

POUDRE DE COLEOPTERES ET PROCEDE D'ELEVAGE DES COLEOPTERES
COMPRENANT UN TRAITEMENT ULTRAVIOLET POUR LA PREPARATION D'UNE
TELLE POUDRE

5 Domaine technique et art antérieur

La présente invention concerne le domaine de l'alimentation.

Un des objets de la présente invention concerne plus particulièrement la composition d'une poudre alimentaire riche en vitamine D3 et réalisée à partir d'insectes et notamment de coléoptères.

10 Un des autres objets de la présente invention vise également un procédé d'élevage des coléoptères pour la préparation d'une telle composition et son utilisation dans l'alimentation humaine ou animale.

La présente invention trouvera ainsi de nombreuses applications notamment dans l'industrie alimentaire, et notamment pour l'alimentation humaine, l'alimentation de reptiles ou
15 encore la pisciculture.

Aujourd'hui, on recense plus de deux milles espèces d'insectes comestibles dans le monde (d'après une source de la FAO).

L'utilisation d'insectes comestibles en tant que source nutritive pour l'alimentation
20 humaine ou animale représente un potentiel non-exploité qui est de plus en plus reconnu, notamment en Europe.

Des études ont montré que certaines espèces d'insectes allient des propriétés nutritionnelles très intéressantes aussi bien sur le plan qualitatif que quantitatif.

On sait par ailleurs que la production d'aliments à base d'insectes a un impact réduit sur
25 l'environnement (voir notamment les publications *Belluco et al., 2013*, *Oonincx et al., 2010* ou encore *Van Huis et al., 2013*).

Des études sur le pouvoir nutritionnel de certaines espèces de coléoptères ont été approfondies ces dernières années.

Chez les espèces *Tenebrio molitor* ou *Alphitobius diaperinus*, ce sont les stades larvaires
30 et le stade nymphal qui sont les plus intéressants d'un point de vue nutritionnel.

Ces études montrent en effet que les larves et les nymphes de ces deux espèces contiennent une grande diversité de nutriments d'intérêts parmi lesquels des protéines (entre 50 et 66% du poids sec), des acides gras essentiels comme les oméga 3 dont des ALA, des vitamines ou encore des minéraux.

Parmi les nutriments d'intérêts présents chez ces coléoptères, on retrouve plus particulièrement la vitamine D3 (ou cholécalférol) qui est une forme de la vitamine D.

La vitamine D3 a des propriétés importantes.

- 5 Chez l'espèce humaine, la vitamine D3 participe au maintien des niveaux sanguins normaux de calcium et de phosphore absorbés par l'intestin.

La vitamine D3 joue donc un rôle essentiel dans le maintien des muscles squelettiques et des os. Elle est utilisée en complément du calcium pour prévenir l'ostéoporose chez les personnes âgées.

- 10 On sait aujourd'hui qu'environ 80% des personnes souffrent d'un déficit en vitamine D3.

Les besoins journaliers en vitamine D3 sont de 5 µg pour les enfants à partir de 4 ans jusqu'à l'âge adulte mais grimpe à 10 µg chez les enfants de moins de 3 ans, les femmes enceintes et les personnes âgées.

- 15 Chez les reptiles, la vitamine D3 permet notamment une assimilation optimale du calcium et la minéralisation des os.

Classiquement, les sources alimentaires contenant de la vitamine D3 proviennent essentiellement des poissons à travers notamment les huiles, le filet ou les foies de poisson.

- 20 Les poissons sont cependant une ressource en déclin, qui devient donc de plus en plus chère.

Pour ces raisons, il devient nécessaire de trouver des sources alternatives de vitamine D3 qui s'inscrivent dans une démarche durable et raisonnée.

- 25 Cette vitamine D3 dont les propriétés nutritionnelles sont décisives fait donc partie des vitamines liposolubles qu'on peut trouver chez certaines espèces de coléoptères comme les *Tenebrio molitor* et les *Alphitobius diaperinus*.

