

**DETERMINATION QUANTITATIVE NON DESTRUCTRICE D'AU MOINS UN INDICATEUR
DE PERFORMANCE D'UN ELEVAGE D'UNE POPULATION D'INSECTES VIVANTS
DANS UN MILIEU COMPLEXE**

5 ETAT DE LA TECHNIQUE

La présente invention appartient au domaine de l'analyse, et plus particulièrement, elle concerne un procédé non destructif permettant de déterminer une valeur quantitative d'au moins un indicateur de performance.

10

L'élevage d'insectes connaît un essor important ces dernières années. L'élevage d'insectes présente de nombreux intérêts, que ce soit pour l'agro-industrie, les insectes constituant une source intéressante de protéines, ou pour d'autres domaines industriels, les insectes étant également une source de chitine, transformable en chitosan par désacétylation, dont les applications sont nombreuses comme par exemple en cosmétique, dans le domaine médical et pharmaceutique, en diététique et en alimentaire, ou encore pour le traitement de l'eau.

15

20

Il est donc nécessaire de mettre en place des modèles industriels adaptés aux insectes, permettant de pouvoir suivre de façon automatisée leur élevage, afin de maintenir des conditions de croissance optimales.

Ce suivi est possible grâce à la quantification d'indicateurs de performance (ou, en anglais, « *Key Performance indicators* » ou « KPIs »).

25

Par « indicateur de performance » (ou, en anglais, « *Key Performance indicator* » ou « KPI ») on entend, de préférence, une information destinée à être chiffrée qui permet de mesurer et d'évaluer les résultats d'une ou plusieurs actions, de suivre l'évolution d'une performance et/ou d'analyser une situation.

30

Les méthodes actuellement employées sont manuelles et fastidieuses (tri et comptage des populations d'insectes, inspection visuelle des bacs d'élevages) et incompatibles avec un élevage à taille industrielle. En outre, ces méthodes manquent de précision et peuvent parfois endommager les insectes en pleine croissance, notamment lors de la manipulation de ces derniers.

35

Il existe donc un besoin d'automatiser le suivi de croissance d'une population d'insectes vivants et le suivi des équipements de tri et de nourrissage d'une population d'insectes vivants.

40

La présente invention pallie à ces problèmes techniques et concerne un procédé non destructif de détermination d'une valeur quantitative d'au moins un indicateur de performance. En outre, les présents inventeurs ont montré de manière surprenante et inattendue que le procédé selon l'invention permettait de déterminer une valeur quantitative d'au moins un indicateur de performance avec de très faibles incertitudes dans un milieu complexe.

45

RESUME DE L'INVENTION

La présente invention concerne un procédé non destructif de détermination quantitative d'au moins un indicateur de performance d'un élevage d'une population d'insectes vivants dans un milieu complexe, ledit procédé comprenant les étapes suivantes :

5 (i) une étape d'irradiation du milieu complexe comportant la population d'insectes vivants avec une lumière comportant une ou plusieurs longueurs d'onde comprise(s) dans une gamme allant de 420 nm à 2500 nm,

(ii) une étape de collecte de la lumière réfléchie par le milieu complexe afin d'obtenir un spectre

10 de réflexion du milieu, et

(iii) une étape de corrélation dudit spectre à une valeur quantitative d'au moins un indicateur de performance.

La présente invention concerne également l'utilisation du procédé tel que défini précédemment pour effectuer le suivi de croissance de la population d'insectes vivants, pour déterminer l'efficacité d'une machine de tri et/ou pour déterminer l'efficacité des équipements de nourrissage de la population d'insectes vivants.

15

La présente invention concerne également l'utilisation d'un spectrophotomètre pour la détermination quantitative d'au moins un indicateur de performance d'un élevage d'une population d'insectes vivants dans un milieu complexe.

20

DESCRIPTION DETAILLEE

Dans le cadre de la présente demande, sauf stipulation contraire, les gammes de valeurs indiquées s'entendent bornes incluses.

25

Un premier objet concerne un procédé non destructif de détermination quantitative d'au moins un indicateur de performance d'un élevage d'une population d'insectes vivants dans un milieu complexe, ledit procédé comprenant les étapes suivantes :

30 (i) une étape d'irradiation du milieu complexe comportant la population d'insectes vivants avec une lumière comportant une ou plusieurs longueurs d'onde comprise(s) dans une gamme allant de 420 nm à 2500 nm,

(ii) une étape de collecte de la lumière réfléchie par le milieu complexe afin d'obtenir un spectre

35 de réflexion du milieu, et

(iii) une étape de corrélation dudit spectre à une valeur quantitative d'au moins un indicateur de performance.

Par « procédé non-destructif » on entend, de préférence, un ensemble d'étapes non invasives permettant de préserver l'intégrité de la population d'insectes vivants.

40

Par « insecte » on entend, de préférence, un insecte à n'importe quel stade de développement, tel qu'un stade adulte, larvaire, de nymphe et/ou d'œuf, préférentiellement stade adulte, larvaire et/ou de nymphe. Ce terme couvre donc tout stade d'évolution (appelé également

45 stade de croissance ou de développement) de l'œuf ou oothèque à l'insecte adulte, en passant par la larve et la nymphe telle que la puppe.

Par « population d'insectes » on entend, de préférence, un ensemble d'au moins deux insectes d'espèce identique ou différente et/ou à un stade de développement identique ou différent.

5 En particulier, une population d'insectes au sens de la présente invention concerne une population d'insectes individualisés. De ce fait, la population d'insectes telle que visée par l'invention ne correspond pas à un insecte qui incube des œufs à l'intérieur de son abdomen (insecte ovovivipare).

10 De préférence, une population d'insectes, et plus particulièrement la population d'insectes vivants, est un ensemble d'au moins deux insectes d'espèce identique à un stade de développement identique. Des exemples de populations d'insectes comprennent, mais ne sont pas limités à, un ensemble de larves, un ensemble de nymphes ou un ensemble d'insectes adultes.

15 Par « larve » on entend, de préférence, le stade larvaire des insectes et donc le stade juvénile de l'insecte, ce qui inclut l'asticot pour les diptères et la chenille pour les lépidoptères, ainsi que les stades aptères chez les orthoptères. Ce terme couvre tout stade de développement de la larve.

20 Par « nymphe » on entend, de préférence, le stade de métamorphose de l'insecte et en particulier les stades intermédiaires entre la larve et l'imago, ce qui inclut la pupe pour les diptères, la nymphe pour les coléoptères, la chrysalide pour les lépidoptères et, le cas échéant, un stade intermédiaire au cours duquel certaines modifications physiologiques (prépupe) ou comportementales des individus apparaissent, telles qu'une sclérification importante de la cuticule pour les diptères.

Par « insecte adulte » (ou imago) on entend, de préférence, le stade mature de l'insecte, et en particulier le dernier stade de développement de l'insecte, qui assure la reproduction de l'espèce.

