil larvae  
Morphotypes  
Nutritive value  
Amino acids  
Nitrogen-protein conversion factor  
Fatty acids  
Tocopherols  
Carotenoids

### ABSTRACT

African palm weevil (*Rhynchophorus phoenicis*, Rp) larvae are a potential source of lipids and proteins of good quality for human consumption. To evaluate the influence of growing conditions on nutrient composition of larvae grown on different raffia palms, larvae (3 larvae batches per condition) were collected from the wild (yellow wild or white wild larvae) or from a breeding system (white larvae). Growing conditions influenced the morphometric parameters of the larvae and their lipid content and composition. As highlighted by principal component analysis, wild larvae exhibited greater morphometric parameters (weight, length) and higher energy, lipid, carotenoid and total fatty acid contents than larvae from breeding system. As compared to white larvae, yellow larvae contained more energy and more lipids ( $27.7 \pm 2.3$  g/100 g fresh weight vs around 19.8 g/100 g), less polyunsaturated fatty acids ( $0.5 \pm 0.1$  g/100 g vs 0.8 g/100 g) and tocopherols ( $2.25 \pm 0.23$  mg/100 g vs around 4.5 mg/100 g), and, explaining their color, more carotenoids ( $800 \mu\text{g}/100 \text{g}$  vs  $280\text{--}390 \mu\text{g}/100 \text{g}$ ). Rp larvae contained from  $7.8 \pm 0.3$  (white wild) to  $8.8 \pm 0.9$  (yellow wild) g/100 g proteins and high levels of indispensable amino acids, with no effect of growing conditions. Their nitrogen to protein conversion factors varied from  $6.08 \pm 0.3$  (white wild) to  $7.42 \pm 0.4$  (yellow wild). This work gives a new and reliable insight on nutrient content variations in palm weevil larvae.

### 1. Introduction

In 2050, the global population is estimated to reach 9.7 billion people, with an increase of the food demand of up to 70% when compared to present situation (United Nations, 2015; FAO, 2009). Conventional food sources will be hardly sufficient to nourish the world population. Today, approximately 795 million people are undernourished in the world, among them 232.5 million in Africa (FAO – FIDA – WFP, 2015). Insects could play significant role in human nutrition for reduction of food shortage (Bodenheimer, 1951; Dufour, 1981; Kokondi et al., 1987; Meyer-rochow, 1975; Ramos-elorduy et al., 1997). Recently, several authors, and among them the United Nation Food and Agriculture Organization (FAO) reaffirmed the importance of insects as alternative food sources with high nutritional value (Bukkens,

1997; Ramos-elorduy et al., 1997; Rumpold and Schlüter, 2013; Van Huis et al., 2013a, 2013b; Ramos-elorduy et al., 1997; Bukkens, 1997). The larvae of palm weevil (*Rhynchophorus phoenicis*, Curculionidae, Dryophthoridae) are eaten in Western and Central African countries where they are considered either as a delicacy or used as alternative food by rural populations. They are also a source of income for population (Muafor et al., 2016; Dounias, 2003). *R. phoenicis* larvae are consumed in various dishes: in sauces, fried, roasted, raw or crushed (Tamesse et al., 2016; Ogbalu and Williams, 2015; Womeni et al., 2012). In Cameroon, they are generally collected from the wild and then bought at market (Meutchieye et al., 2016). Recently experimental grub farms have been promoted in Cameroon by the Living Forest Trust (LIFT), the French Institute of Research and for development (IRD) and the Center for International Forestry Research (CIFOR) (Muafor et al.,

\* Corresponding author.

E-mail address: [claude.genot@inra.fr](mailto:claude.genot@inra.fr) (C. Genot).

**Table 1**  
Diversity of proximate composition of African palm weevil (*Rhynchophorus phoenicis*) larvae published in literature g/100 g dry weight (DW) or fresh weight (FW).

Sources	Larval stage	Country	Moisture	Protein	Total lipids	Ash	Authors	
Local market	NS	Nigeria	FW	64.70 ± 3.0	9.9 <sup>a</sup>	21.94 <sup>a</sup>	2.19 <sup>a</sup>	(Edijala et al., 2009)
			DW		28.1 ± 0.85	62.15 ± 0.45	6.20 ± 0.45	
Market	NS	Cameroun	FW	61.9 ± 0.2	8.2 ± 0.4	25.3 ± 0.2	2.1 ± 0.1	(Womeni et al., 2012)
			DW		21.1 ± 0.2	66.6 ± 0.4	5.5 ± 0.2	
NS	NS	Nigeria	FW	61.9 ± 0.2	8.42	25.38	2.21	(Ekpo and Onigbinde, 2005)
			DW		22.1 ± 0.3	66.6 ± 0.4	5.8 ± 0.1	
NS	NS	Nigeria	FW	61.6 ± 0.2	8.45	25.46	2.23	(Ekpo et al., 2009)
			DW		22.1 ± 0.3	66.3 ± 0.4	5.8 ± 0.1	
Local market	NS	Nigeria	FW	60.43	9.96	25.72	1.91	(Idolo, 2010)
			DW		25.16	65	4.82	
Local market	NS	Cameroun	FW	70.15 ± 0.68	8.18 ± 0.44	21.35 ± 2.01	0.65 ± 0.14	(Fogang Mba et al., 2017)
			DW		27.50 ± 1.51	71.62 ± 7.61	2.18 ± 0.41	
NS	NS	Nigeria	FW	43.4	13.47 <sup>a</sup>	37.19	1.02 <sup>a</sup>	(Elemo et al., 2011)
			DW		23.8 <sup>a</sup>	65.7 <sup>a</sup>	1.8 <sup>a</sup>	
Local market	Late larval stage (30 day)	Congo	FW	28.2	15.22 <sup>a</sup>	47.17 <sup>a</sup>	3.73 <sup>a</sup>	(Lenga et al., 2012)
			DW		21.2	65.7	5.2	
Local market	Early larval stage – dried at 60 °C	Nigeria	FW	11.9 ± 0.2	8.02 <sup>a</sup>	54.18 <sup>a</sup>	2.09 <sup>a</sup>	(Omotoso and Adedire, 2007)
			DW		9.1 ± 0.0	61.5 ± 0.4	2.37 ± 0.15	
Wild	NS	Nigeria	FW	11.3 ± 0.8	31.58	17.30	4.17	(Onyeike et al., 2005)
			DW		35.6 ± 0.7 <sup>a</sup>	19.5 ± 1.4 <sup>a</sup>	4.7 ± 0.5 <sup>a</sup>	
Local market	Late larval stage- dried at 60 °C	Nigeria	FW	8.4 ± 0.1	9.62 <sup>a</sup>	56.88 <sup>a</sup>	2.13 <sup>a</sup>	(Omotoso and Adedire, 2007)
			DW		10.5 ± 0.0	62.1 ± 1.8	2.33 ± 0.23	
Range (FW)			FW	8.4–64.70	8.02–31.58	17.30–56.88	0.65–4.17	

NS = not specified;

<sup>a</sup> Data calculated from the data provided in the original publication.

2016).

Palm weevil larvae (*R. phoenicis*) are considered as source of lipids and proteins of good quality (Edijala et al., 2009; Fogang Mba et al., 2017). The nutrient composition of *R. phoenicis* larvae already published show however large variations (Table 1). For example, moisture content ranged from 8.4 to 64.7 g/100 g fresh weight (FW), protein content ranged from 8.02 to 31.6 g/100 g FW and lipid content ranged from 17.3 to 56.9 g/100 g FW (Table 1). It is difficult to establish if these huge variations are due to growing and sampling conditions of insects or to analytical procedures. Obviously, a set of reported data are consistent with moisture contents of fresh living organisms [60.4 g/100 g FW (Idolo, 2010); 64.7 ± 3.0 g/100 g FW (Edijala et al., 2009); 61.9 ± 0.2 (Womeni et al., 2012)], while others reported lower moisture contents [8.4 ± 0.1 g/100 g FW to 43.4 g/100 g FW (Banjo et al., 2013; Elemo et al., 2011; Lenga et al., 2012; Okaraonye and Ikewuchi, 2008; Omotoso and Adedire, 2007)]. These low values could be explained by the analysis of totally or partially dehydrated insects, but the information was often not given by the authors. Several authors presented proximate composition of *R. phoenicis* larvae on both dry and fresh weight basis (Ekpo and Onigbinde, 2005; Womeni et al., 2012), while others gave results on dry weight basis only (Banjo et al., 2006; Ogbuagu et al., 2011; Rumpold and Schlüter, 2013). In these papers the supply in nutrient components such as amino acids and fatty acids from the fresh insects cannot be calculated because the moisture content was not specified (Rumpold and Schlüter, 2013; Ogbuagu et al., 2011). In some cases, authors did not clearly indicate the mode of expression of their results (Omotoso and Adedire, 2007). To sum up, most of these data follow only partially the recommendations for good quality data usable for nutritional data basis (Payne et al., 2015). Information concerning the origin and the growing conditions of the insects, their larval stage, their sampling were also often absent. Palm weevil larvae were either directly collected from wild, bought at a market place or had unspecified origin (Table 1). Few recent studies reported morphometric parameters and/or proximate composition of *R. phoenicis* larvae obtained from breeding systems (Atuahene et al., 2017; Ebenebe et al., 2017). To our knowledge, until now, no data regarding the amino acid and fatty composition of *R. Phoenicis* larvae obtained from breeding systems are available. Importantly, information about plant hosts is lacking in all publications. Nevertheless, Palm weevil larvae

have several host plants: oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.), date palm (*Phoenix dactylifera* L.), raffia palm (*Raphiaspp.*) and coconut palm (*Cocosnucifera* L) (Tanyi Tambe et al., 2013), which may influence their growth and nutritional composition. In Cameroon, palm weevil larvae exhibit yellow or white morphotypes, depending on the Raffia palm species they grow on (*Elaeis guineensis*, *Raphia hookeri*, *Raphia mombutorum* and *Raphia mambillensis*) (de Laage de Meux, R. Personal Communication, Pierre & Marie Curie University, Paris, France, 2017; Dounias, 2003). These morphotypes are differently appreciated by the consumers. A recent molecular study using cytochrome oxidase1 markers showed that the two forms belong to the same species: *Rhynchophorus phoenicis*, but the white and yellow larvae don't present common haplotypes (De Laage de Meux, 2017). Indeed, different growing conditions may induce variations in nutrient composition of the larvae; thus differences between the two morphotypes regarding their nutritional composition had to be explored.

This study explores the possible nutritional differences between morphotypes of palm weevil larvae harvested from the wild and growing on two species of raffia palms, or obtained from a breeding system. We firstly investigated if there is a nutritional composition difference between the two morphotypes (yellow vs white) of *R. phoenicis* larvae which grew on different raffia palm. Secondly, we investigated if breeding of these larvae could induce changes in their nutritional composition by comparing bred larvae to those directly harvested in the wild. More attention was given to their lipophilic (fatty acids, tocopherols, carotenoids) and protein (amino acids) nutrients.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Sampling, identification, characterization and conservation of larvae, preparation of freeze-dried insect flours and experimental design

Palm weevil larvae were harvested from wild or collected from a breeding system: white wild and yellow wild larvae that grew on *Raphia hookeri* (RpWW) and on *Raphia mombutorum* (RpYW), respectively. White larvae were bred on *Raphia hookeri* (RpWB). Three independent batches were recovered, as described latter, for each group of larvae to fully evaluate the biological variations in the measured parameters.