On sait déjà réaliser des poudres alimentaires à base de ces coléoptères.

- 30 L'étude « Klasing et al » (1999) montre que, chez les larves de *Tenebrio molitor*, la prise d'une alimentation sèche contenant 675 UI de vitamine D3 pour 1000 grammes de nourriture pendant 15 jours induisait une concentration en vitamine D3 de 139 UI.

Actuellement, le seul moyen connu d'augmenter le taux de vitamine D3 est donc d'ajouter dans l'alimentation de ces espèces une supplémentation en vitamine D3 sous forme de poudre.

Le Demandeur soumet que les concentrations en vitamine D3 pour 100 grammes de matière vivante ou sèche chez *Tenebrio molitor* ou *Alphitobius diaperinus* nourris avec une supplémentation en vitamine D3 sous forme de poudre reste cependant faible si on souhaite utiliser ces espèces comme complément alimentaire pour la vitamine D3 en nutrition humaine ou animale.

De telles poudres obtenues avec une supplémentation en vitamine D3 lors de l'élevage des coléoptères ne sont donc pas économiquement et nutritionnellement satisfaisantes.

Résumé et objet de la présente invention

La présente invention vise à améliorer la situation actuelle décrite ci-dessus.

La présente invention vise plus particulièrement à remédier aux différents inconvénients mentionnés ci-dessus en proposant une solution pour augmenter significativement le taux de vitamine D3 chez le *Tenebrio molitor* ou *Alphitobius diaperinus* vivant et/ou dans la poudre obtenue après transformation sans passer par l'ajout croissant de vitamine D3 dans l'alimentation des insectes pendant le stade larvaire.

L'objet de la présente invention concerne selon un premier aspect une poudre de coléoptères comportant un pourcentage en poids de vitamine D3 supérieur ou égal à au moins 0.00001 %, le pourcentage en poids étant donné ici sur le poids total de poudre de coléoptères.

On comprendra que la composition de cette poudre comporte ainsi, pour 100 grammes de poudre de coléoptères, au minimum 10 µgramme de vitamine D3 et 0.1 gramme de calcium.

De telles teneurs en vitamine D3 sont très intéressantes et permettent d'avoir une poudre riche en vitamine D3 notamment pour satisfaire les besoins journaliers chez l'homme.

De préférence, la poudre de coléoptères selon la présente invention comportant un pourcentage en poids de vitamine D3 supérieur ou égal à au moins 0.000015 %, préférentiellement supérieur ou égal à au moins 0.000025 %. Avantageusement, la poudre de coléoptères selon la présente invention comporte un pourcentage en poids de calcium supérieur ou égal à au moins 0.1 %, le pourcentage en poids étant donné sur le poids total de poudre de coléoptères.

Avantageusement, la poudre selon la présente invention comporte un pourcentage en poids de matières grasses compris entre 5% et 40%, le pourcentage en poids étant donné sur le poids total de poudre de coléoptères.

Avantageusement, la poudre selon la présente invention présente une activité en eau inférieure à 0.7.

L'activité en eau représente classiquement la pression de vapeur d'eau d'un produit humide divisée par la pression de vapeur saturante à la même température. Ce paramètre traduit les interactions de l'eau avec la matrice de l'aliment. Cette activité de l'eau est ainsi considérée comme l'un des principaux paramètres influençant la conservation des aliments et des produits pharmaceutiques.

On notera ici qu'une telle valeur inférieure à 0.7 permet ainsi une bonne conservation de la poudre.

L'objet de la présente invention concerne selon un deuxième aspect un procédé d'élevage de coléoptères pour la préparation d'une poudre de coléoptères telle que celle décrite ci-dessus.

Selon la présente invention, le procédé comporte une phase de traitement lumineux au cours de laquelle une source d'ultraviolets (ou source UV) émet des rayons ultraviolets en direction des larves de coléoptères.