30 Avantageusement, les insectes sont choisis parmi le groupe des coléoptères, des diptères, des lépidoptères, des orthoptères, des névroptères, des hyménoptères, des dictyoptères regroupant notamment les blattoptères, y inclus isoptères, et les mantoptères, des phasmoptères, des hémiptères, des hétéroptères, des éphéméroptères, des mécoptères, et
35 leurs mélanges, de préférence, parmi le groupe des coléoptères, des diptères, des lépidoptères, des orthoptères et leurs mélanges, plus préférentiellement, l'insecte appartient au groupe des coléoptères. Préférentiellement, les diptères appartiennent au sous-ordre des *Brachycera*. Préférentiellement, les lépidoptères appartiennent au sous-ordre des *Ditrysia*, plus préférentiellement à la super-famille des *Pyraloidea*. Préférentiellement, les névroptères appartiennent au sous-ordre des *Hemerobiiformia*. Plus préférentiellement, les névroptères appartiennent aux familles des *Mantispidae*, *Ithonidae*, *Chrysopidae*, *Hemerobiidae*, ou leurs mélanges. Préférentiellement, les coléoptères appartiennent à l'infra-ordre des *Cucujiformia*, en particulier aux familles des *Tenebrionidae*, *Coccinellidae*, *Cerambycidae*, *Dryophthoridae*, ou leurs mélanges. Plus préférentiellement, les coléoptères sont choisis parmi *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, *Zophobas morio*, *Tenebrio obscurus*, *Tribolium castaneum*, *Rhynchophorus ferrugineus*, et leurs mélanges, encore plus préférentiellement *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, et leurs mélanges. Les insectes visés par l'invention appartiennent donc de préférence au groupe des coléoptères et plus particulièrement à la

famille des *Tenebrionidae*. Préférentiellement, les insectes visés par l'invention appartiennent à l'espèce *Tenebrio molitor* et/ou *Alphitobius diaperinus*.

Par « milieu complexe », on entend, de préférence :

- 5 - un ensemble comprenant au moins deux, de préférence au moins trois, constituants différents autres que la population d'insectes vivants, et/ou
 - au moins un insecte à au moins un stade de développement différent d'au moins un insecte de la population d'insectes vivants, et/ou
 - au moins un insecte mort.

10

Par « ensemble comprenant au moins deux, de préférence au moins trois, constituants différents » on entend, de préférence, un ensemble comprenant au moins deux, de préférence au moins trois, constituants composés au moins en partie de molécules identiques ou similaires mais à des concentrations différentes.

15

Par « molécules identiques ou similaires » on entend, de préférence, des molécules chimiques présentant des structures chimiques identiques ou similaires.

20 A titre d'exemple, il s'agit de molécules ayant en commun des structures chimiques présentant les mêmes vibrations, lors de l'excitation de celles-ci par la source infrarouge, de l'atome d'hydrogène que celles de la famille de molécule mesurée (protéines, lipides, saccharides, chitines, eau). Par exemple, si l'hydrogène est lié avec un azote (via groupement N-H₂-COOH) alors les molécules appartiendront à la famille des protéines.

25 Ainsi, les protéines présentent des structures chimiques identiques ou similaires.

De même, les monosaccharides, oligo et polysaccharides présentent des structures chimiques identiques ou similaires ; les triglycérides et acides gras présentent des structures chimiques identiques ou similaires ; la chitine et les dérivés chitiniques présentent des structures
30 chimiques identiques ou similaires.

Par « dérivés chitiniques » on entend, de préférence, des dérivés de polysaccharides comportant des unités N-acétyl-glucosamine et des unités D-glucosamines, en particulier les copolymères chitine-polypeptides (parfois désignés sous l'appellation « composite chitine-
35 polypeptides »).

En effet, dans le milieu complexe selon l'invention, chaque constituant peut notamment comporter deux ou plusieurs des composés choisis parmi :

- 40 - les protéines,
 - les monosaccharides, oligo et polysaccharides,
 - les triglycérides et acides gras, et/ou
 - la chitine et les dérivés chitiniques.

45 Plus particulièrement, chaque composé ci-avant est présent dans au moins deux choisis parmi les constituants du milieu complexe et la population d'insectes vivants.

De préférence, le milieu complexe est un milieu d'élevage d'insectes.

Des exemples de constituants peuvent être, mais ne sont pas limités à, un substrat, et/ou des insectes morts d'une espèce identique ou différente de celle de la population d'insectes vivants, et/ou des insectes vivants d'une espèce différente d'au moins un insecte de la population d'insectes vivants, de préférence de celle de la population d'insectes vivants, et/ou des insectes vivants à un stade de développement différent d'au moins un insecte de la population d'insectes vivants, et/ou des déjections (appelées également frass), et/ou des contaminants.

Par « substrat » on entend, de préférence, un substrat nutritif.

10

Par « substrat nutritif » on entend, de préférence, un substrat nutritif ou un mélange de substrats nutritifs, destiné à être consommé par les insectes. Il peut s'agir d'un substrat nutritif solide ou liquide. Le substrat nutritif solide peut être un mélange de produits ou co-produits solides issus de la transformation des céréales, des oléogineux, des oléoprotéagineux et/ou des protéagineux. Ce substrat peut être supplémenté en vitamines ou en minéraux. Par « coproduit » on entend de préférence une matière inévitable créée au cours d'un processus de fabrication d'un produit d'intérêt. Le substrat solide peut être un produit ou coproduit issu de la transformation du blé (blé tendre, blé dur), du maïs, de l'orge, du riz, du triticale, de l'avoine, du sorgho, du seigle, de l'épeautre, du millet, du quinoa, du sarrasin, du colza, du tournesol, du lin, du soja et/ou du pois. De préférence, le substrat solide est un produit ou coproduit issu de la transformation du blé, plus préférentiellement, le substrat est du son de blé et/ou du remoulage de blé. Alternativement, des drêches sèches de distillerie avec soluble (« Dried Distilled Grains with Solubles ») peuvent être utilisées.

Par « déjections » on entend, de préférence, des déjections (fèces) d'insectes quel que soit leur stade de développement.

Par « contaminants » on entend, de préférence, un organisme vivant indésirable tel qu'une bactérie ou un champignon, ou un autre insecte tel qu'une mite, et/ou un élément indésirable produit par ce dernier tel qu'une soie de mite. De préférence, le contaminant est une mite et/ou une soie de mite. Plus préférentiellement, le contaminant est une soie de mite.

Avantageusement, le milieu complexe comprend au moins deux, de préférence au moins trois, constituants différents autres que la population d'insectes vivants.

35

Avantageusement, les au moins deux, de préférence au moins trois, constituants différents sont choisis parmi un substrat et des déjections.

Avantageusement, le milieu complexe comprend au moins un insecte à au moins un stade de développement différent d'au moins un insecte de la population d'insectes vivants.

40

Avantageusement, le milieu complexe comprend au moins un insecte à au moins un stade de développement différent de la population d'insectes vivants, ladite population d'insectes vivants étant alors une population d'insectes à un stade de développement donné, plus particulièrement, ladite population d'insectes vivants étant une population d'insectes d'une espèce donnée à un stade de développement donné. Un tel cas permet notamment de distinguer une population de larves d'une population de nymphes ou une population de nymphes d'une population d'adultes.

45

Avantageusement, le milieu complexe comprend au moins un insecte mort.

5 Par « détermination quantitative » on entend, de préférence, la détermination d'une valeur quantitative.

De préférence, par « indicateur de performance » ou « KPi » (« *Key Performance Indicator* » en anglais) d'un élevage d'une population d'insectes vivants, on entend un indicateur relatif à la population d'insectes vivants ou à un constituant du milieu complexe ou
10 à une caractéristique de la population d'insectes vivants ou à une caractéristique d'un constituant du milieu complexe à un instant donné.

Par « valeur quantitative d'un indicateur de performance » on entend, de préférence, une valeur quantitative associée à la population d'insectes vivants (par exemple, un pourcentage
15 en poids) ou à un constituant du milieu complexe (par exemple, un pourcentage en poids) ou à une caractéristique de la population d'insectes vivants (par exemple, une masse moyenne individuelle) ou une caractéristique d'un constituant du milieu complexe (par exemple, un pourcentage en poids d'agrégat de soie de mite) à un instant donné. La valeur quantitative d'un constituant du milieu complexe peut par exemple être la quantité dudit constituant compris
20 dans le milieu complexe, et de préférence la quantité massique tel qu'un pourcentage en poids dudit constituant par rapport au poids total représenté par le milieu complexe et la population d'insectes vivants.