The larvae from the wild (2 groups) were collected 30 days after

observation of *Rp* eggs in infested raffia palm stems in Elende, a village located at 90 km of Yaoundé in Cameroon. Batches (3) composed of approximately 100 larvae were harvested from three different trunks of *Raphia hookeri* and three different trunks of *Raphia monbuttorum*. The larvae collected from *Raphia hookeri* were of white colour (Rp WW) while those collected from *Raphia monbuttorum* were yellow (Rp YW). Larvae were identified morphologically using characters provided by Wattanapongsiri, (1966) and genetically using bar-coding technique (Barcode Cytochrome oxidase1) (De Laage de Meux, 2017) as *Rhynchophorus phoenicis* larvae.

The third group of larvae was obtained after farming. Bred larvae (Rp WB) were collected from an experimental farming plan put in place in the same village by the LIFT, IRD, and CIFOR pilot research project (Muafor et al., 2016). Larvae were obtained in three steps: fecundation, incubation, growth and development of larvae. Adult palm weevils were first reared in plastic boxes (60 cm long × 40 cm wide × 40 cm high) hanged up 80–100 cm above the ground in a shaded and air-circulating environment. For fecundation, six (6) adult raffia palm weevils (3 males and 3 females) were introduced in small plastic containers with lids containing early woody stem tissue of *Raphia hookeri*. The temperature of the containers was maintained at 20–25 °C. Two days after fecundation, eggs began to be laid. Fecundated adults and eggs were then introduced into larger plastic boxes for eggs production, incubation, hatching and development into edible adult larvae. Eggs were incubated (day 3–6) between 24 and 25 °C on early woody stem tissues of *Raphia hookeri* as substrate. For growth and development of young *R. phoenicis* larvae (day 7–30), temperature of plastic storage containers was maintained between 25 and 30 °C with hard woody stem tissue of *Ra hookeri* as substrate, added once a week. Approximately 100 mature larvae were harvested from three different farming boxes (3 batches) 25 days after fecundation of *R. phoenicis* adults.

For each of the targeted groups, samples collected were killed by freezing and stored at –20 °C until morphometric and nutrient analysis. To determine morphometric parameters, ten specimens of *Rhynchophorus phoenicis* larvae were randomly sampled from each batch. They were weighed, and their length, head capsule and width (body diameter) measured. Moisture, protein, ash and amino acid analyses were performed on dehydrated insect flours.

To prepare these flours, approximately 100 g of frozen larvae (around 20 insects) from each batch were freeze dried for 72 h and then were ground with a laboratory mill (20 000 rpm, M20, IKA). The flours were stored in air-tight containers at –20 °C until subsequent analysis. The remaining larvae, on which lipid analysis was performed was stored at the frozen state in air-tight flasks and finally thawed and ground just before lipid extraction.

## 2.2. Chemicals and solvents

D-glucosamic acid solution (Ref 0259 > 98%), DL-norleucine (Ref N1398 > 99.9%), HCl 37%, barium hydroxide, ninhydrin reagent solution (Ref 29670511) and BF<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH (14%) were of analytical grade and supplied by Sigma-Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France). Eluting solvents for amino acid analysis (methanol/trifluoroacetic acid/formic acid solvents A–F, pH 2.94, 3.32, 4.48, 7.97 and 10.5) were furnished by VWR (Strasbourg, France). Chloroform (ethanol stabilized, HPLC grade), dichloromethane (amylene stabilized, HPLC grade), tert-butyl-methyl-ether (HPLC grade), n-hexane (HPLC grade), methanol absolute (HPLC Supra-Gradient), acetone (HPLC grade) were purchased from Biosolve Chimie SARL (Dieuze, France). Cyclohexane (RS Plus for residual pesticide analysis) and ammonia (30% solution for analysis ACS) were purchased from Carlo Erba Reagents SAS (Val de Reuil, France).

## 2.3. Determination of moisture, ash, protein and lipid contents

Analysis of proximal composition of the larvae was performed

according to normalized methods (AOAC, 1996). To determine the moisture content of the insect flours, 3 g of flour were dried at 103 °C until constant weight for at least 4 h. Moisture content of the fresh insects was calculated from the moisture contents of the insect flours combined with the water losses during freeze-drying determined by weighing. To determine ash content, 3 g of the insect flour was weighed before and after its incineration in a muffle oven at 550 °C for at least 15 h. Total nitrogen content of the insect flours was determined using the Dumas method with an elemental analyser (Vario ISOTOPE Cube, Elementar, Frankfurt, Germany). Nitrogen to protein conversion factor of each morphotype of *R. phoenicis* larvae was then evaluated by comparison of their total nitrogen contents to their total amino acid residues, calculated from their total amino acid compositions (see parag. 2.6). For a given morphotype of *R. phoenicis* larvae, the appropriate factor was finally applied to the individual nitrogen. Total lipids were extracted from around 10 g of ground thawed larvae according to (Folch et al., 1957) with dichloromethane instead of chloroform as solvent. The extraction was performed a room temperature with 2-fold 70 mL of dichloromethane/methanol (2:1, v/v), followed by a washing with NaCl 0.73% (w/v) (¼ of the total volume of the solvent extract). Extracted total lipids were dried, weighed, solubilised in CHCl<sub>3</sub> and stored at –20 °C until further analysis. Energy values were calculated using the Atwater coefficients, namely 16.7 kJ/g for proteins and 37.6 kJ/g for lipids. The analyses were performed in triplicate on each batch (3) of *Rhynchophorus phoenicis* larvae from the different groups (3). The results were expressed as means and standard deviations.

## 2.4. Analysis of tocopherols

Tocopherol isomers (α, β, γ and δ tocopherols) were identified and quantified in the total lipid extracts following AOCS Ce-8-89 method (AOCS, 1998) with minor modifications (Kabri et al., 2013). The HPLC system, a Dionex Ultimate<sup>®</sup> LCRS-3000 one (Thermo electron SAS, Courtaboeuf, France), was equipped with a polar silica column (Dionex Polar Advantage 2; 250 mm × 3 mm, 3 μm) and a fluorescence detector (RF2000, Dionex; excitation: 295 nm; emission: 330 nm). Hexane/di-ter-butyl-ethyl ester (95/5; V/V) was used as mobile phase instead of hexane/isopropanol (99.5/0.5; V/V). The compounds were identified by comparison of their time of retention with authentic standards (tocopherol set 613424, purity ≥ 95%; Calbiochem, Merk Chimie, Fontenay sous bois, France; γ tocotrienol, Ref. T0702, Sigma-Aldrich), also used for the external calibration. The linear calibration curves, performed every day of analysis, were obtained for the different tocopherol isomers (α, β, γ and δ-tocopherol; 5–700 ng in n-hexane), (R<sup>2</sup> > 0.99; LOD ≈ 5 ng; LOQ < 10 ng; RSD < 1.5%). Blank samples were also run together with every sample series to check the column performance. The results for each batch were means of triplicate measurements made on 3 total lipid extracts and expressed as mg tocopherols per 100 g fresh weight.

## 2.5. Quantification of carotenoids

UV visible spectrophotometry was performed to detect and quantify carotenoids in the total lipid extracts of *Rhynchophorus phoenicis* larvae. Absorption spectra of the lipid extracts (180–280 mg/mL) dissolved in chloroform were first recorded from 300 to 600 nm against the solvent with a spectrophotometer (Shimadzu UV-1800, Japan). The spectra were similar to the spectrum of authentic β-carotene standard (β-carotene; Sigma ≥ 97%, BCBR8106V), which gives an indication of the presence of β-carotene molecules, even if other carotene isomers can also be present. The absorbances at the maximum (464 nm) were then collected. Relative quantification was achieved thanks to an external calibration curve (1–7 μmol/L; 5 concentrations) performed with the β-carotene standard, results being expressed as total carotenoids (μg/100 g fresh weight). The results were means of triplicate measurements.

**Table 2**  
Morphometric parameters of the different batches of palm weevils larvae (*Rhynchophorus phoenicis*) sampled in this study.

Larvae type	Length (mm)	Width (mm)	Head capsule (mm)	Weight (g)
Batch 1	42.1 ± 4.8 <sup>b</sup>	16.4 ± 1.5 <sup>a</sup>	8.3 ± 0.6 <sup>a</sup>	3.9 ± 1.4 <sup>b</sup>
Batch 2	47.2 ± 5.9 <sup>a</sup>	17.9 ± 1.1 <sup>a</sup>	8.6 ± 0.5 <sup>a</sup>	6.5 ± 1.8 <sup>a</sup>
Batch 3	49.9 ± 4.9 <sup>a</sup>	17.6 ± 1.5 <sup>a</sup>	8.8 ± 0.4 <sup>a</sup>	7.2 ± 2.2 <sup>a</sup>
<b>Yellow Wild</b>	<b>46.4 ± 6.0<sup>A</sup></b>	<b>17.3 ± 1.5<sup>B</sup></b>	<b>8.6 ± 0.5<sup>A</sup></b>	<b>5.9 ± 2.3<sup>A</sup></b>
Batch 1	44.7 ± 3 <sup>a</sup>	18.5 ± 2.7 <sup>a</sup>	8.6 ± 0.7 <sup>a</sup>	6.4 ± 0.7 <sup>a</sup>
Batch 2	46.0 ± 4.8 <sup>a</sup>	19.4 ± 1.5 <sup>a</sup>	9.0 ± 0.9 <sup>a</sup>	6.7 ± 1.6 <sup>a</sup>
Batch 3	42.7 ± 6.4 <sup>a</sup>	17.9 ± 3.3 <sup>a</sup>	9.1 ± 0.7 <sup>a</sup>	6.8 ± 1.2 <sup>a</sup>
<b>White Wild</b>	<b>44.4 ± 5.0<sup>A</sup></b>	<b>18.6 ± 2.5<sup>A</sup></b>	<b>8.9 ± 0.8<sup>A</sup></b>	<b>6.6 ± 1.2<sup>A</sup></b>
Batch 1	36.9 ± 1.9 <sup>a</sup>	16.8 ± 0.8 <sup>a</sup>	7.4 ± 0.8 <sup>a</sup>	3.7 ± 1.4 <sup>b</sup>
Batch 2	35.5 ± 3.4 <sup>a</sup>	17.1 ± 1.4 <sup>a</sup>	7.9 ± 0.3 <sup>a</sup>	4.8 ± 1.1 <sup>a</sup>
Batch 3	36.7 ± 3.8 <sup>a</sup>	16.8 ± 1.3 <sup>a</sup>	7.7 ± 0.6 <sup>a</sup>	5.0 ± 1.1 <sup>a</sup>
<b>White Breeding</b>	<b>36.4 ± 3.1<sup>B</sup></b>	<b>16.9 ± 1.2<sup>B</sup></b>	<b>7.7 ± 0.6<sup>B</sup></b>	<b>4.5 ± 1.3<sup>B</sup></b>

For each batch, the values indicated are means ± standard deviations of measurements performed on 10 larvae.