Ce traitement lumineux lors de l'élevage des coléoptères permet, après transformation, d'obtenir une poudre de coléoptères riche en vitamine D3.

De préférence, la source UV est maintenue en position au-dessus des larves de coléoptères.

Dans une mode de réalisation particulier de la présente invention, la phase de traitement lumineux est appliquée pendant le stade larvaire et/ou le stade nymphal des coléoptères.

L'expression « stade larvaire » regroupe l'ensemble des stades avant le stade nymphal.

L'expression « stade nymphal » correspond quant à elle à la phase intermédiaire entre le dernier stade larvaire et le stade adulte.

Avantageusement, la phase de traitement lumineux débute entre la sixième semaine et la douzième semaine de croissance des larves, de préférence entre la neuvième et la onzième semaine.

Débuter la phase de traitement pendant cette période a montré des rendements intéressants.

Avantageusement, la phase de traitement lumineux présente une durée de traitement comprise entre une et six semaines, de préférence entre deux et quatre semaines.

Avantageusement, les rayons ultraviolets émis par la source UV en direction des larves de coléoptères sont :

- du type UVB et consistent en des rayonnements électromagnétiques dont la longueur d'onde est comprise entre 280 nm et 320 nm, et/ou

- du type UVA et consistent en des rayonnements électromagnétiques dont la longueur d'onde est comprise entre 320 nm et 400 nm.

On notera ici que l'émission de lumière dans le visible n'a aucune incidence sur la synthèse de la vitamine D3.

- 5 Dans une mode de réalisation particulier de la présente invention qui peut être combiné avec l'un des précédents modes ci-dessus, la source UV est positionnée, pendant la phase de traitement lumineux, à une distance déterminée des larves de coléoptères comprise de l'ordre 2 à 250 cm, de préférence entre 10 et 100 cm, préférentiellement entre 15 et 50 cm.

- 10 Cette distance est pertinente et permet avantageusement de limiter l'impact sur les larves de l'apport en chaleur inhérent à la source d'UV.

Dans un mode de réalisation particulier de la présente invention qui peut être combiné avec l'un des précédents modes ci-dessus, la source UV présente une puissance de rayonnement comprise entre 13 et 125 Watts, de préférence entre 20 et 50 Watts.

- 15 Cette puissance est pertinente et permet avantageusement de limiter l'impact sur les larves de l'apport en chaleur inhérent à la source d'UV.

- 20 Dans un mode de réalisation particulier de la présente invention qui peut être combiné avec l'un des précédents modes ci-dessus, la source UV émet, pendant la phase de traitement lumineux, les rayons ultraviolets en direction des larves de coléoptères selon des plages de traitement comprises entre dix heures et vingt-quatre heures en continue ou en cumulée sur une période de vingt-quatre heures.

Ces plages de traitement induisent une synthèse plus importante de vitamine D3. Les larves sont maintenues dans l'obscurité totale lorsque le traitement UV est absent.

Ceci représente un bon rendement dans la synthèse de vitamine D3.

- 25 Dans un mode de réalisation particulier de la présente invention qui peut être combiné avec l'un des précédents modes ci-dessus, les larves de coléoptères sont maintenues dans un environnement présentant une température sensiblement constante comprise entre 24 et 30°C, de préférence entre 26 et 28°C. Cette plage de température de l'environnement permet l'ajout d'une source UV sans que la chaleur additionnelle de cette source UV n'impacte la survie des larves de coléoptères.

- 30 Dans un mode de réalisation particulier de la présente invention qui peut être combiné avec l'un des précédents modes ci-dessus, les larves de coléoptères sont maintenues dans un environnement présentant une hygrométrie sensiblement constante comprise entre 45 et 70 % d'humidité relative, de préférence entre 55 et 65 %.

Avantageusement, le procédé selon la présente invention comporte, préalablement au début de la phase de traitement lumineux, une phase initiale dite d'obscurité au cours de laquelle, après éclosion des larves de coléoptères, les larves sont maintenues dans l'obscurité entre douze et vingt-deux heures par jour, de préférence entre dix-huit et vingt heures par jour.