Des exemples de valeur quantitative d'un indicateur de performance comprennent, mais ne
25 sont pas limités à, la valeur quantitative d'une population d'insectes donnée dans le milieu complexe exprimée en masse ou en pourcentage en poids par rapport au poids total représenté par le milieu complexe et la population d'insectes vivants, la valeur quantitative d'un substrat dans le milieu complexe exprimée en masse ou en pourcentage en poids par rapport au poids total représenté par le milieu complexe et la population d'insectes vivants, la
30 valeur quantitative de déjections dans le milieu complexe exprimée en masse ou en pourcentage en poids par rapport au poids total représenté par le milieu complexe et la population d'insectes vivants, la valeur quantitative de contaminants dans le milieu complexe exprimée en masse ou en pourcentage en poids par rapport au poids total représenté par le milieu complexe et la population d'insectes vivants, la masse moyenne individuelle (« IMM »)
35 des insectes dans le milieu complexe exprimée en masse.

Ainsi, de manière surprenante et inattendue, les présents inventeurs ont mis au point un procédé permettant de quantifier dans un milieu complexe des populations d'insectes
40 spécifiques et d'autres constituants du milieu. Par exemple, le procédé selon l'invention permet de quantifier dans un milieu complexe des insectes à différents stades de développement tels que des larves, des nymphes et/ou des insectes adultes, et des insectes morts.

Par « masse moyenne individuelle » (ou « IMM ») on entend, de préférence, la masse
45 moyenne individuelle des insectes.

Avantageusement, l'indicateur de performance est choisi parmi une quantification d'une population d'insectes, d'un substrat, des déjections, d'un contaminant et/ou une masse
moyenne individuelle des insectes, de préférence une quantification d'une population

d'insecte, une masse moyenne individuelle des insectes et/ou des déjections, et encore plus préférentiellement une quantification d'une population d'insecte telle que des insectes morts, et/ou des déjections.

- 5 Avantageusement, l'indicateur de performance est une quantification des déjections.

Avantageusement, l'indicateur de performance est une quantification d'une population d'insectes.

- 10 Avantageusement, la population d'insectes est constituée par les insectes morts.

Avantageusement, la population d'insectes est constituée par des insectes à un stade de développement donné, les insectes étant avantageusement vivants.

- 15 Par « étape d'irradiation » on entend, de préférence, l'émission d'une lumière comportant une ou plusieurs longueurs d'onde sur le milieu.

- On notera que selon l'invention, l'étape d'irradiation est réalisée sur le milieu complexe comportant la population d'insectes vivants, c'est-à-dire sur le milieu complexe en présence de la population d'insectes vivants.
- 20

Avantageusement, l'étape d'irradiation (i) est effectuée avec une lumière comportant une ou plusieurs longueurs d'onde comprise(s) dans la gamme allant de 800 à 2200 nm, de préférence de 1000 à 1950 nm, et encore plus préférentiellement de 1100 à 1650 nm.

- 25 Par « étape de collecte » on entend, de préférence, l'acquisition *via* un détecteur de l'intensité énergétique réfléchi par le milieu en fonction des longueurs d'onde de la lumière émise à l'étape (i). La lumière de l'étape (i) est avantageusement une lumière décomposée, de préférence, une lumière décomposée en lumières monochromatiques.

- 30 Par « lumière monochromatique » on entend, de préférence, une lumière comprenant une ou plusieurs longueurs d'onde de même couleur.

- 35 Avantageusement, une lumière monochromatique comprend un ensemble de longueurs d'onde dont la longueur d'onde la plus courte et la longueur d'onde la plus longue sont espacées d'au maximum 50 nm, de préférence, d'au maximum 25 nm, plus préférentiellement d'au maximum 15 nm, encore plus préférentiellement, d'au maximum 10 nm, tel que de l'ordre de 8,75 nm.

- 40 Avantageusement, le milieu complexe est irradié avec une ou plusieurs lumières monochromatiques comprise(s) dans une gamme allant de 420 nm à 2500 nm, de préférence de 800 à 2200 nm, préférentiellement de 1000 à 1950 nm, et encore plus préférentiellement de 1100 à 1650 nm.

- 45 Dans le cas de plusieurs lumières monochromatiques, les étapes (i) et (ii) sont effectuées plusieurs fois avec chaque lumière monochromatique émise successivement.

Selon un mode de réalisation préféré, plusieurs étapes (i) d'irradiation sont effectuées successivement de manière à irradier l'échantillon avec une plage de lumière dont les longueurs d'onde sont comprises entre 420 nm et 2500 nm, de préférence de 800 à 2200 nm, préférentiellement de 1000 à 1950 nm, et encore plus préférentiellement de 1100 à 1650 nm, une étape (ii) de collecte étant effectuée pour chaque étape d'irradiation.

Par « plage de lumière », on entend, de préférence, une somme de lumières couvrant l'ensemble des longueurs d'onde comprises entre les deux bornes de la plage.

A titre d'exemple, afin d'obtenir une plage de lumière allant de X à Y nm, plusieurs étapes (i) d'irradiation séquentielles peuvent être effectuées grâce à l'émission de lumières monochromatiques séquentielles, la première lumière monochromatique commençant à X nm, et les lumières monochromatiques suivantes étant émises avec un pas défini, par exemple 0,5 nm (dans ce cas, la deuxième lumière monochromatique est émise à X+0,5 nm, la troisième à X+1 nm, ...), jusqu'à Y. De préférence, ce pas est compris entre 0,2 nm et 10 nm, plus préférentiellement, entre 0,5 nm et 5 nm, encore plus préférentiellement, de l'ordre de 0,5 nm.

Par « spectre de réflexion » on entend, de préférence, un spectre représentant l'intensité énergétique réfléchi par le milieu en fonction des longueurs d'onde avec lesquelles ledit milieu a été irradié.

Avantageusement, les étapes (i) et (ii) du procédé selon l'invention sont répétées plusieurs fois, et de préférence au moins une fois, afin d'améliorer la qualité du spectre de réflexion du milieu.

De préférence, à l'issue de l'étape (ii) de collecte du procédé selon l'invention, un spectre de réflexion diffuse du milieu est obtenu.

Par « spectre de réflexion diffuse », on entend de préférence un spectre de réflexion représentant l'intensité énergétique réfléchi par le milieu ayant la particularité de réfléchir et disperser l'intensité énergétique dans toutes les directions de l'espace, en fonction des longueurs d'onde avec lesquelles ledit milieu a été irradié.

Avantageusement, les étapes (i) et (ii) du procédé selon l'invention sont effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre, en particulier à l'aide d'un spectrophotomètre proche infra-rouge (aussi appelé spectromètre NIRS pour « Near-infrared spectroscopy »), tel que par exemple le NIRS XDS Rapid Content Analyzer de Metrohm, le NIRS Analyzer Pro de Metrohm ou le NIRS XDS Process Analyzer de Metrohm.