For a given morphometric parameter and one larvae type, means subscripted by different lower case letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) (batch effect); for a given morphometric parameter means in bold subscripted with different capital letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) (larvae type effect).

## 2.6. Determination of amino acid composition

Amino acid composition of *Rhynchophorus phoenicis* larvae flour was achieved as described in Fogang Mba et al. (2017). Around 100 mg of *R. phoenicis* larvae flours were accurately weighed and two internal standards (norleucine and glucosamic acid) were added to allow further quantification of amino acids. Four different conditions of protein hydrolysis were applied separately. Acid hydrolysis (HCl 6 N, 110 °C) was carried out for 24 h to determine most amino acids; for 24 h after oxidation by performic acid for the determination of sulfur amino acids, and for 48 h for branched-chained amino acids. Alkaline hydrolysis (Ba(OH)<sub>2</sub>, 4 N, 110 °C, 16 h) was performed for tryptophan determination. Amino acids were separated by ion exchange chromatography (125 mm L × 4 mm ID column filled with a polystyrene-divinylbenzene copolymer (Li-Form, PEEK), and a mobile phase consisting in 6 lithium acetate buffers with pHs increasing from 2.94 to 10.51), with post-column derivatization by ninhydrin and detection at 570 nm, except for proline at 440 nm, as recommended by the supplier of the amino acid analyser (Hitachi high-speed amino acid analyser L8900, Hitachi, Japan). Cysteine and methionine were detected as cysteic acid and methionine sulphone, respectively. Indispensable amino acid (IAA) scores were defined as the ratios of the contents of each indispensable amino acid in the insect proteins and in the reference protein (WHO/FAO/UNU, 2007).

## 2.7. Determination of fatty acid composition

Fatty acid composition of lipids extracted from *Rhynchophorus phoenicis* larvae were determined after transmethylation of 1 mg lipid with BF<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH (14%) in presence of an internal standard (C17:0) according to Morrison and Smith (1964). Fatty acid methyl esters (FAME) analysis was performed on a gas chromatograph (Clarus® 680 GC, Perkin Elmer, – Courtaboeuf, France) paired with a splitless injector and a flame ionization detector and equipped with an HP 225 column (30 m × 0.25 mm, film thickness 0.25 µm, J&W Scientific, Chromoptic, Auxerre, France). Chromatographic conditions were described previously (Fogang Mba et al., 2017). Identification of fatty acids was performed first by comparison of retention times of those of authentic fatty acid standards (mixtures of fatty acids chosen as close as possible of the composition of the samples) and, second, if any doubt, by mass spectrometry. Any loss of the separation capacity of the column was controlled on the chromatograms obtained with the fatty acid

standards. Blank samples (n-hexane) were also injected every day to check the column performance. Results were expressed as percentages of each fatty acid (FA) to the total identified fatty acids (TFA) (g/100 g TFA), as mg g<sup>-1</sup> lipids by using the peak area of the internal standard and as g/100 g larvae fresh weight. Limit of detection (amount of FA resulting in a peak with a height three times that of the baseline noise) was around 0.1 mg/g lipids or 0.01 g/100 g total fatty acids).

## 2.8. Statistical analysis

Apart amino acid composition, all analyses were performed at least in triplicate on samples taken from each batch and reported as means ± standard deviations. Results were submitted to one way analysis of variance (ANOVA) and Newman-Keuls test (SNK) for mean comparisons, both at 0.05% probability level ( $p < 0.05$ ) with the software XLSTAT (XLSTAT Version 2013.2.04, Addinsoft™). Firstly, analysis were done separately for each larvae type with all replicates ( $n = 3$  for nutrient composition analysis; 10 specimens of larvae for morphometric parameters analysis), to study the effect of batches and give an insight of the homogeneity of sampling. Then mean values were calculated for each batch and statistical comparisons done with these values ( $n = 3$ : number of batches per larvae type) to evidence the effects of larvae group (YW, WW or WB). It was after assumed that some variables (morphometric parameters and nutrient components) could be correlated and that each group (different growing conditions) can be characterized by specific variables. To explore links between larvae morphometric parameters and their nutrient components and to visualize overall resemblances and differences between larvae morphotypes, Principal Component Analysis (PCA) were done, with the same software, using mean values calculated on each batch of *Rhynchophorus phoenicis* larvae.

## 3. Results

### 3.1. Morphometric analysis

The morphometric parameters of Palm weevil larvae, identified as *Rhynchophorus phoenicis* larvae, grew on different raffia palms and harvested in wild or bred are shown in Table 2. The length of *R. phoenicis* larvae varied from 35.5 ± 3.4 to 49.9 ± 4.9 mm; the width varied from 16.4 ± 1.5 to 19.4 ± 1.5 mm; the head capsule varied from 7.4 ± 0.8 to 9.1 ± 0.7 mm and the weight from 3.7 ± 1.4 to 7.2 ± 2.2 g. For a given growing condition of larvae, the morphometric parameters of the insects sampled from the different batches were similar ( $p > 0.05$ ) apart for one batch of Rp YW exhibiting smaller length and weight than the others batches and a batch of Rp WB with a smaller mean weight (Neuman-Keuls test,  $p < 0.05$ ). These differences remained however limited, which shows the overall good homogeneity of breeding, harvesting, and sampling conditions. More interestingly, morphometric parameters depended of larvae growing conditions (Table 2). Results evidence that the Rp WB larvae exhibited smaller ( $p < 0.05$ ) length of body (36.4 ± 3.1 mm), head capsule (7.7 ± 0.6 mm), and weight (4.5 ± 1.3 g) than Wild type larvae. These parameters were similar for white and yellow larvae harvested from the wild, while the Rp WW larvae had significantly greater widths than others larvae (18.6 ± 2.5 mm instead of 17.3 ± 1.5 mm for YW and 16.9 ± 1.2 mm for WB larvae). To conclude, Rp WB larvae had the lowest values for most the morphometric parameters apart for width, which could agree with the fact that the larvae obtained from experimental breeding were younger (collected 25 days after male and female adult *R. phoenicis* had been placed in boxes for fecundation) than those harvested from the wild (harvested 30 days after observation of eggs in infested raffia palms); it could also result from life conditions not optimal for their growth. The bred larvae were harvested when the larvae were already in their late larvae stage, but only 25 days after fecundation, because it is of interest for insect farmers to reduce breeding



**Table 3**  
Nitrogen to protein conversion factor determined for the different Rp larvae.

	TAAR (g/100 g FW)	Total Nitrogen (g/100 g FW) (Dumas method)	N to P conversion factor
Batch 1	8,26	1,17 ± 0,04	7,07
Batch 2	9,63	1,31 ± 0,05	7,33
Batch 3	8,47	1,08 ± 0,03	7,86
<b>Yellow wild</b>	<b>8,79 ± 0,74A</b>	<b>1,19 ± 0,11C</b>	<b>7,42 ± 0,40A</b>
Batch 1	7,71	1,34 ± 0,04	5,76
Batch 2	7,71	1,26 ± 0,02	6,11
Batch 3	8,04	1,26 ± 0,07	6,37
<b>White wild</b>	<b>7,82 ± 0,19A</b>	<b>1,29 ± 0,05B</b>	<b>6,08 ± 0,30B</b>
Batch 1	8,94	1,27 ± 0,02	7,06
Batch 2	8,25	1,47 ± 0,02	5,60
Batch 3	8,68	1,47 ± 0,01	5,91
<b>White breeding</b>	<b>8,62 ± 0,35A</b>	<b>1,40 ± 0,10A</b>	<b>6,19 ± 0,77B</b>

TAAR: Total Amino Acid Residues; N: Total Nitrogen; P: Protein.

The reported values are means ± standard deviations calculated from three separate analyses.

Means in bold subscripted by different capital letters within a column are significantly different ( $p < 0.05$ ).

duration to limit the quantity of substrate while keeping good productivity. This why we compared the nutritional composition of these larvae collected from the breeding system and the composition of wild larvae as currently sold at the market place. Importantly, the different batches of larvae obtained by breeding exhibited similar and very homogeneous (small standard deviations) morphometric parameters, (except for weight), which indicates a good control of the breeding factors influencing morphometric parameters.

### 3.2. Nitrogen to protein conversion factor

Nitrogen to protein conversion factors were calculated by dividing the sum of amino acid residues (Supplementary data, Table E) by the total nitrogen content obtained by the Dumas method for each batch of larvae (Table 3). The nitrogen to protein conversion factor (kp) was similar ( $p > 0.05$ ) for wild or bred white larvae ( $kp = 6.19 \pm 0.77$  for white breeding larvae and  $6.08 \pm 0.30$  for white wild larvae) but was significantly different higher ( $p < 0.05$ ) for yellow larvae:  $kp = 7.42 \pm 0.40$ . These nitrogen to protein conversion factors were then used to calculate protein content from total nitrogen measured on the different batches of larvae.

**Table 4**

Proximate composition (g/100 g fresh weight) of African palm weevil larvae (*Rhynchophorus phoenicis*) of different types and origins.

Larvae type	Moisture (g/100 g FW)	Total Lipids (g/100 g FW)	Crude protein (g/100 g FW)	Ash (g/100 g FW)	Energy kJ (kcal)/100 g FW
Batch 1	66.4 ± 0.2a	25.2 ± 0.7c	8,7 ± 0,3b	0.88 ± 0.03b	1096 (262)
Batch 2	63.58 ± 0.04b	30.5 ± 0.6a	9,7 ± 0,4a	1.00 ± 0.02a	1311 (313)
Batch 3	61.00 ± 0.09c	27.3 ± 0.3b	8,0 ± 0,2c	1.02 ± 0.02a	1162 (278)
<b>Yellow-Wild</b>	<b>63.7 ± 2.3<sup>C</sup></b>	<b>27.7 ± 2.3<sup>A</sup></b>	<b>8.8 ± 0.9<sup>A</sup></b>	<b>1.0 ± 0.1<sup>A</sup></b>	<b>1190 ± 111<sup>A</sup> (284 ± 26)</b>
Batch 1	71.01 ± 0.01a	22.6 ± 0.8a	8,1 ± 0,3a	0.60 ± 0.01a	986 (236)
Batch 2	69.83 ± 0.04b	21.7 ± 0.6a	7,7 ± 0,1a	0.61 ± 0.02a	946 (226)
Batch 3	70.6 ± 0.4a	22.2 ± 0.8a	7,7 ± 0,4a	0.53 ± 0.02b	964 (230)
<b>White-Wild</b>	<b>70.5 ± 0.6<sup>A</sup></b>	<b>22.2 ± 0.8<sup>B</sup></b>	<b>7.8 ± 0.3<sup>B</sup></b>	<b>0.6 ± 0.0<sup>C</sup></b>	<b>965 ± 20<sup>B</sup> (231 ± 5)</b>
Batch 1	68.75 ± 0.02a	17.4 ± 0.1b	7,8 ± 0,1b	0.91 ± 0.02a	788 (188)
Batch 2	67.98 ± 0.08c	20.9 ± 0.3a	9,1 ± 0,1a	0.81 ± 0.05b	940 (225)
Batch 3	68.53 ± 0.01b	13.9 ± 0.1c	9,1 ± 0,0a	0.8 ± 0.01b	677 (162)
<b>White-breeding</b>	<b>68.4 ± 0.3<sup>B</sup></b>	<b>17.4 ± 3.0<sup>C</sup></b>	<b>8.7 ± 0.7<sup>A</sup></b>	<b>0.8 ± 0.1<sup>C</sup></b>	<b>802 ± 132<sup>B</sup> (192 ± 32)</b>

The reported values are means ± standard deviations calculated from three separate analyses.