5 Avantageusement, on contrôle la température et/ou l'hygrométrie de l'environnement des larves de coléoptères de manière à ce que, entre les phases d'obscurité et de traitement lumineux, la différence de températures est inférieure ou égale à 2 °C et/ou la différence d'hygrométries est inférieure ou égale à 10 % d'humidité relative.

10 Cette gestion contrôlée des paramètres ambiants permet d'obtenir un meilleur rendement dans la synthèse de la vitamine D3.

De préférence, les larves de coléoptères sont nourries avec un régime alimentaire à base de végétaux et/ou de légumes.

De préférence, les coléoptères sont sélectionnés parmi les espèces suivantes : *Tenebrio molitor*, *Alphitobus diaperinus*.

15

L'objet de la présente invention concerne selon un troisième aspect une utilisation de la poudre de coléoptères telle que celle décrite ci-dessus dans l'alimentation humaine ou animale.

De préférence, une telle poudre est utilisée en tant que complément alimentaire par exemple.

20 D'autres utilisations avantageuses pourront être envisagées comme par exemple l'alimentation des reptiles ou celle des poissons.

Par les différentes caractéristiques techniques ci-dessus, et notamment un traitement lumineux à base d'ultraviolets chez les larves de coléoptères, la présente invention permet
25 d'obtenir une poudre de coléoptères contenant un pourcentage en vitamine D3 supérieure à 0.00001% (400 UI) et au moins 0.1% de calcium, les pourcentages étant donnés sur 100 grammes de poudre de coléoptères, soit 10 µgramme de vitamine D3 pour 100 grammes de poudre et 0.1 gramme de calcium pour 100 grammes de poudres.

30 Description détaillée portant sur différents exemples

Les exemples qui suivent sont fournis à titre de simple illustration de l'invention vis-à-vis de laquelle ils ne présentent aucun caractère limitatif.

Le procédé d'élevage qui va être décrit ici vise à mettre au point une technique pour augmenter significativement le taux de vitamine D3 chez le *Tenebrio molitor* ou *Alphitobius*

diaperinus vivant et/ou dans la poudre obtenue associée après transformation sans passer par l'ajout croissant de vitamine D3 dans l'alimentation des insectes pendant le stade larvaire comme il est connu de le faire dans les techniques existantes.

Par souci de clarté et de concision, on entend par coléoptères dans la suite de la description les espèces suivantes : *Tenebrio molitor* et/ou *Alphitobius diaperinus*.

On sait qu'il est possible de faire varier les quantités des nutriments présents chez les coléoptères selon le stade pendant la croissance, le type d'alimentation, le mode de transformation et la qualité du conditionnement et du stockage.

Le concept sous-jacent à la présente invention est donc d'utiliser un traitement UV sur les coléoptères pour augmenter la teneur en vitamine D3, ceci sans supplémentation de vitamines D3 dans l'alimentation.

Le procédé d'élevage comprend ainsi plusieurs phases qui vont être décrites ici dans la suite de la description.

15 - Phase initiale :

La formulation et les quantités de nourriture pour les larves de coléoptères sont contrôlées dès l'éclosion pour éviter tout biais dans les expérimentations.

Après éclosion, les larves sont maintenues dans des bacs plastiques à une température comprise entre 24 et 30°C, plus préférentiellement entre 26 et 28°C et une hygrométrie comprise entre 45 et 70% d'humidité relative, plus préférentiellement entre 55 et 65% d'humidité relative.

Avant la phase de traitement lumineux qui va suivre cette phase, les larves sont maintenues dans l'obscurité entre 12 et 22 heures par jour, plus préférentiellement entre 18 et 20h par jour.