Le fonctionnement d'un spectrophotomètre est connu de l'homme du métier : une lumière, en général polychromatique, issue par exemple d'une lampe tungstène ou halogène, est envoyée à travers une fente d'entrée afin de générer une lumière cohérente spatialement. Cette lumière arrive ensuite sur un réseau de diffraction, conduisant alors à la séparation spatiale des longueurs d'onde la constituant. Par réflexion diffuse, une partie du signal est ensuite renvoyée aux détecteurs. Une fente de sortie permet de limiter le passage des longueurs d'onde arrivant jusqu'à l'échantillon pour l'étape d'irradiation ; cette fente de sortie définit alors une bande passante d'une taille donnée. Par conséquent, plusieurs longueurs d'onde peuvent arriver simultanément jusqu'à l'échantillon, selon la taille de la bande passante. Plus la fente de sortie est large, plus le nombre de longueurs d'onde arrivant jusqu'à l'échantillon est grand, et donc plus la résolution du spectre de réflexion est altérée. En revanche, plus la largeur de la fente

de sortie est faible, plus la résolution du spectre de réflexion est fine, mais plus le rapport signal/bruit se dégrade. Afin de permettre le passage séquentiel des longueurs d'onde séparées spatialement dans la fente de sortie, le réseau de diffraction peut être monté sur un moteur encodeur qui permet de faire varier sa position angulaire, et donc de définir un pas d'acquisition, ou l'appareil est équipé d'une barrette de diode.

De préférence, le pas d'acquisition du spectrophotomètre est compris entre 0,2 nm et 8 nm, plus préférentiellement, entre 0,5 nm et 4 nm, encore plus préférentiellement, de l'ordre de 0,5 nm.

De préférence, la bande passante du spectrophotomètre est comprise entre 1 nm et 50 nm, plus préférentiellement, entre 5 et 20 nm, encore plus préférentiellement, entre 8 nm et 10 nm, telle que par exemple de l'ordre de 8,75 nm.

Le spectrophotomètre peut comprendre un ou plusieurs détecteurs, de préférence au moins deux détecteurs (appelés également capteurs).

De préférence, le spectrophotomètre comprend un détecteur en silicium afin de détecter l'intensité énergétique réfléchie par l'échantillon pour des longueurs d'onde comprises entre 400 nm et 1100 nm, et un détecteur en sulfure de plomb afin de détecter l'intensité énergétique réfléchie par l'échantillon pour des longueurs d'onde comprises entre 1100 nm et 2500 nm. Usuellement, dans le cas où l'on souhaite obtenir un spectre de réflexion diffuse de l'échantillon, le spectrophotomètre comprend un dôme réflecteur hémisphérique placé au-dessus de l'échantillon afin de diriger toute la lumière réfléchie vers le détecteur.

Selon un mode de réalisation préféré, les étapes (i) d'irradiation et (ii) de collecte sont effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre et répétées plusieurs fois, avantageusement en modifiant la position de l'échantillon. L'enchaînement des étapes (i) et (ii) est couramment appelée un scan.

De préférence, les étapes (i) et (ii) sont répétées au moins 12 fois, plus préférentiellement au moins 16 fois, encore plus préférentiellement au moins 24 fois tel que par exemple 32 fois (soit 32 scans). De même, la position de l'échantillon est de préférence modifiée au moins 2 fois, plus préférentiellement au moins 4 fois, tel que par exemple 8 fois. Plus préférentiellement encore, les étapes (i) et (ii) sont répétées 32 fois par position de l'échantillon et la position de l'échantillon est modifiée entre 4 et 8 fois.

Les étapes (i) et (ii) du procédé selon l'invention peuvent être réalisées lorsque le milieu complexe est immobile ou en mouvement.

Lorsque le milieu complexe est en mouvement, on parlera alors de mode dynamique. *A contrario*, lorsque le milieu complexe est immobile, on parlera alors de mode statique.

Que les étapes (i) et (ii) soient réalisées selon un mode statique ou selon un mode dynamique, le spectrophotomètre peut être intégré à un dispositif optique comportant un support mobile motorisé auquel est lié le spectrophotomètre. Cela permet de limiter le nombre de spectrophotomètres nécessaires pour acquérir des données sur une surface libre du milieu complexe suffisante pour être représentative de l'ensemble de la surface libre du milieu complexe. Le support mobile motorisé, en association le cas échéant avec un dispositif de

convoyage sur lequel est posé le bac d'élevage contenant le milieu complexe, permet de créer un mouvement relatif entre le spectrophotomètre et ledit milieu complexe. Ainsi, le champ d'acquisition du spectrophotomètre balaie pendant les étapes (i) et (ii) une partie de la surface libre totale du milieu complexe bien plus importante que la surface sur laquelle des données
5 pourraient être acquises avec un capteur fixe.

En mode dynamique, et à simple titre d'exemple, le support mobile peut comporter un bras rotatif parallèle à la surface supérieure du dispositif de convoyage (par exemple du convoyeur à bande) sur lequel est posé le bac contenant le milieu complexe. Le bras est donc également
10 sensiblement parallèle à la surface libre du milieu complexe. Le dispositif optique est configuré pour que le bras rotatif effectue une ou plusieurs rotations (par exemple trois rotations) pendant qu'un bac d'élevage passe sous le capteur à une vitesse constante imposée par le dispositif de convoyage sur lequel il est posé.

15 En mode statique, et à simple titre d'exemple, le support mobile comporte des moyens de translations du spectrophotomètre dans deux directions orthogonales, dites longitudinale et transversale, dans un plan parallèle à la surface libre du milieu complexe. Le bac contenant le milieu complexe est positionné et immobilisé sous le spectrophotomètre. Le dispositif optique est configuré de sorte que la zone balayée par le champ d'acquisition du spectrophotomètre
20 ait une forme « en hippodrome », à la surface du milieu complexe. Une forme en hippodrome est une forme oblongue comportant deux trajectoires droites longitudinales parallèles reliées par des virages et/ou des portions transversales. Pour maximiser la surface balayée par le champ d'acquisition du spectrophotomètre, la zone balayée peut avoir la forme de deux hippodromes, à savoir une zone balayée en hippodrome incluse dans autre zone balayée en
25 hippodrome de plus grandes dimensions.

Par « étape de corrélation », on entend une étape permettant de déterminer une valeur quantitative d'un indicateur de performance donné en fonction du spectre de réflexion du milieu. La valeur quantitative d'un indicateur de performance donné peut donc être corrélée
30 aux données dudit spectre *via* la réflectance du milieu mesurée à une ou des longueur(s) d'onde spécifique(s).

Ainsi, l'étape (iii) de corrélation est effectuée en exploitant la totalité, ou une partie, ou des parties du spectre de réflexion. De préférence, l'étape (iii) de corrélation est effectuée en
35 exploitant la totalité du spectre de réflexion.

Avantageusement, l'étape (iii) de corrélation est effectuée à l'aide d'un modèle prédictif préalablement établi pour ledit constituant.

40 De préférence, ledit modèle a été préalablement établi par une analyse de régression.

Une analyse de régression est une méthode statistique qui permet de modéliser des relations entre différentes variables, plus particulièrement entre une variable dépendante et (une) des variable(s) indépendante(s), la valeur des variables indépendantes affectant la valeur de la variable dépendante. A la fin de l'analyse, un modèle prédictif est donc établi et est représenté
45 par une équation. Dans le cadre de la présente invention, une variable dépendante est une valeur quantitative d'un indicateur de performance et une variable indépendante est la quantité

de lumière réfléchi par l'insecte de la population d'insectes vivants ou un constituant du milieu complexe pour une longueur d'onde ou sur une plage de longueurs d'onde donnée.

De préférence, l'analyse de régression est une régression linéaire simple, une régression multilinéaire, ou une régression des moindres carrés partiels (appelée PLS, pour « Partial Least Square regression »). Plus préférentiellement, l'analyse de régression est une régression PLS. Ces analyses de régression sont bien connues de l'homme du métier et peuvent par exemple être réalisées à l'aide d'un logiciel commercial, de préférence à l'aide du logiciel Vision commercialisé par Metrohm.