Within a column, means in bold subscripted by different capital letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) (larvae type effect); on the same, means calculated for larvae types subscripted by different lower case letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) (batch effect); FW: Fresh weight.

### 3.3. Proximate composition

Proximate composition of palm weevil larvae grew on different raffia palms and harvested in wild or bred is presented in Table 4. Data are presented on fresh weight basis as recommended by FAO/INFOODS program. As other living organisms, the main component of *Rhynchophorus phoenicis* larvae is water, but highly significant differences ( $p < 0.0001$ ) within larvae groups were evidenced. Rp WW larvae exhibited the highest moisture content ( $70.5 \pm 0.6$  g/100 g FW) followed by Rp WB larvae ( $68.4 \pm 0.3$  g/100 g FW) and by RpYW larvae ( $63.7 \pm 2.3$  g/100 g FW).

Lipids represent the second main component in palm weevil larvae. Total lipid content ranged from 13.9 g/100 g FW (batch 3 of Rp WB larvae) to 30.5 g/100 g (batch 2 of Rp YW larvae). This result falls within values obtained in literature (8.19–56.88 g/100 g FW; Table 1) and confirms the important variability of lipid content of *R. Phoenicis* larvae. When considering mean values obtained for the different larvae groups, the highest lipid content was found in Rp YW larvae ( $27.7 \pm 2.3$  g/100 g FW). This value was highly significantly different ( $p < 0.0001$ ) from lipid contents of Rp WW larvae ( $22.2 \pm 0.8$  g/100 g FW) and Rp WB larvae ( $17.4 \pm 3.0$  g/100 g FW). Indeed, this result agrees with the lowest weights of Rp WB larvae probably because Rp WB larvae had less time to accumulate fats. Additionally, the different batches of Rp YW and Rp WB larvae exhibited significantly different lipid contents, showing lesser homogeneity of this parameter as compared to morphometric parameters.

Protein content of Rp larvae were calculated from total nitrogen determination. Results showed that proteins represent the third main components of *R. phoenicis* larvae with values ranging from  $7.7 \pm 0.1$  to  $9.7 \pm 0.4$  g/100 g FW. Rp WW larvae exhibited significantly lower protein content ( $7.8 \pm 0.3$  g/100 g FW) than Rp WB larvae ( $8.7 \pm 0.7$  g/100 g FW) and Rp WW larvae and Rp YW larvae ( $8.8 \pm 0.9$  g/100 g FW).

Ash contents of *R. phoenicis* larvae ranged from  $0.53 \pm 0.02$  to  $1.02 \pm 0.02$  g/100 g FW. Ash contents of white larvae from breeding system or from the wild were similar but significantly different ( $p < 0.05$ ) from ash content of yellow larvae.

The at least energy content of palm weevil larvae was calculated based on only their lipid and protein contents (Table 4). It varied significantly with the morphotype of the larvae. Energy content of Rp WW larvae [ $965 \pm 20$  kJ/100 g FW ( $231 \pm 5$  kcal/100 g FW)] and Rp WB larvae [ $802 \pm 132$  kJ/100 g FW ( $192 \pm 32$  kcal/100 g FW)] were not significantly different ( $p > 0.05$ ) while it was significantly higher for Rp YW larvae [ $1190 \pm 111$  kJ/100 g FW ( $284 \pm 26$  kcal/100 g FW)]. This agrees with the lower moisture content and higher lipid content of yellow *R. phoenicis* larvae as compared to white larvae, whatever their growing conditions.

**Table 5**  
Tocopherol composition and carotene content (total carotenoids) of different types of *Rhynchophorus phoenicis* larvae.

	Tocopherols (mg/100 g FW)					Carotenoids
	$\alpha$ -tocopherol	$\beta$ -tocopherol	$\gamma$ -tocopherol	$\delta$ -tocopherol	total tocopherols	( $\mu\text{g}/100\text{ g FW}$ )
Batch 1	0.62 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.05 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	1.36 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	0.06 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	2.09 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	870 $\pm$ 17 <sup>a</sup>
Batch 2	0.47 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.06 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	1.51 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	0.07 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	2.11 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	751 $\pm$ 59 <sup>a</sup>
Batch 3	0.62 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.09 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	1.76 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.08 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	2.55 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	792 $\pm$ 9 <sup>a</sup>
<b>Yellow Wild</b>	<b>0.57 <math>\pm</math> 0.08<sup>C</sup></b>	<b>0.07 <math>\pm</math> 0.02<sup>C</sup></b>	<b>1.54 <math>\pm</math> 0.18<sup>B</sup></b>	<b>0.07 <math>\pm</math> 0.01<sup>B</sup></b>	<b>2.25 <math>\pm</math> 0.23<sup>B</sup></b>	<b>805 <math>\pm</math> 61<sup>A</sup></b>
Batch 1	1.60 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	0.27 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	4.12 $\pm$ 0.30 <sup>a</sup>	0.19 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	6.17 $\pm$ 0.48 <sup>a</sup>	439 $\pm$ 297 <sup>a</sup>
Batch 2	1.20 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	0.27 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	2.69 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	0.10 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	4.27 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	421 $\pm$ 142 <sup>a</sup>
Batch 3	1.27 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.23 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	2.24 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	0.10 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	3.84 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	312 $\pm$ 56 <sup>a</sup>
<b>White Wild</b>	<b>1.35 <math>\pm</math> 0.21<sup>A</sup></b>	<b>0.26 <math>\pm</math> 0.02<sup>B</sup></b>	<b>3.02 <math>\pm</math> 0.86<sup>A</sup></b>	<b>0.13 <math>\pm</math> 0.04<sup>A</sup></b>	<b>4.76 <math>\pm</math> 1.10<sup>A</sup></b>	<b>391 <math>\pm</math> 178<sup>B</sup></b>
Batch 1	1.19 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	0.40 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	2.15 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	0.07 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	3.81 $\pm$ 0.09 <sup>c</sup>	293 $\pm$ 10 <sup>a</sup>
Batch 2	1.06 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	0.31 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	2.94 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	0.11 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	4.42 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	261 $\pm$ 24 <sup>a</sup>
Batch 3	1.07 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	0.30 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	2.60 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.14 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	4.10 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	273 $\pm$ 19 <sup>a</sup>
<b>White Breeding</b>	<b>1.11 <math>\pm</math> 0.07<sup>B</sup></b>	<b>0.34 <math>\pm</math> 0.05<sup>A</sup></b>	<b>2.56 <math>\pm</math> 0.35<sup>A</sup></b>	<b>0.11 <math>\pm</math> 0.03<sup>A</sup></b>	<b>4.11 <math>\pm</math> 0.27<sup>A</sup></b>	<b>276 <math>\pm</math> 2<sup>B</sup></b>

The reported values are the means  $\pm$  standard deviations calculated from three separate analyses.

Means in bold subscripted by different capital letters within a column are significantly different ( $p < 0.05$ ).

Means with different lower case letters between 2 straight lines are significantly different ( $p < 0.05$ ).

### 3.4. Tocopherol composition and vitamin E content

Tocopherol composition of the three groups of *Rhynchophorus phoenicis* larvae is presented in Table 5. The four tocopherol isomers, namely  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  and  $\delta$  tocopherol, were identified in the larvae in agreement with our previous work (Fogang Mba et al., 2017). The most abundant isomer was  $\gamma$  tocopherol (mean values: 1.54  $\pm$  0.18–3.02  $\pm$  0.86 mg/100 g FW), followed by  $\alpha$ -tocopherol (mean values: 0.57  $\pm$  0.08 to 1.35  $\pm$  0.21 mg/100gFW). White larvae contained significantly more vitamin E (total tocopherols) (mean values: 4.11  $\pm$  0.27 to 4.76  $\pm$  1.10 mg/100 g FW) than yellow larvae (2.25  $\pm$  0.23 mg/100 g FW).

### 3.5. Carotenoid content

Carotene isomers are considered as pro vitamin A. Their contents in *Rhynchophorus phoenicis* larvae are presented in Table 5 (total carotenoids based on the molar absorption coefficient of  $\beta$ -carotene as reference). They ranged from 261  $\pm$  24 to 870  $\pm$  17  $\mu\text{g}/100\text{ g FW}$ , which is far lower than the content of vitamin A (3150  $\mu\text{g}/100\text{ g FW}$ ) previously reported by (Banjo et al., 2013). Carotenoid content in yellow larvae (805  $\pm$  61  $\mu\text{g}/100\text{ g FW}$ ) was significantly higher than in white wild larvae (391  $\pm$  178  $\mu\text{g}/100\text{ g FW}$ ), itself higher than its amount in Rp WB larvae (276  $\pm$  22  $\mu\text{g}/100\text{ g FW}$ ).

### 3.6. Fatty acid composition

At least thirteen fatty acids (FAs) were identified in each group of palm weevil larvae (Supplementary data, Tables A–C). The major fatty acids were C16 and C18:1n-9 (Fig. 2). Fatty acid (FA) contents (g/100 g total identified fatty acids,  $\mu\text{g}/\text{g}$  total lipids and g/100 g fresh weight) are given in Supplementary data showing all identified fatty acids (Supplementary data Tables A–C). Polyunsaturated fatty acid (PUFA) contents were similar in white breeding larvae (0.8  $\pm$  0.1 g/100 g FW) and white wild larvae (0.8  $\pm$  0.2 g/100 g FW) but significantly higher than in yellow larvae (0.5  $\pm$  0.1 g/100 g FW). These amounts were lower than PUFA contents of chicken egg (1.65 g/100 g FW) and fatty fish (mackerel) (3.91 g/100 g FW) (ANSES, 2016). In Rp larvae, linoleic and alpha linolenic acids were the only detected PUFAs (Fig. 1). White larvae contained more linoleic acid (0.61  $\pm$  0.12 to 0.62  $\pm$  0.07 g/100 g FW) and alpha linolenic acid (0.16  $\pm$  0.02 to 0.18  $\pm$  0.06 g/100 g FW) than yellow larvae (0.42  $\pm$  0.06 and 0.06  $\pm$  0.01 g/100 g FW respectively) (Supplementary data, Table C). As the recommended daily intake for adults is 4.4 g/day for linoleic acid and 1.8 g/day for  $\alpha$ -linolenic acid, 100 g of fresh white larvae will provide up to 11.1% of

recommended supply for alpha linolenic acid and up to 4.1% for linoleic acid. Besides these moderate supplies in essential fatty acids, white *R. phoenicis* larvae present a favorable n-6/n-3 ratio. The n-6/n-3 ratios of white larvae (3.2  $\pm$  0.7 to 3.8  $\pm$  0.2) confirm the value obtained in our previous study (Fogang Mba et al., 2017). A low n-6/n-3 ratio is effective for the prevention of cardiovascular diseases, whereas a ratio of 10/1 has adverse consequences (Simopoulos, 2008). The lipids supplied by the white larvae can thus participate to an overall healthy balance of the diet in n-6 and n-3 PUFA. The n-6/n-3 ratio in the lipids of yellow larvae (7.0  $\pm$  0.1) was higher than the target value of 5.