25 Dans chaque bac, la densité de larves est optimisée pour obtenir un taux de mortalité proche de 0 sur le cycle de croissance compris entre 10 et 16 semaines, plus préférentiellement entre 11 et 13 semaines.

La nourriture fournie aux larves est 100 % végétal.

Les quantités de nourriture sont adaptées aux nombres de larves et à leur stade de développement.

30 Dans l'exemple décrit ici, on prévoit à partir de la sixième semaine de croissance de donner aux larves des légumes préalablement nettoyées dans des quantités adaptées aux nombres de larves et à leur stade de développement.

- Phase de traitement lumineux ou traitement UV :

Dans les différents tests menés, on procède lors de cette phase à un traitement lumineux au cours duquel une source UV émet en direction des coléoptères des UVA et/ou des UVB.

Les différents tests montrent que l'intensité du traitement ultraviolet va directement
5 impacter la concentration en vitamine D3 au sein des larves.

Cette intensité en vitamine D3 va dépendre de plusieurs facteurs : la distance de la source UV, la puissance de la source UV, la fréquence du traitement, la durée du traitement et la période du traitement.

La distance de la source d'ultraviolet par rapport aux larves doit être placée entre 15 et
10 50 cm. Cette distance permettant de limiter l'impact sur les larves de l'apport en chaleur inhérent à la source d'UV.

La puissance de la source d'ultraviolet doit être comprise entre 20 et 50 Watts. Cette puissance permettant de limiter l'impact sur les larves de l'apport en chaleur inhérent à la source d'UV.

15 Sur une journée de traitement comportant 24 heures, la fréquence du traitement comprend des plages de traitement UV comprises entre 10h et 24h en continues ou cumulées sur les 24h. Ces plages de traitement induisent une synthèse plus importante de vitamine D3. Les larves sont maintenues dans l'obscurité totale lorsque le traitement UV est absent.

La durée du traitement est comprise entre 1 et 6 semaines, plus préférentiellement entre
20 2 et 4 semaines. Ces durées permettent d'obtenir des teneurs en vitamine D3 pertinentes pour l'utilisation de la poudre comme complément alimentaire.

Le traitement peut débuter entre la 6ème et la 12ème semaine de croissance des larves, plus préférentiellement entre la 9ème et 11ème semaine. Cette période correspond à des tailles de larves optimales.

25 Le spectre d'émission de la source d'ultraviolets comprend des rayonnements électromagnétiques avec des longueurs d'ondes entre 280 et 400 nm.

De préférence, la température et l'humidité relative pour chacune des phases ont été contrôlées afin qu'il n'y ait pas plus de 2°C et 10% HR de différence notamment entre les
30 traitements avec et sans lampes (phase initiale et phase de traitement UV).

Les larves sont ensuite transformées comme décrit dans le paragraphe suivant.

- Phase de transformation :

Entre la 6ème et la 14ème semaine de croissance, plus préférentiellement entre la 10ème et la 13ème semaine de croissance, les larves sont tamisées pour éliminer les excréments.

Les larves tamisées sont ensuite placées dans un bac plastique pour un jeun de 24 à 48 heures.

Après le jeun, les larves sont de nouveau tamisées pour enlever les excréments.

Les larves sont placées dans de l'eau entre 85°C et 100°C pour l'abattage pendant 1 à 4 minutes.

Lors de cette transformation, on prévoit en outre, juste avant l'abattage, une étape d'étourdissement entre 0 et 4°C pendant plusieurs minutes.

Après l'abattage, les larves sont placées à une température comprise entre 50 et 150°C pour une durée comprise entre 1h20 et 24h en fonction de la température utilisée. Les larves obtenues contiennent entre 2 et 15% d'eau, plus préférentiellement entre 3 et 8% d'eau et une activité de l'eau inférieure à 0.7

La réduction en poudre est ensuite obtenue par broyage.

Le terme poudre regroupe ici toute réduction en élément inférieur à 3 mm des insectes entiers dans leur stade larvaire ou nymphal ou seulement d'une partie morphologique de ces insectes.