10

Afin de réaliser une analyse de régression, plusieurs échantillons de milieu doivent être constitués, préférentiellement, au moins 50 échantillons, plus préférentiellement, au moins 100 échantillons, encore plus préférentiellement, au moins 150 échantillons tel que par exemple 180. Ensuite, chaque échantillon est irradié avec une lumière comportant une ou plusieurs longueurs d'onde comprise(s) dans une (des) plage(s) allant de 420 nm à 2500 nm, de préférence de 800 à 2200 nm, préférentiellement de 1000 à 1950 nm et encore plus préférentiellement allant de 1100 nm à 1650 nm, puis la lumière réfléchi par chaque échantillon est collectée afin d'obtenir un spectre de réflexion pour chaque échantillon. Chaque échantillon est également analysé par une méthode de référence afin de déterminer une valeur quantitative de référence en une population d'insectes vivants ou en un constituant donné du milieu complexe. De préférence, cette méthode de référence consiste à séparer manuellement les différents constituants du milieu complexe et la population d'insectes vivants puis à les peser. Alternativement et de façon encore plus préférentielle, pour des milieux complexes artificiels, la masse de chaque constituant présent dans le milieu est connue, il n'est donc alors pas nécessaire de séparer manuellement les différents constituants du milieu. Il en est de même pour la population d'insectes vivants. Des exemples de méthode sont décrits dans les exemples ci-après.

15

20

25

La régression PLS peut être appliquée à plusieurs longueurs d'onde, voir même sur une large plage spectrale ou encore sur tout le spectre de réflexion.

30

En outre, la régression PLS permet de déterminer des variables indépendantes qui ne sont pas observables (par exemple, qui n'ont pas ou peu de sens physiquement), elles sont appelées variables latentes ou encore facteurs. La régression PLS permet donc la création de nouvelles variables

35

Selon un mode de réalisation préféré, l'analyse de régression est une régression PLS qui implique le choix d'un nombre de facteurs à inclure dans l'équation du modèle prédictif. Ce choix du nombre de facteurs est important puisque, s'il n'y a pas assez de facteurs, cela conduit à une sous-modélisation et à une dégradation de la justesse du modèle, et à l'inverse, trop de facteurs induisent une sur-modélisation et une dégradation de la robustesse du modèle. Avantagusement, le nombre de facteurs optimal à utiliser pour la régression PLS est déterminé en calculant la somme résiduelle prédictive des carrés (PRESS ou Prediction Residual error – Sum of Squares) pour chaque nombre de facteurs, la valeur PRESS représentant donc l'erreur de prédiction et devant être minimale. De préférence, la valeur PRESS de chaque nombre de facteurs est calculée grâce à un jeu de validation externe ou à une validation croisée, plus préférentiellement, grâce à une validation croisée.

40

45

Ainsi, le nombre de facteurs ayant une valeur PRESS minimale sera retenu pour établir l'équation du modèle prédictif. La valeur PRESS dépendant du constituant du milieu, la valeur minimale à retenir n'est pas la même suivant le modèle à établir pour un constituant du milieu donné.

5

De préférence, lors de la validation croisée, toutes les données des échantillons ayant participées à l'établissement d'un modèle prédictif sont regroupées, puis les données pour chaque échantillon sont retirées à tour de rôle et un modèle est élaboré avec les spectres et valeurs, déterminées lors des analyses de référence associées, des échantillons restants. La validation croisée est plus amplement décrite dans les exemples ci-dessous.

10

Avantageusement, le procédé comprend en outre, après l'étape (ii) de collecte et avant l'étape (iii) de corrélation, une étape de traitement mathématique du spectre de réflexion comprenant une dérivée première, une dérivée seconde, un traitement de type Savinsky et/ou une normalisation de type SNV (« Standard Normal Variate »).

15

De préférence, l'étape de traitement mathématique est une normalisation de type SNV suivie d'une dérivée première ou seconde ou un traitement de type Savinsky suivi d'une dérivée première ou seconde.

20

Avantageusement, le pourcentage massique d'insectes au stade de larve dans un milieu complexe du procédé selon l'invention est compris entre 0% et 90%, de préférence entre 20% et 85%, et plus préférentiellement entre 25% et 80% sur le poids total de l'échantillon du milieu complexe et des insectes vivants.

25

Avantageusement, le pourcentage massique d'insectes au stade adulte dans un milieu complexe du procédé selon l'invention est compris entre 0% et 100%, de préférence entre 10% et 90%, et plus préférentiellement entre 20% et 80% sur le poids total de l'échantillon du milieu complexe et des insectes vivants.

30

Avantageusement, le pourcentage massique d'insectes au stade de nymphe dans un milieu complexe du procédé selon l'invention est compris entre 0% et 50%, de préférence entre 0,1% et 20% sur le poids total de l'échantillon du milieu complexe et des insectes vivants.

35

Avantageusement, le pourcentage massique d'insectes morts dans un milieu complexe du procédé selon l'invention est compris entre 0% et 50%, de préférence entre 0,1% et 40% sur le poids total de l'échantillon du milieu complexe et des insectes vivants.

40

Avantageusement, le pourcentage massique de substrat dans un milieu complexe du procédé selon l'invention est compris entre 0% et 60%, de préférence entre 5% et 50% sur le poids total de l'échantillon du milieu complexe et des insectes vivants.

45

Avantageusement, le pourcentage massique de déjections dans un milieu complexe du procédé selon l'invention est compris entre 0% et 50%, de préférence entre 5% et 40% sur le poids total de l'échantillon du milieu complexe et des insectes vivants.

Avantageusement, le pourcentage massique de contaminants tels que les agrégats de soie de mite dans un milieu complexe du procédé selon l'invention est compris entre 0% et 90%,

de préférence entre 0% et 50%, et plus préférentiellement entre 0% et 40% sur le poids total de l'échantillon du milieu complexe et des insectes vivants.

- Avantageusement, la masse moyenne individuelle des insectes dans un milieu complexe du procédé selon l'invention est calibrée selon deux sous-groupes :
- un groupe dans lequel la masse est estimée entre 0,5 mg et 50 mg, de préférence entre 0,7 et 48 mg, plus préférentiellement entre 1 mg et 45 mg,
 - un autre sous-groupe entre 35 et 200 mg, de préférence entre 38 et 185 mg, plus préférentiellement entre 40 mg et 175 mg.

La présente invention concerne également l'utilisation du procédé selon l'invention pour effectuer le suivi de croissance (ou d'évolution ou de développement) de la population d'insectes vivants et de préférence le suivi de croissance (ou d'évolution ou de développement) de la population d'insectes vivants pour le contrôle de qualité d'élevage d'insectes, pour déterminer l'efficacité d'une machine de tri, et de préférence de tri d'insectes, et/ou pour déterminer l'efficacité des équipements de nourrissage de la population d'insectes vivants, de préférence à l'aide d'un spectrophotomètre tel que défini précédemment.

La présente invention concerne également l'utilisation d'un spectrophotomètre, pour la détermination quantitative d'au moins un indicateur de performance dans un milieu complexe.

Avantageusement, le spectrophotomètre est tel que défini précédemment.

Avantageusement, l'indicateur de performance est tel que défini précédemment.

Avantageusement, le spectrophotomètre est utilisé pour effectuer le suivi de croissance (ou d'évolution ou de développement) de la population d'insectes vivants, et de préférence le suivi de croissance (ou d'évolution ou de développement) de la population d'insectes vivants pour le contrôle de qualité d'élevage de la population d'insectes vivants, pour déterminer l'efficacité d'une machine de tri, et de préférence de tri de la population d'insectes vivants, et/ou pour déterminer l'efficacité des équipements de nourrissage de la population d'insectes vivants.

La présente invention est illustrée, de manière non limitative, par les exemples ainsi que les figures.