As usage of oils and fats in food industry depends predominantly on their FA composition, data were also expressed as g/100 total FA (Supplementary data, Table B). FA composition of lipids of white breeding and white wild larvae were very close apart the presence in Rp WW larvae of C24, not detected in Rp WB larvae, and a lower amount of linoleic acid (3.1  $\pm$  0.7 g/100 g FA in WW larvae instead of 4.17  $\pm$  1.20 g/100 g FA in WB larvae;  $p < 0.05$ ). By contrast, significant differences between FA composition of lipids of white and yellow larvae were evidenced. The percentages of oleic acid (C18:1n-9) in total lipids were statistically close, even if significantly different ( $p < 0.05$ ) in Rp WB (44.2  $\pm$  2.0 g/100 g FA) and Rp WW larvae (47.0  $\pm$  2.0 g/100 g FA), and was significantly higher in Rp YW larvae (57.8  $\pm$  0.5 g/100 g FA). On the same way, PUFA percentages in total lipids of Rp WW larvae (4.0  $\pm$  0.9 g/100 g FA) and Rp WB larvae (5.3  $\pm$  1.5 g/100 g FA) were close, but significantly higher than in Rp YW larvae (2.8  $\pm$  0.4 g/100 g FA).

### 3.7. Amino acid composition

Eighteen amino acids were identified in each type of *Rhynchophorus phoenicis* larvae. Amino acid content (mg/g protein; mg/100 g fresh weight) of *R. phoenicis* larvae from different origins are shown in Supplementary data (Tables D and E). Rp YW, Rp WW and Rp WB larvae had very close concentrations of amino acids, indicating the absence of larvae type effect based on this variable. All indispensable amino acids were found in similar content in the three groups of *R. phoenicis* larvae (Fig. 2). A significant difference was however highlighted ( $p < 0.05$ ) between total indispensable amino acid (TIAA) of Rp WW larvae (4420  $\pm$  221 mg/100 g FW) and Rp YW larvae (5001  $\pm$  311 mg/100 g FW). TIAA of Rp WW and Rp WB larvae (4858  $\pm$  64 mg/100 g FW) were statistically similar. The most abundant amino acid in *Rhynchophorus phoenicis* larvae was glutamic acid (1007  $\pm$  48 to 1122  $\pm$  196 mg/100 g FW).

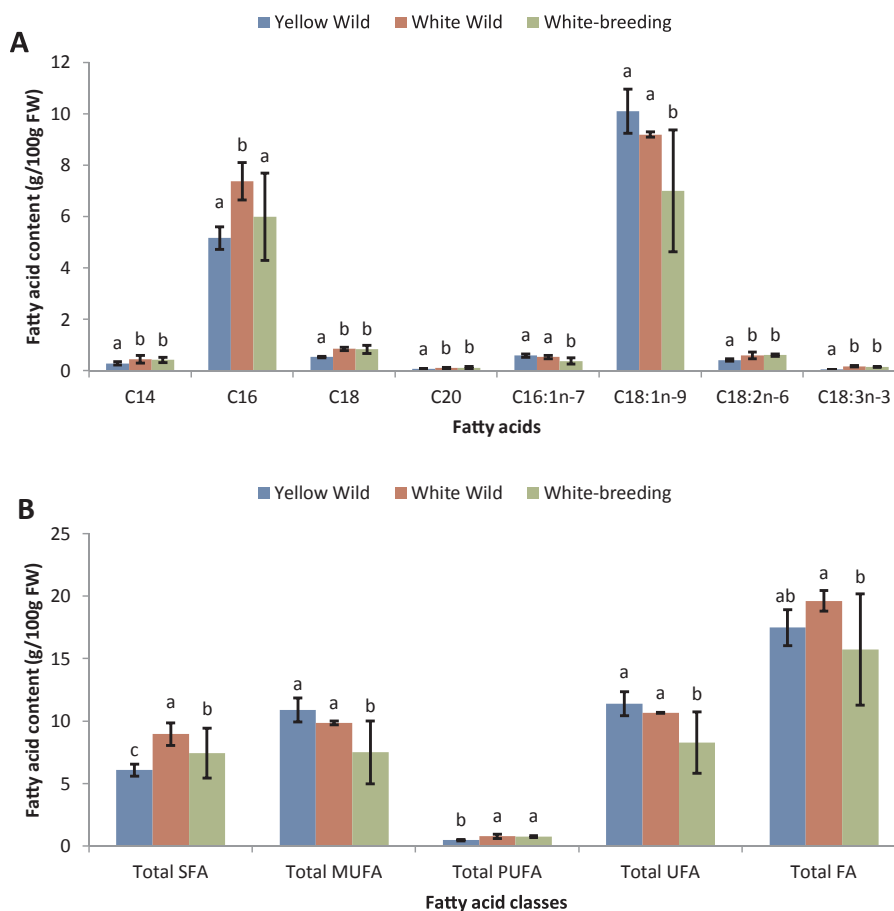


Fig. 1. Main fatty acids (A) and fatty acid classes (B) contents of different types of palm weevil (*Rhynchophorus phoenicis*) larvae. FA: Fatty Acids; SFA: Saturated Fatty Acids; MUFA: Monounsaturated Fatty Acids; PUFA: Polyunsaturated Fatty Acids; For each fatty acid, or fatty acid class, values with different lower case are significantly different ( $p < 0.05$ ).

### 3.8. Principal component analysis (PCA) and Pearson correlation coefficients

All variables of morphometrics parameters (mm; g) and main nutrient component (g or mg/100 g FW) were subjected to Pearson correlation and PCA analysis (normalized data) to explore link between variables (for instance between morphometric parameters and proximate analysis), and visualize resemblances and dissimilarities between *Rhynchophorus phoenicis* larvae groups including homogeneity and/or dispersion of batches from the same growing group. PCA biplot (Fig. 3) highlights resemblance/dissimilarity between the 3 groups of larvae while Table F (Supplementary data) presents correlations between selected variables (correlation matrix of Pearson). The first dimension of PCA contained approximately 43% of the total variability of the system, while the second dimension contained approximately 23% of the total variability of the system.

## 4. Discussion

Morphometric parameters give indication about the age, the development stage of the insects and homogeneity of sampling. The similarity of morphometric parameters in Rp YW and Rp WW larvae agrees with the fact that the two wild groups of larvae had approximately the same age and development stage. Data on relation between morphometric parameters of *Rhynchophorus phoenicis* larvae and their larval stage are heterogeneous in literature. Lenga et al. (2012) and Monzenga Lokela et al. (2017) considered that approximately 30 days after egg production and development, *R. phoenicis* larvae are in their late larval stage. For Lenga et al. (2012), the length and weight of the

insects at this stage were respectively 49.5 mm and 7.33 g. Omotoso and Adedire (2007) found for *R. phoenicis* larvae, a length of  $46.1 \pm 0.6$  mm and a weight of  $8.14 \pm 0.14$  g for the late larval stage; a length of  $25.4 \pm 0.4$  mm and a weight of  $2.59 \pm 0.14$  g for the early larval stage. In the present study, the mean length of *R. phoenicis* larvae ranged from  $35.5 \pm 3.4$  to  $49.9 \pm 4.9$  mm and their mean weight ranged from  $3.7 \pm 1.4$  g to  $7.2 \pm 2.2$  g (Table 2), which could indicate that some larvae used in this study were not yet at the end of their larval stage. This concerns particularly the larvae from the breeding system which exhibited mean weight ranging from  $3.7 \pm 1.4$  to  $5.0 \pm 1.1$  g and mean length from  $35.5 \pm 3.4$  to  $36.9 \pm 1.9$  mm. These larvae were collected only 25 days after fecundation while wild larvae collected 30 days after raffia palm infestation had greater morphometric parameters. Rate of development and weight of late larval stage of *R. phoenicis* larvae also strongly depend on their rearing substrate. Monzenga Lokela et al. (2017) observed that the weight of late larval stage of *R. phoenicis* larvae reared in palm cake medium was  $3.40 \pm 0.68$  g (42 days); while those reared in sugar cane was  $5.39 \pm 0.49$  g (34 days); those reared in young palm trunk was  $6.95 \pm 0.98$  g, (15 days) (Monzenga Lokela et al., 2017). For Rp WB larvae, significant differences in weight mean values for the different batches may suggest that these larvae were not in their optimal conditions for growth; more efforts are probably needed to control and improve their environment of breeding (quality of substrate, temperature or humidity).

Nutritive value of the different groups of palm weevil larvae has been evaluated in the present work. Total lipid content ranged from  $13.9 \pm 0.1$  to  $30.5 \pm 0.6$  g/100 g FW (Table 4). These values are higher than the values found in food database, for animal foods such as

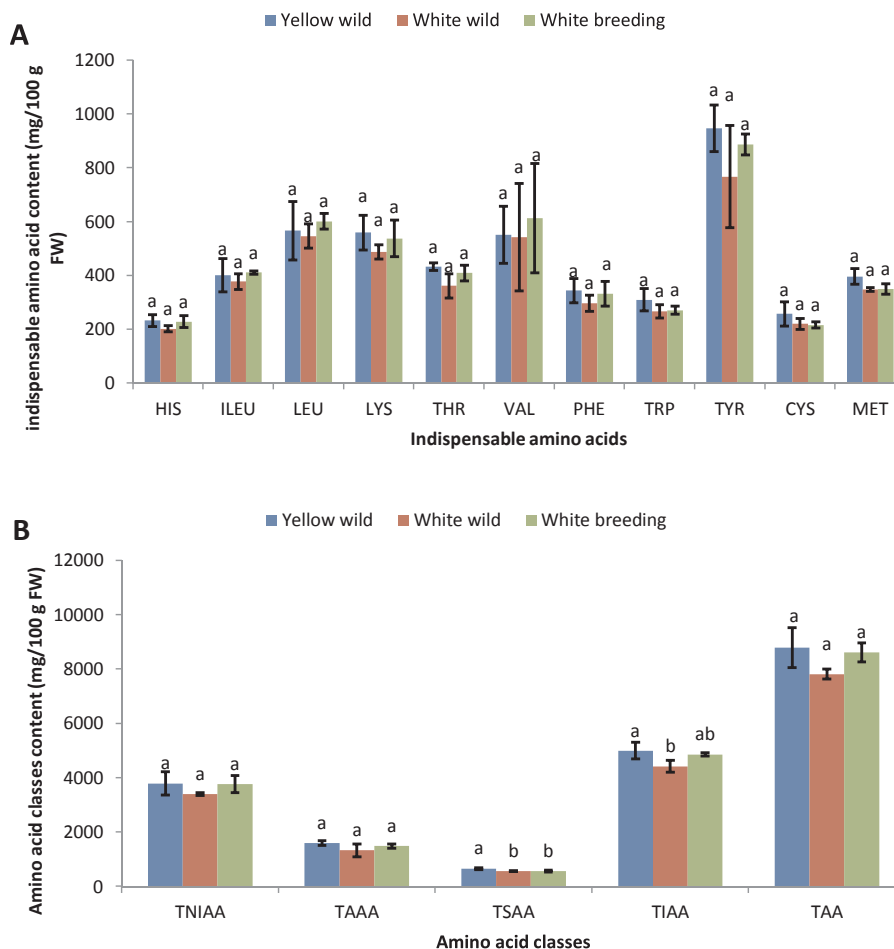


Fig. 2. Contents in indispensable amino acids (A) and selected amino acid classes (B) of different types of *Rhynchophorus phoenicis* larvae.