- Tests et résultats :

Pour mettre en évidence l'influence des UVA et UVB sur la concentration en vitamine D3 chez les larves de coléoptères, plusieurs tests ont été réalisés sur des larves âgées de 6 à 12 semaines et plus préférentiellement âgées de 9 à 11 semaines :

➤ Test « UV+ / D3+ » :

Un bac contenant 500 g de larves a été placé sous une lampe fluorescente UVA-UVB à 30 cm au-dessus du bac. Les larves ont été nourries depuis leur éclosion avec une alimentation supplémentée en vitamine D3 (2500 UI / 1000g).

➤ Test « UV+ / D3- » :

Un bac contenant 500 g de larves a été placé sous une lampe fluorescente UVA-UVB à 30 cm au-dessus du bac. Les larves ont été nourries depuis leur éclosion avec une alimentation dépourvue de vitamine D3.

➤ Test « UV- / D3+ » :

Un bac contenant 500 g de larves a été placé sous une lampe halogène de lumière visible (« Warm white », 2700K) à 30 cm au-dessus du bac ne contenant pas d'émission UV. Les larves ont été nourries depuis leur éclosion avec une alimentation supplémentée en vitamine D3 (2500 UI / 1000g).

Par lumière visible, on entend des rayonnements électromagnétiques dont la longueur d'onde est comprise entre 400nm et 700nm.

- Test « Ctrl Dark » :

Un bac contenant 500 g a été placé à l'obscurité 24h/24h pendant une période similaire à celle des tests de traitement lumineux.

Les résultats de ces tests sont annexés à la présente description et montrent la teneur en vitamine D3.

Les analyses de quantification de la vitamine D3 ont été réalisées par un laboratoire indépendant certifié Cofrac. La quantification est réalisée par HPLC semi-préparative suivie d'une HPLC en phase inverse avec détecteur UV/DAD (265 nm).

Ces résultats mettent en évidence l'influence de l'UVB sur la concentration en vitamine D3.

Dans les tests « UV+ / D3+ » et « UV+ / D3- » réalisés ici, il est montré qu'un traitement lumineux à base d'UV permet de multiplier le taux de vitamine D3 jusqu'à 13.

On notera qu'une supplémentation en vitamine D3 pendant le traitement améliore les rendements. En revanche, sans supplémentation, la teneur en vitamine D3 est multiplié par 5, ce qui est très satisfaisant en termes de performance.

Les analyses démontrent que la concentration passe en effet de 2µg/100g à 26 µg/100g sous l'effet d'un traitement UV pendant le stade larvaire.

En revanche, un traitement lumineux à partir de lumière du spectre visible (400-700 nm) n'induit pas d'augmentation du taux de vitamine D3 chez les larves.

Les UV déclenchent donc la synthèse de vitamine D3 même en absence de supplémentation dans l'alimentation.

La présente invention porte donc notamment sur le procédé d'élevage de coléoptères pour la préparation d'une poudre de coléoptères ainsi que la poudre obtenue à partir des coléoptères élevés selon le procédé d'élevage tel que décrit ci-dessus.

Il devra être observé que cette description détaillée porte sur un exemple de réalisation particulier de la présente invention, mais qu'en aucun cas cette description ne revêt un quelconque caractère limitatif à l'objet de l'invention ; bien au contraire, elle a pour objectif d'ôter toute éventuelle imprécision ou toute mauvaise interprétation des revendications qui
5 suivent.

Il devra également être observé que les signes de références mis entre parenthèses dans les revendications qui suivent ne présentent en aucun cas un caractère limitatif ; ces signes ont pour seul but d'améliorer l'intelligibilité et la compréhension des revendications qui suivent ainsi que la portée de la protection recherchée.

Annexe

Test	Concentration en vitamine D3 (µg/100g)
UV+ / D3+	10
UV+ / D3-	26
UV- / D3+	1.66
Ctrl Dark	2