DESCRIPTION DES FIGURES

- [Fig. 1] La figure 1 comporte deux diagrammes : celui de gauche (A) représente la quantité massique d'insectes vivants au stade larvaire dans l'échantillonnage A calculée du jeu d'apprentissage en fonction de la quantité massique d'insectes vivants au stade larvaire déterminée par les analyses de référence, et celui de droite (B) représente la quantité massique d'insectes vivants au stade larvaire dans l'échantillonnage A calculée du jeu de validation externe en fonction de la quantité d'insectes vivants au stade larvaire déterminée par les analyses de référence, les quantités massiques étant exprimées en pourcentage en poids sur le poids total de l'échantillon.

- 5 - [Fig. 2] La figure 2 comporte deux diagrammes : celui de gauche (A) représente la quantité massique d'insectes vivants au stade larvaire dans l'échantillonnage B calculée du jeu d'apprentissage en fonction de la quantité massique d'insectes vivants au stade larvaire déterminée par les analyses de référence, et celui de droite (B) représente la quantité massique d'insectes vivants au stade larvaire dans l'échantillonnage B calculée du jeu de validation externe en fonction de la quantité d'insectes vivants au stade larvaire déterminée par les analyses de référence, les quantités massiques étant exprimées en pourcentage en poids sur le poids total de l'échantillon.
- 10
- 15 - [Fig. 3] La figure 3 comporte deux diagrammes : celui de gauche (A) représente la quantité massique d'insectes vivants au stade de nymphe dans l'échantillonnage B calculée du jeu d'apprentissage en fonction de la quantité massique d'insectes vivants au stade de nymphe déterminée par les analyses de référence, et celui de droite (B) représente la quantité massique d'insectes vivants au stade de nymphe dans l'échantillonnage B calculée du jeu de validation externe en fonction de la quantité d'insectes vivants au stade de nymphe déterminée par les analyses de référence, les quantités massiques étant exprimées en pourcentage en poids sur le poids total de l'échantillon.
- 20
- 25 - [Fig. 4] La figure 4 comporte deux diagrammes : celui de gauche (A) représente la quantité massique d'insectes vivants au stade adulte dans l'échantillonnage C calculée du jeu d'apprentissage en fonction de la quantité massique d'insectes vivants au stade adulte déterminée par les analyses de référence, et celui de droite (B) représente la quantité massique d'insectes vivants au stade adulte dans l'échantillonnage C calculée du jeu de validation externe en fonction de la quantité d'insectes vivants au stade adulte déterminée par les analyses de référence, les quantités massiques étant exprimées en pourcentage en poids sur le poids total de l'échantillon.
- 30
- 35 - [Fig. 5] La figure 5 comporte deux diagrammes : celui de gauche (A) représente la quantité massique d'insectes vivants au stade de nymphe dans l'échantillonnage C calculée du jeu d'apprentissage en fonction de la quantité massique d'insectes vivants au stade de nymphe déterminée par les analyses de référence, et celui de droite (B) représente la quantité massique d'insectes vivants au stade de nymphe dans l'échantillonnage C calculée du jeu de validation externe en fonction de la quantité d'insectes vivants au stade de nymphe déterminée par les analyses de référence, les quantités massiques étant exprimées en pourcentage en poids sur le poids total de l'échantillon.
- 40
- 45 - [Fig. 6] La figure 6 comporte deux diagrammes : celui de gauche (A) représente la quantité massique d'insectes vivants au stade adulte dans l'échantillonnage D calculée du jeu d'apprentissage en fonction de la quantité massique d'insectes vivants au stade adulte déterminée par les analyses de référence, et celui de droite (B) représente la quantité massique d'insectes vivants au stade adulte dans l'échantillonnage D calculée du jeu de validation externe en fonction de la quantité massique d'insectes vivants au stade adulte déterminée par les analyses de référence, les quantités massiques étant exprimées en pourcentage en poids sur le poids total de l'échantillon.

- [Fig. 7] La figure 7 comporte deux diagrammes : celui de gauche (A) représente la quantité massique de déjections dans l'échantillonnage A calculée du jeu d'apprentissage en fonction de la quantité massique de déjections déterminée par les analyses de référence, et celui de droite (B) représente la quantité massique de déjections dans l'échantillonnage A calculée du jeu de validation externe en fonction de la quantité massique de déjections déterminée par les analyses de référence, les quantités massiques étant exprimées en pourcentage en poids sur le poids total de l'échantillon.
- [Fig. 8] La figure 8 comporte deux diagrammes : celui de gauche (A) représente la quantité massique de déjections dans l'échantillonnage B calculée du jeu d'apprentissage en fonction de la quantité massique de déjections déterminée par les analyses de référence, et celui de droite (B) représente la quantité massique de déjections dans l'échantillonnage B calculée du jeu de validation externe en fonction de la quantité massique de déjections déterminée par les analyses de référence, les quantités massiques étant exprimées en pourcentage en poids sur le poids total de l'échantillon.
- [Fig. 9] La figure 9 comporte deux diagrammes : celui de gauche (A) représente la quantité massique d'un substrat nutritif dans l'échantillonnage A calculée du jeu d'apprentissage en fonction de la quantité massique d'un substrat nutritif déterminée par les analyses de référence, et celui de droite (B) représente la quantité massique d'un substrat nutritif dans l'échantillonnage A calculée du jeu de validation externe en fonction de la quantité massique d'un substrat nutritif déterminée par les analyses de référence, les quantités massiques étant exprimées en pourcentage en poids sur le poids total de l'échantillon.
- [Fig. 10] La figure 10 comporte deux diagrammes : celui de gauche (A) représente la quantité massique d'un substrat nutritif dans l'échantillonnage B calculée du jeu d'apprentissage en fonction de la quantité massique d'un substrat nutritif déterminée par les analyses de référence, et celui de droite (B) représente la quantité massique d'un substrat nutritif dans l'échantillonnage B calculée du jeu de validation externe en fonction de la quantité massique d'un substrat nutritif déterminée par les analyses de référence, les quantités massiques étant exprimées en pourcentage en poids sur le poids total de l'échantillon.
- [Fig. 11] La figure 11 comporte deux diagrammes : celui de gauche (A) représente la quantité massique d'un substrat nutritif dans l'échantillonnage C calculée du jeu d'apprentissage en fonction de la quantité massique d'un substrat nutritif déterminée par les analyses de référence, et celui de droite (B) représente la quantité massique d'un substrat nutritif dans l'échantillonnage C calculée du jeu de validation externe en fonction de la quantité massique d'un substrat nutritif déterminée par les analyses de référence, les quantités massiques étant exprimées en pourcentage en poids sur le poids total de l'échantillon.
- [Fig. 12] La figure 12 comporte deux diagrammes : celui de gauche (A) représente la quantité massique d'insectes morts dans l'échantillonnage A calculée du jeu d'apprentissage en fonction de la quantité massique d'insectes morts déterminée par