For group of amino acids, values with different lower case letter are significantly different (larvae type effect;  $p < 0.05$ ).

TSAA: Sulphur Amino Acids; TAAA: Aromatic Amino Acids; TIAA Indispensable Amino Acids; TNIAA: Non Indispensable Amino Acids. TAA: Total Amino Acids.

fish (mackerel) (13.5 g/100 g FW); beef (round, raw) (5.91 g/100 g FW); beef (minced steak, 5% fat, raw) (4.69 g/100 g FW); chicken egg (9.82 g/100 g FW); chicken (dark meat, flesh, raw) (4.51 g/100 g FW); pork meat (filet mignon, raw) (4.09 g/100 g FW (ANSES, 2016)). The lowest value of total lipids was obtained in Rp WB larvae ( $13.9 \pm 0.1$  to  $20.9 \pm 0.3$  g/100 g FW). The number of identified fatty acids in *R. phoenicis* larvae (16, among them 13 detected in all batches; Supplementary data Tables A–C) is in accordance with our previous work (Fogang Mba et al., 2017). Other authors identified only 2 (Ogbuagu et al., 2011); 4 (Elemo et al., 2011); 6 (Lenga et al., 2012); 7 (Okaraonye and Ikwuchi, 2008); 9 (Ekpo and Onigbinde, 2005) and 11 (Womeni et al., 2009) FAs in *R. phoenicis* larvae.

White larvae were richer in PUFA than yellow larvae, but yellow larvae were richer in unsaturated fatty acids than white larvae, due to their richness in oleic acid (Fig. 1). The calculation of peroxidability index ( $PI = 0.025 \times \% \text{ UFA} + 1 \times \% \text{ C18:2} + 2 \times \% \text{ C18:3}$ ) (Meynier et al., 1999) indicates that yellow larvae lipids are probably less susceptible to oxidation ( $PI = 4.8$ ) than lipids from white larvae ( $PI = 6.2$  and  $7.4$  for WW and WB, respectively) and than rapeseed, sunflower and tuna oils (Viau et al., 2016).

Total tocopherols ( $2.22 \pm 0.23$  mg/100 g FW to  $4.76 \pm 1.10$  mg/100 g FW; Table 5) of different type of palm weevil larvae was by far higher than the value of 0.14 mg/100 g FW obtained by Banjo et al. (2013). Tocopherol content of white larvae (mean of 4.44 mg/100 g) was also higher than the value of 3.12 mg/100 g FW we measured on white wild larvae (Fogang Mba et al., 2017). Yellow larvae contained more pro-vitamin A than white larvae. As  $12 \mu\text{g}$  of  $\beta$ -carotene is converted to  $1 \mu\text{g}$  of vitamin A (retinol equivalent) (ANSES, 2015), a

consumption of 100 g of fresh Rp WB and Rp YW larvae will provide respectively  $23 \mu\text{g}$  and  $67 \mu\text{g}$  of vitamin A. As the mean of vitamin A requirements is  $616 \mu\text{g}$  for men (adults 20–64 year old) and  $462 \mu\text{g}$  for women (adults 20–54 year old) (ANSES, 2015), 100 g of fresh Rp YW will represent up to 14% of daily needs. *R. phoenicis* larvae contain tocopherols and carotenoids, both antioxidants, acting through different pathways to protect unsaturated lipids from oxidation.

Different nitrogen to protein conversion factors (kp) were obtained for white and yellow Rp larvae (Table 3). The kp of white larvae (6.08–6.19) were lower than that of yellow larvae (7.42). Low nitrogen conversion factor ( $< 6.25$ ) has been recently measured for several insects (Janssen et al., 2017). This study measured nitrogen content by the Dumas method which measures both organic nitrogen and inorganic nitrogen. In insects that build an exoskeleton the organic nitrogen is not only from protein but also from cuticle components (Jonas-Levi and Itzhak Martinez, 2017). In *Rhynchophorus phoenicis* larvae, the exoskeleton is only present in head capsule, and thus represents a minor fraction of the entire larvae. We could estimate the overestimation of protein nitrogen content due to these compounds to less than 0.4 g/100 g dry matter for white larvae by comparison of total nitrogen content measured by the Dumas method (4.44 g/100 g dry weight for wild larvae and 4.37 g/100 g for bred larvae) and total nitrogen calculated from amino acid analysis: 4.15 g/100 g DW for wild larvae, 4.0 g/100 g for bred larvae). In Rp YW larvae, the high nitrogen to protein conversion factor could be due to the relatively high amount of tyrosine residues ( $947 \pm 86$  mg/100 g FW). Surprisingly, more nitrogen was calculated from total amino acid residues (3.65 g/100 g DW) than obtained by the Dumas method (3.28 g/100 g DW). For healthy



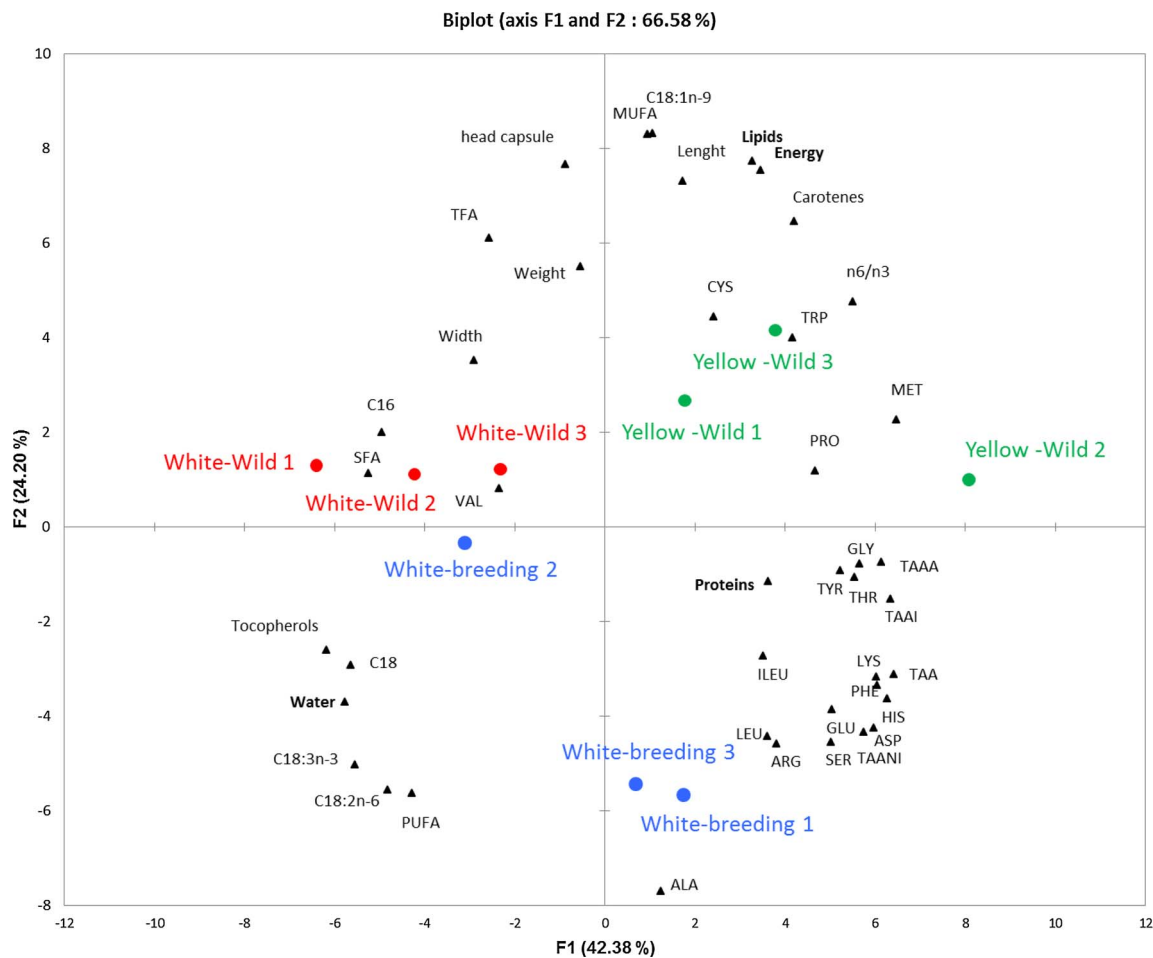


Fig. 3. Representation of some variables: main nutrient components and morphometric parameters, and the individuals (batches of palm weevil larvae (*Rhynchophorus phoenicis*) larvae) on the first plane of the principal component analysis.

adults of both sexes, the population reference intake (PRI) of protein is estimated to be 0.83 g protein/kg body weight per day (EFSA, 2012). For an adult of 75 kg it corresponds to a daily requirement intake of 62.25 g of protein. As the whole larvae are eaten, the consumption of 100 g of fresh palm weevil larvae, as raw or after processing (cooking), will thus represent 12.3 to 15.6% of this daily requirement intake. As the limit for the food label 'source of protein' is 5 g/100 g edible portion (EP) and 10 g/100 g EP for 'high in protein' (Nowak et al., 2016), palm weevil larvae can be considered as source of protein. The larvae contain however less proteins than fish (mackerel): 19.7 g/100 g FW; egg (chicken): 12.6 g/100 g FW; beef meat (15–20% fat, boneless, raw): 18.4 g/100 g FW; chicken (dark meat, flesh and skin, raw): 16.7 g/100 g FW (Charrondière et al., 2012). However, proteins of Rp larvae are good quality because of the presence of all indispensable amino acids in high quantities (Supplementary data Tables D and E). Total indispensable amino acid of yellow wild ( $5001 \pm 311$  mg/100 g FW) and white breeding ( $4858 \pm 64$  mg/100 g FW) *R. phoenicis* larvae were higher to the value  $4925 \pm 352$  mg/100 g FW obtained in our previous study (Fogang Mba et al., 2017). Compared to other sources of proteins, these values were by far lower than that of fish (8919 mg/100 g FW), chicken (8906 mg/100 g FW), beef (8280 mg/100 g FW) and WHO reference value for 55 kg woman consuming 46 g of protein (9062 mg/100 g FW) (FAO, 1970). However total indispensable amino acid content of Rp larvae ( $563 \pm 90$  to  $570 \pm 32$  mg/g protein) was higher than that of FAO reference protein (269 mg/g protein), indicating the good quality of proteins of palm weevil (*R. phoenicis*) larvae.

Energetic value of palm weevil larvae calculated from lipid and protein contents ranged from 802 kJ (192 kcal) /100 g FW to 1190 kJ

(284 kcal)/100 g FW (Table 4). These values were higher than energetic value of fish: 568 kJ/100 g FW (139 kcal/100 g); chicken egg: 578 kJ/100 g FW (139 kcal/100 g); and lower than that of beef meat (15–20% fat, boneless, raw): 978 kJ/100 g FW (235 kcal/100 g); and pork meat (20% fat, boneless, raw): 1100 kJ/100 g FW (265 kcal/100 g) (Charrondière et al., 2012). Overall results permit to conclude that *R. phoenicis* larvae, especially from the wild, are high sources of lipids and energy, source of proteins of good quality and can be used to address malnutrition and energy deficiency of people suffering from these deficiencies.

Pearson correlation coefficients showed that length, head capsule and weight were correlated ( $r = 0.774$  to  $0.843$ ;  $p < 0.05$ ) in *R. phoenicis* larvae (Table F, Supplementary data). Regarding the relationship between morphometric parameters and proximal nutrient components, only lipid content was correlated positively with length ( $r = 0.785$ ;  $p < 0.05$ ). Lipid content was positively correlated with energy content of insects ( $r = 0.998$ ;  $p < 0.01$ ), carotenoid content ( $r = 0.814$ ;  $p < 0.01$ ), n-6/n-3 ratio ( $r = 0.742$ ;  $p < 0.05$ ), oleic acid ( $r = 0.903$ ;  $p < 0.01$ ) and MUFA ( $r = 0.909$ ) and methionine content ( $r = 0.715$ ;  $p < 0.05$ ). It was negatively correlated with  $\beta$ -tocopherol content ( $r = -0.840$ ;  $p < 0.01$ ) and linoleic,  $\alpha$ -linolenic and PUFA contents ( $r = -0.685$ ,  $-0.736$  and  $-0.719$ , respectively;  $p < 0.05$ ). Protein content was positively correlated with proline content ( $r = 0.863$ ), total indispensable amino acids ( $r = 0.681$ ;  $p < 0.05$ ) and total amino acids ( $r = 0.631$ ;  $p < 0.05$ ) but not correlated to lipid and fatty acids (Table 6). Interestingly, linoleic and  $\alpha$ -linolenic acids were highly correlated ( $r = 0.891$ ,  $p < 0.01$ ). They also correlated with total PUFA ( $r = 0.988$  and  $0.950$ , respectively), itself

positively correlated with total tocopherols ( $r = 0.819$ ), but negatively correlated with carotenoids ( $r = -0.747$ ) and  $n - 6/n - 3$  ratio ( $r = -0.808$ ).

Regarding PCA map, the first and the second dimensions contained approximately 66% of the total variability of the system. Biplot representation of variables and batches of *R. phoenicis* larvae from the different groups permits to reveal some similarities and differences among them (Fig. 3). The three batches (batches 1, 2 & 3) of yellow wild larvae are gathered in the same area, away from main batches of the other groups of larvae. On the same way, batches of white wild larvae are also gathered in another area of the plane, with the batch 2 of white breeding larvae, separated from yellow wild larvae batches according dimension 2, while the two other batches of white breeding larvae are very close and well separated from other samples according to dimension 1 of the PCA.

The first dimension of the principal component analysis opposes morphometric variables (head capsule, width, length and weight) and nutrient variables such total fatty acids, MUFA, and oleic acid to total AA, NIAA, linoleic and alpha-linolenic acids and PUFA (Fig. 3). This axis permitted to distinguish batches 1 and 3 of Rp WB larvae from other larvae. Batch 2 of Rp WB larvae, gathered with the Rp WW larvae exhibited similar trends in lipid nutrients than Rp WW larvae (Table 3 and Table C Supplementary data). The second dimension of principal component analysis opposes variables such as  $n-6/n-3$  ratio, proteins, methionine, total amino acids, indispensable amino acids and several selected amino acids (Thr, Lys, Phe, His) and, more weekly, tryptophan, tyrosine, carotenoids and total lipids to variables such as moisture, saturated fatty acids, palmitic and stearic acids, tocopherols and, more weekly, PUFA, linoleic and alpha-linolenic acids (Fig. 3). These variables permit to distinguish white wild larvae, gathered with one batch of white breeding larvae, from yellow wild larvae; the 2 other batches of white breeding larvae (batches 1 and 3) being located just between. These observations were coherent with results obtained after one way analysis of variance and mean comparisons of data (Tables 2–5; Supplementary data).

As previously mentioned, part of the observed differences can probably be explained by the age of the larvae. White wild larvae were older (at least 30 days) than wild breeding larvae (25 days). Total lipids and fatty acid contents were higher in white wild larvae than in white breeding larvae which could be related to their greater morphometric parameters and age. In general, the morphometric and nutritional compositions of insect changes with their developmental stage (Ghosh et al., 2016; Lenga et al., 2012; Omotoso and Adedire, 2007).

A second possible reason is that environmental conditions of growing were most favorable better in the wild than in breeding system. Differences in environmental conditions of growing (temperature, feeding) might have thus participate to the observed differences. The influence of these parameters on growing rate and nutrient composition of the larvae will be evaluated in further work.

These results also showed that lipid content, fatty acid composition, tocopherol and carotenoids contents of palm weevil larvae depends on the larvae morphotype, which is heavily linked to the type of raffia palm on which they are growing. White larvae, either from the wild or from the breeding system were fed with the same raffia palm species (*Raphia hookeri*) while yellow *R. Phoenicis* larvae grew on *Raphia monbuttorum*. Differences may be due to the chemical composition of the raffia palms on which larvae grew, or to certain genetic or other environmental factors. It was previously shown that type of feed affects the fatty acid composition of edible insects (Cito et al., 2017; Ebenebe et al., 2017; Tzompa-Sosa et al., 2014). Fractionation of total lipids of yellow larvae and characterization of their lipid classes as previously performed on white type larvae (Fogang Mba et al., 2017) could evidence differences in lipid composition of these insects.

To our knowledge, our study reported with more details, nutritive value of palm weevil larvae from breeding system. Similarities and differences were observed between the different batches of breeding

larvae. Differences observed in weight, total lipids, crude proteins and energy contents of the different batches could indicate that breeding conditions (quality of substrate, temperature or humidity) were not perfectly controlled. They should be improved to obtain well-controlled morphometric parameters and nutritive values. However the fact that these larvae can be bred is a good indicator for their industrial potential for direct marketing or as derived products.

## 5. Conclusion

This study analysed the influence of growing conditions (white wild larvae grew of *Raphia hookeri*, yellow wild larvae grew on *Raphia monbuttorum*, and white breed larvae grew on *Raphia hookeri*) of African palm weevil (*Rhynchophorus phoenicis*) larvae on their morphometric parameters and lipid and protein nutrient compositions. Morphometric parameters were poorly correlated with nutrient components: only total lipid content of larvae was highly correlated with length. Besides, white larvae and yellow larvae were shown to present differences. At the same age, yellow larvae had longer length and were richer in lipids and carotene isomers than white wild larvae, but poorer in tocopherols. The yellow color of yellow larvae is due to their higher content in carotenoids. White breeding and white wild larvae had similar contents in these nutrient components. Breeding only influenced marginally proximate content of white *R. phoenicis* larvae (moisture, lipids and proteins). We suggest that more studies are needed to improve and control breeding conditions (quality of substrate, temperature or humidity) of palm weevil larvae, including their feeding, to obtain a standard nutrient composition for industrial scale application. Overall, this study provides new information to explain the variability of the nutrient composition of *R. phoenicis* larvae found in the literature. Data about their nutritive value, directly usable for food composition database are available from this work. All indispensable amino acids were present in the larvae in higher quantity than in the FAO reference protein. Palm weevil larvae are also high source of lipids and energy, their content in most lipid nutrients depending on the morphotype of larvae and growing condition.

## Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

## Funding

This work was supported in part by the SCAC (Service de Coopération et d'Action Culturelle) of the French Embassy of Yaoundé – Cameroon. [Code projet Prisme/Numéro Prisme: 0185 CMR B16 0011]

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.02.012>.

## References

- ANSES, 2015. AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'évaluation des apports en vitamines et minéraux issus de l'alimentation non enrichie, de l'alimentation enrichie et des compléments alimentaires dans la population française: estimation des apports usuels, des prévalences d'inadéquation et des risques de dépassement des limites de sécurité. Avis de l'Anses Saisine n°2012-SA-0142 33. pp. 1–46 (0).
- ANSES, 2016. Table Ciquel French food composition version 2016. Retrieved 12 June 2017 from <https://pro.anses.fr/tableciquel/>.
- AOAC, 1996. Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA.
- AOCS, 1998. American Oil Chemists' Society official method ce 8–89. Determination of tocopherols and tocotrienols in vegetable oils and fats by HPLC. Official Methods and Recommended Practices of the of the American Oil Chemists' Society, 5th ed. American Oil Chemists' Society, Champaign, Illinois, USA 5 pp.
- Atuahene, C.C., Adjei, M.B., Adu, M.A., Quaye, B., Opare, M.B., Benney, R., 2017.