- les analyses de référence, et celui de droite (B) représente la quantité massique d'insectes morts dans l'échantillonnage A calculée du jeu de validation externe en fonction de la quantité massique d'insectes morts déterminée par les analyses de référence, les quantités massiques étant exprimées en pourcentage en poids sur le poids total de l'échantillon.
- 5
- [Fig. 13] La figure 13 comporte deux diagrammes : celui de gauche (A) représente la quantité massique d'insectes morts dans l'échantillonnage B calculée du jeu d'apprentissage en fonction de la quantité massique d'insectes morts déterminée par les analyses de référence, et celui de droite (B) représente la quantité massique d'insectes morts dans l'échantillonnage B calculée du jeu de validation externe en fonction de la quantité massique d'insectes morts déterminée par les analyses de référence, les quantités massiques étant exprimées en pourcentage en poids sur le poids total de l'échantillon.
- 10
- 15
- [Fig. 14] La figure 14 comporte deux diagrammes : celui de gauche (A) représente la quantité massique d'insectes morts dans l'échantillonnage C calculée du jeu d'apprentissage en fonction de la quantité massique d'insectes morts déterminée par les analyses de référence, et celui de droite (B) représente la quantité massique d'insectes morts dans l'échantillonnage C calculée du jeu de validation externe en fonction de la quantité massique d'insectes morts déterminée par les analyses de référence, les quantités massiques étant exprimées en pourcentage en poids sur le poids total de l'échantillon.
- 20
- 25
- [Fig. 15] La figure 15 comporte deux diagrammes : celui de gauche (A) représente la quantité massique d'insectes morts dans l'échantillonnage D calculée du jeu d'apprentissage en fonction de la quantité massique d'insectes morts déterminée par les analyses de référence, et celui de droite (B) représente la quantité massique d'insectes morts dans l'échantillonnage D calculée du jeu de validation externe en fonction de la quantité massique d'insectes morts déterminée par les analyses de référence, les quantités massiques étant exprimées en pourcentage en poids sur le poids total de l'échantillon.
- 30
- 35
- [Fig. 16] La figure 16 comporte deux diagrammes : celui de gauche (A) représente la quantité massique de contaminants (agrégats de soie de mites) dans l'échantillonnage E calculée du jeu d'apprentissage en fonction de la quantité massique de contaminants (agrégats de soie de mites) déterminée par les analyses de référence, et celui de droite (B) représente la quantité massique de contaminants (agrégats de soie de mites) dans l'échantillonnage E calculée du jeu de validation externe en fonction de la quantité massique de contaminants (agrégats de soie de mites) déterminée par les analyses de référence, les quantités massiques étant exprimées en pourcentage en poids sur le poids total de l'échantillon.
- 40
- 45
- [Fig. 17] La figure 17 comporte deux diagrammes : celui de gauche (A) représente la masse moyenne individuelle (« IMM ») des insectes calculée du jeu d'apprentissage dans l'échantillonnage E en fonction de la masse moyenne individuelle déterminée par les analyses de référence dans la gamme allant de 1.03 mg à 42,86 mg, et celui de droite (B) représente la masse moyenne individuelle (« IMM ») des insectes dans

l'échantillonnage E calculée du jeu de validation externe en fonction de la masse moyenne individuelle déterminée par les analyses de référence dans la gamme allant de 1,03 mg à 42,86 mg,

- 5 - [Fig. 18] La figure 18 comporte deux diagrammes : celui de gauche (A) représente la masse moyenne individuelle (« IMM ») des insectes calculée du jeu d'apprentissage dans l'échantillonnage E en fonction de la masse moyenne individuelle déterminée par les analyses de référence dans la gamme allant de 40,85 mg à 173,46 mg, et celui de droite (B) représente la masse moyenne individuelle (« IMM ») des insectes dans l'échantillonnage E calculée du jeu de validation externe en fonction de la masse moyenne individuelle déterminée par les analyses de référence dans la gamme allant de 40,85 mg à 173,46 mg.

15 EXEMPLES

Exemple 1 : Elaboration du modèle mis en œuvre dans le procédé selon l'invention

I- Echantillonnage, acquisition des spectres et analyses de référence

20

- Echantillonnages

- Echantillonnages « bacs industriels »

- 25 Quatre échantillonnages (A, B, C et D) ont été préparés à partir d'échantillons de *Tenebrio Molitor* à différents stades d'évolution (larve, adulte et/ou nymphe). Des bacs d'élevage de 2,8 m² ont été remplis artificiellement en mélangeant des insectes vivants avec du substrat, des insectes morts et/ou des déjections.

- 30 Le substrat est un substrat nutritif, appelé « INSECTUS » commercialisé par la société MIJTEN.

Les caractéristiques de chaque échantillonnage sont présentées à la table 1.

35 [Table 1]

	Echantillonnage A	Echantillonnage B	Echantillonnage C	Echantillonnage D
Type d'échantillon	Larves	Larves et nymphes	Insectes adultes et nymphes	Insectes adultes*
Nombre d'échantillons	180	172	180	180
Gamme de pourcentage massique d'insectes	40,3 % à 78,6 %	32,7 à 73,2 % (larves) 4 % à 12,5 % (nymphes)	31,4 % à 51,3 % (insectes adultes) 0 % à 5,6 % (nymphes)	66,7 % à 100 %

Gamme de pourcentage massique de substrat	8,4 % à 29,9 %	9,4 % à 32 %	25 % à 43,4 %	
Gamme de pourcentage massique de déjections	8,4 % à 29,9 %	9,4 % à 32 %		
Gamme de pourcentage massique d'insectes morts	0 % à 4,5 %	0 à 1,7 %	10,6 % à 34,5 % (Insectes morts)	0 % à 33,5 %

* Cet échantillon a été réalisé sur des bacs particuliers dont le fond est muni d'une grille métallique.

Les pourcentages massiques sont donnés par rapport au poids total des constituants introduits dans le bac.

5

Le terme « grille », désigne une grille métallique dont le maillage permet aux œufs de ponte de passer au travers tout en retenant les adultes sur sa surface.

- Echantillonnage « bacs d'essai »

10

L'échantillonnage E a également été préparé à partir d'échantillons de *Tenebrio Molitor* au stade larvaire. Dans des bacs d'une dimension de 0,24 m², des insectes *Tenebrio Molitor* au stade de larve ont été élevés durant 4 semaines dans un milieu complexe comprenant du substrat nutritif appelé « INSECTUS » commercialisé par la société MIJTEN.

15

Au cours de ces 4 semaines d'élevage, les insectes ont consommé du substrat nutritif et produit des déjections. De plus, des contaminants tels que des mites ont été autorisés à infester les bacs d'élevage d'insectes.

20 Les caractéristiques de l'échantillonnage E sont présentées à la table 2.

[Table 2]

	Echantillonnage E
Type d'échantillon	Larves
Gamme de pourcentage massique d'agrégats de soie de mites	0,5 % à 87,8 %
Gammes des IMM	1,03 mg à 42,86 mg ou 40,85 mg à 173,46 mg

25 Par « agrégats de soie de mite » on entend des soies de mites agglomérées avec une partie du milieu complexe et/ou des mites.

L'échantillonnage E a été utilisé afin de quantifier deux indicateurs de performance, à savoir la masse moyenne individuelle (« IMM »), exprimée en mg, des insectes et le pourcentage

massique de contaminants et en particulier le pourcentage massique d'agrégats de soie de mites. En outre, 234 échantillons de ce type d'échantillonnage E ont été utilisés afin de développer un modèle pour le KPi « contaminants » alors que 386 échantillons de ce type d'échantillonnage E ont été utilisés afin de développer un modèle pour le KPi « IMM » sur la
5 gamme 1,03 mg à 42,86 mg et 245 échantillons sur la gamme 40,85 mg à 173,46 mg.

- Acquisition des spectres

- Acquisition des spectres sur les échantillonnages « bacs industriels »

10

Un spectre en mode réflexion diffuse a été acquis à l'aide d'un spectromètre NIRS (pour « Near Infrared Spectroscopy »), les conditions d'acquisition étant résumées dans la Table 3.