- Evaluating the potential of edible insects (Palm Weevil- *Rhynchophorus Phoenicis* Larvae) as an alternative protein source for humans evaluating the potential of edible insects (Palm Weevil- *Rhynchophorus Phoenicis* Larvae) as an Alternative protein source for humans. *J. Anim. Sci. Adv.* 7, 1897–1901.
- Banjo, A.D., Lawal, O.A., Songonuga, E.A., 2006. The nutritional value of fourteen species of edible insects in southwestern Nigeria. *Afr. J. Biotechnol.* 5 (3), 298–301.
- Banjo, A.D., Aina, S.A., Salau, A.R., 2013. Shelf life and heavy metals study of two common edible insects in Ijebu Division, Southwestern, Nigeria. *J. Biol. Life Sci.* 4 (1), 18–23.
- Bodenheimer, F., 1951. *Insects as Human Food: A Chapter of the Ecology of Man*. Junk, The Hague.
- Bukkens, S.G.F., 1997. The nutritional value of edible insects. *Ecol. Food Nutr.* 36 (2–4), 287–319.
- Charrondière, U.R., Rittenschober, D., Nowak, V., Stadlmayr, B., 2012. *FAO/INFOODS Analytical Food Composition Database Version 1.0 – AnFood1.0*.
- Cito, A., Longo, S., Mazza, G., Dreassi, E., Francardi, V., 2017. Chemical evaluation of the *Rhynchophorus ferrugineus* larvae fed on different substrates as human food source. *Food Sci. Technol. Int.* 0 (0), 1–11.
- De Laage de Meux, R., 2017. Outils moléculaires de traçabilité pour l' élevage du charançon des palmiers en Afrique tropicale.
- Dounias, E., 2003. L'exploitation méconnue d'une source connue: la collecte des larves comestibles de charançons dans les palmiers raphia au Sud du Cameroun. In: Motte-Floraie, E., Thomas, J.M.C. (Eds.), *Les Insectes dans la tradition orale*. Etnosciences, Leuven- Paris- Dudley, MA, pp. 259–278.
- Dufour, P.A., 1981. *Insects: A Nutritional Alternative*. Department of Medical and Public Affairs. The George Washington University Medical Center, Washington, D.C Technical Report NASA-CR-169056.
- EFSA, 2012. Scientific opinion on dietary reference values for protein. EFSA panel on dietetic products, nutrition and allergies (NDA). *EFSA J.* 10, 1–66.
- Ebenebe, C.I., Okpoko, V.O., Ufele, A.N., Amobi, M.I., 2017. Survivability: growth performance and nutrient composition of the African Palm Weevil (*Rhynchophorus phoenicis* Fabricius) reared on Four different substrates. *J. Biosci. Biotechnol. Discov.* 2, 1–9.
- Edijala, J.K., Egbogbo, O., Anigboro, A.A., 2009. Proximate composition and cholesterol concentrations of *Rhynchophorus phoenicis* and *Oryctes monoceros* larvae subjected to different heat treatments. *Afr. J. Biotechnol.* 8 (10), 2346–2348.
- Ekpo, K.E., Onigbinde, A.O., 2005. Nutritional potentials of the larva of *Rhynchophorus phoenicis* (F). *Pak. J. Nutr.* 4 (5), 287–290.
- Ekpo, K.E., Onigbinde, A.O., Asia, I.O., 2009. Pharmaceutical potentials of the oils of some popular insects consumed in southern Nigeria. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* 3 (2), 51–57.
- Elemo, B.O., Elemo, G.N., Makinde, M.A., Erukainure, O.L., 2011. Chemical evaluation of African palm weevil, *Rhynchophorus phoenicis*, larvae as a food source. *J. Insect Sci.* 11 (146), 1–6.
- FAO – FIDA – WFP, 2015. *L'état de l'insécurité alimentaire dans le monde 2015. Objectifs internationaux 2015 de réduction de la faim: des progrès inégaux*. FAO, Rome. Retrieved June 28, 2017 from: <http://doi.org/10.1024/1012-5302.16.6.384>.
- FAO, 1970. *Amino-Acid Content of Foods and Biological Data on Proteins*. FAO, Rome. Retrieved July 12, 2017 from: <http://www.fao.org/docrep/005/AC854T/AC854T00.htm#TOC1>.
- FAO, 2009. *How to feed the world in 2050*. In: *Proceedings of the Expert Meeting on How to Feed the World in 2050. 24–26 June 2009*. FAO Headquarters, Rome. Retrieved June 05, 2017 from: 1–35. <http://doi.org/10.1111/j.1728-4457.2009.00312.x>.
- Fogang Mba, A.R., Kansci, G., Viau, M., Hafnaoui, N., Meynier, A., Demmano, G., Genot, C., 2017. Lipid and amino acid profiles support the potential of *Rhynchophorus phoenicis* larvae for human nutrition. *J. Food Compos. Anal.* 60, 64–73.
- Folch, J., Lees, M., Stanley, G.H.S., Sloane Stanley, G., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226 (1), 497–509.
- Ghosh, S., Jung, C., Meyer-rochow, V.B., 2016. Nutritional value and chemical composition of larvae, pupae, and adults of worker honey bee, *Apis mellifera ligustica* as a sustainable food source. *J. Asia-Pac. Entomol.* 19 (2), 487–495.
- Idolo, I., 2010. Nutritional and quality attributes of wheat buns enriched with the larvae of *Rhynchophorus phoenicis* F. *Pak. J. Nutr.* 9 (11), 1043–1046.
- Janssen, R.H., Vincken, J.-P., van den Broek, L.A.M., Fogliano, V., Catriona, M.M., Lakemond, C.M.M., 2017. Nitrogen-to-protein conversion factors for three edible insects: *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, and *Hermetia illucens*. *J. Agric. Food Chem.* 65 (11), 2275–2278.
- Jonas-Levi, A., Itzhak Martinez, J.J., 2017. The high level of protein content reported in insects for food and feed is overestimated. *J. Food Compos. Anal.* 62, 184–188.
- Kabri, T.H., Meynier, A., Bontemps, D., Gaillard, C., Foucat, L., Linder, M., Genot, C., 2013. Formulation of sub-micron emulsions containing docosahexaenoic acid esterified in triacylglycerols or phospholipids. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 115 (11), 1294–1308.
- Kokondi, K., Leclercq, M., Bourgeay-Causse, M., Pascaud, A., Gaudin-Harding, F., 1987. Intérêt nutritionnel de chenilles d'attacides du Zaïre: composition et valeur nutritionnelle. *Cahier de Nutrition et de Diététique* 22 (6), 473–477.
- Lenga, A., Mafute, C., Kinkela, T., 2012. Conservation et étude de la valeur nutritive des larves de *Rhynchophorus phoenicis* (Curculionidae) et *Oryctes rhinoceros* (Scarabaeidae), deux coléoptères d'intérêt alimentaire au Congo-Brazzaville, 6 (August). pp. 1718–1728.
- Meutchieye, F., Tsafu, K.E.C., Niassy, S., 2016. Inventory of edible insects and their harvesting methods in the Cameroon centre region. *J. Insects Food Feed* 2 (3), 145–152.
- Meyer-rochow, V.B., 1975. Can insects help to ease the problem of world food shortage? *ANZAAS Conf.* 6 (7), 261–262.
- Meynier, A., Genot, C., Gandemer, G., 1999. Oxidation of muscle phospholipids in relation to their fatty acid composition with emphasis on volatile compounds. *J. Sci. Food Agric.* 79, 797–804.
- Monzenga Lokela, J.C., Le Goff, J.G., Kayisu, K., Hance, T., 2017. Influence of substrates on the rearing success of *Rhynchophorus phoenicis* (Fabricius). *Afr. J. Food Sci. Technol.* 8 (1), 7–13.
- Morrison, W.R., Smith, L.M., 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethyl acetals from lipids with boron trifluoride methanol. *J. Lipid Res.* 5 (13), 600–608.
- Muafor, J.F., Ayemele Kenfack Gnetegha, A., Levang, P., 2016. Promoting the farming of edible larvae of palm weevils (*Rhynchophorus* spp.) as an alternative to sustain rural livelihoods and community based conservation in Cameroon humid forest regions. Final Project Report. CIFOR-LIFT-IRD. Retrieved August 22, 2017 from: <http://212.129.17.143/wp-content/uploads/2016/09/INSECT-FARMING-PROJECT-REPORT.pdf>.
- Nowak, V., Persijn, D., Rittenschober, D., Charrondiere, U.R., 2016. Review of food composition data for edible insects. *Food Chem.* 193, 39–46.
- Ogbalu, O.K., Williams, J.O., 2015. The edibility, methods of preparation of the Raphia Palm Beetle, *Rhynchophorus Phoenicis* (Coleoptera: Curculionidae) in the Niger Delta and associated microorganisms. *IOSR-J. Pharm. Biol. Sci.* 10 (1), 125–129.
- Ogbuaga, M.N., Ohondo, I., Nwigwe, C., 2011. Fatty acid and amino acid profiles of the larva of *Raffia Palm Weevil: Rhynchophorus phoenicis*. *Pac. J. Sci. Technol.* 12 (2), 392–400.
- Okaraonye, C.C., Ikwuchi, J.C., 2008. *Rhynchophorus phoenicis* (F) larva meal: nutritional value and health implications. *J. Biol. Sci.* 8 (7), 1221–1225.
- Omotoso, O.T., Adedire, C.O., 2007. Nutrient composition, mineral content and the solubility of the proteins of palm weevil, *Rhynchophorus phoenicis* f. (Coleoptera: Curculionidae). *J. Zhejiang Univ. Sci. B* 8 (5), 318–322.
- Onyeike, E.N., Ayalogo, E.O., Okaraonye, C.C., 2005. Nutritive value of the larvae of raphia palm beetle (*Oryctes rhinoceros*) and weevil. *J. Sci. Food Agric.* 85, 1822–1828. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2054>.
- Payne, C.L., Scarborough, P., Rayner, M., Nonaka, K., 2015. A systematic review of nutrient composition data available for twelve commercially available edible insects, and comparison with reference values. *Trends Food Sci. Technol.* 47, 69–77.
- Ramos-elorduy, J., Pino Moreno, J.M., Prado, E.E., Perez, M.A., Otero, J.L., de Guevara, O.L., 1997. Nutritional value of edible insects from the State of Oaxaca, Mexico. *J. Food Compos. Anal.* 10, 142–157.
- Rumpold, B.A., Schlüter, O.K., 2013. Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Mol. Nutr. Food Res.* 57 (5), 802–823.
- Simopoulos, A.P., 2008. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp. Biol. Med.* 233 (6), 674–688.
- Tamesse, J.L., Kekeunou, S., Tchatchouang, L.J., Ndegue, O.L.M., Aissatou, L.M., Tombouck, D., Youssa, B., 2016. Insects as food, traditional medicine and cultural rites in the west and south regions of Cameroon. *J. Insects Food Feed* 2 (3), 153–160.
- Tanyi Tambe, J., Riolo, P., Okolle, J.N., Isidoro, N., Fanciulli, P.P., Dallari, R., 2013. Sexual size differences and colour polymorphism of *Rhynchophorus phoenicis* in the southwest region of Cameroon. *Bull. Insectol.* 66 (1), 153–159.
- Tzompa-Sosa, D.A., Yi, L., van Valenberg, H.J.F., van Boekel, M.A.J.S., Lakemond, C.M.M., 2014. Insect lipid profile: aqueous versus organic solvent-based extraction methods. *Food Res. Int.* 62, 1087–1094.
- United Nations, 2015. *World Population Prospects: the 2015 revision*. Key findings & advance tables. Working Paper No. ESA/P/WP. 241. New York, United States of America.
- Van Huis, A., Itterbeeck, J., Van Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G., Vantomme, P., 2013a. *Edible insects. Future prospects for food and feed security*. FAO Forestry Paper, 171. pp. 1–187. Retrieved, June 22, 2017 from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18330140>.
- Van Huis, A., Van Itterbeeck, J., Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G., Vantomme, P., 2013b. *Nutritional values of insects for human consumption. Edible Insects: Future Prospects for Food and Feed Scarcity*. pp. 67–80.
- Viau, M., Genot, C., Ribourg, L., Meynier, A., 2016. Amounts of the reactive aldehydes, malonaldehyde, 4-hydroxy-2-hexenal: and 4-hydroxy-2-nonenal in fresh and oxidized edible oils do not necessarily reflect their peroxide and anisidine values. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 118, 435–444.
- WHO/FAO/UNU, 2007. *Protein and amino acid requirements in human nutrition*. World Health Organization Technical Report Series. Retrieved March 21, 2017 from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18330140>.
- Wattanapongsiri, A., 1966. *A revision of the genera Rhynchophorus and dynamis (Coleoptera: curculionidae)*. PhD Thesis. Oregon State University, USA.
- Womeni, H.M., Tiencheu, B., Linder, M., Nabayo, M.C., Tenyang, N., Tchouanguep, M.F., Villeneuve, P., Fanni, J., Parmentier, M., 2009. Oils of insects and larvae consumed in Africa: potential sources of polyunsaturated fatty acids. *OCL – Oleagineux Corps Gras Lipides* 16 (4), 230–235.
- Womeni, H.M., Tiencheu, B., Linder, M., Nabayo, M.C., Tenyang, N., Tchouanguep, F., et al., 2012. Nutritional value and effect of cooking, drying and storage process on some functional properties of *Rhynchophorus Phoenicis*. *Int. J. Life Sci. Pharma Res.* 2 (3), 203–219.