15 [Table 3]

Spectromètre	NIRS Analyzer Pro (Metrohm)
Bande passante	9.50±0,10 nm
Pas d'acquisition	0,5 nm
Temps d'intégration	40 ms
Logiciel	Vision 4.1.1.63 (Metrohm)
Nombre de scans	32
Taille du spot (diamètre du faisceau)	70 mm
Plage d'acquisition	1100-1650 nm
Hauteur du NIRS entre le fond du bac et le bas du bloc NIR	20 cm

Sur chaque bac, 4 positions différentes sont analysées grâce au spectromètre NIRS Analyzer Pro. Ainsi, chacun des 4 spectres obtenus à la fin de l'acquisition correspond à une moyenne de 32 scans (moyenne automatiquement effectuée par l'équipement).

20

Les 4 spectres obtenus sur les 4 positions différentes sont ensuite moyennés pour ne donner qu'un seul spectre moyen représentatif du bac industriel scanné.

- Acquisition des spectres sur les échantillonnages « bacs d'essai »

25

Un spectre en mode réflexion diffuse a été acquis à l'aide d'un spectromètre NIRS (pour « Near Infrared Spectroscopy ») dans les conditions présentées dans la Table 3, ci-dessus.

Sur chaque bac, 8 positions différentes sont analysées grâce au spectromètre NIRS Analyzer Pro. Chaque bac d'essai est déplacé manuellement sur ces 8 positions différentes. Ainsi, chacun des 8 spectres obtenus à la fin de l'acquisition correspond à une moyenne de 32 scans.

30

Les 8 spectres obtenus sur les 8 positions différentes sont ensuite moyennés pour ne donner qu'un seul spectre moyen représentatif du bac d'essai scanné.

35

- Analyses de référence

- Analyses de référence sur les échantillonnages « bacs industriels »

5

Etant donné que les bacs d'élevage ont été préparés manuellement en introduisant des constituants (déjections, insectes vivants, insectes morts, substrat nutritif) dans les bacs avant le scan par le spectromètre NIRS, les quantités de chaque constituant sont connues. En effet, avant l'acquisition des spectres, la masse de chaque constituant est mesurée et exprimée en

10 pourcentage par rapport au poids total des constituants introduits dans le bac. Ces valeurs constituent les valeurs de référence de chaque bac industriel.

- Analyses de référence sur les échantillonnages « bacs d'essai »

- 15 Après l'acquisition des spectres, une partie (représentant 1/8^{ème} de chaque bac d'élevage) est triée manuellement avec des tamis de différente taille de maille selon les différents constituants (déjections, insectes vivants, insectes morts et contaminants). Une fois chaque constituant isolé, la masse de ces derniers est mesurée et est exprimée en pourcentage
- 20 KPi « IMM » qui est exprimé en milligramme.

II- Détermination des modèles quantitatifs

- Le logiciel Vision utilisé pour l'acquisition des spectres mentionnée au point I, est également
- 25 utilisé pour traiter les données et développer des modèles quantitatifs.

- Prétraitement mathématique des spectres

- Différents prétraitements mathématiques ont été déterminés pour être appliqués aux spectres
- 30 obtenus au I, tels que : dérivée première, dérivée seconde, normalisation de type SNV (Standard Normal Variate) ou traitement de type Savinsky.

- Développement des modèles quantitatifs : jeu d'apprentissage

- 35 Après leur prétraitement mathématique, les spectres sont corrélés aux valeurs déterminées lors des analyses de référence au point I, grâce à une régression des moindres carrés partiels ou PLS (*Partial Least Square Regression*). La PLS implique le choix d'un certain nombre de facteurs (VL) : s'il n'y a pas assez de facteurs, cela conduit à une sous-modélisation et à une dégradation de la justesse, et à l'inverse, trop de facteurs induisent une sur-modélisation et
- 40 une dégradation de la robustesse du modèle.

Pour chaque indicateur de performance à déterminer (déjections, population d'insectes donnée, IMM, substrat nutritif et contaminants) la base de données (spectres et valeurs déterminées lors des analyses de référence associées) a été divisée en deux jeux :

- 45 - un jeu d'apprentissage constitué des spectres et valeurs déterminées lors des analyses de référence associées, pour 75 % des échantillons, et
- un jeu de validation externe constitué des spectres et valeurs déterminées lors des analyses de référence associées, pour le reste des échantillons (25 % des échantillons).

Des modèles sont établis avec l'ensemble des données du jeu d'apprentissage, en fixant le nombre maximum de facteurs de la PLS à 16 dans le logiciel qui établit ensuite lesdits modèles en faisant varier le nombre de facteurs de 1 à 16. Ensuite, le nombre de facteurs optimal à
5 utiliser pour la PLS est déterminé grâce à une validation croisée. Cette dernière est réalisée avec tout le jeu d'apprentissage.

Lors de la validation croisée, les données pour chaque échantillon (spectre et valeurs déterminées lors des analyses de référence associées) sont retirées à tour de rôle du jeu
10 d'apprentissage et un modèle est élaboré avec les spectres et valeurs, déterminées lors des analyses de référence associées, des échantillons restants :

- Tout d'abord, les données d'un échantillon, c'est-à-dire son spectre et ses valeurs associées déterminées lors des analyses de référence, sont retirées du jeu d'apprentissage puis un modèle est établi avec les spectres et valeurs déterminées lors des analyses de référence
15 associées des échantillons restants.

- Ensuite, le modèle résultant est utilisé pour analyser le spectre de l'échantillon qui avait été retiré, c'est-à-dire pour prédire des valeurs quantitatives.

- Enfin, les valeurs prédites par le modèle (pour le spectre de l'échantillon retiré) sont soustraites des valeurs déterminées lors des analyses de référence associées à ce spectre,
20 puis leurs différences sont mises au carré et sommées ; ceci permet de calculer la somme résiduelle prédictive des carrés (PRESS ou Prediction Residual error – Sum of Squares) pour chaque facteur de la PLS. La valeur PRESS représente donc l'erreur de prédiction.

- Les données pour l'échantillon qui avaient été retirées du jeu d'apprentissage y sont alors réintroduites puis les étapes ci-dessus sont répétées en retirant les données pour un autre
25 échantillon.

Le nombre de facteurs ayant une valeur PRESS minimale est alors déterminé. Ceci permet donc d'obtenir un nombre de facteurs optimal à utiliser pour la PLS, et ce, pour chaque indicateur de performance à déterminer.

30 Les modèles établis qui présentent les meilleures performances (paramètres détaillés ci-après) sont conservés et leur robustesse est évaluée sur le jeu de validation externe.

Les différents paramètres qui sont utilisés pour choisir les meilleurs modèles lors de l'élaboration avec le jeu d'apprentissage sont les suivants :

35 - Coefficient de corrélation multiple R^2 : il correspond à l'adéquation entre les données prédites par le modèle et les valeurs déterminées lors des analyses de référence. Il doit tendre vers 1.

- Erreur standard de calibration SEC : cette valeur est un paramètre statistique, équivalant à un écart-type et reflétant la limite supérieure d'exactitude pour les futures prédictions. Elle doit être la plus faible possible.

40 - Erreur standard de validation croisée SECV : cette valeur correspond à la SEC lors de la validation croisée effectuée dans le jeu d'apprentissage, lors de la PLS. De préférence, la SECV doit avoir la valeur la plus proche possible de la SEC. Pour que le modèle ait une incertitude acceptable, il a été déterminé que la SECV doit être inférieure ou égale au double de l'écart-type associé aux valeurs déterminées lors des analyses de référence.

45

- Développement des modèles quantitatifs : validation externe

- Les données des échantillons du jeu de validation externe sont représentatives de la gamme des valeurs déterminées lors des analyses de référence. Ces données permettent d'évaluer la robustesse des modèles développés avec le jeu d'apprentissage qui présentent les meilleures performances et en étudiant les paramètres suivants :
- Coefficient de corrélation multiple R^2 : il correspond à l'adéquation entre les données prédites par le modèle pour le jeu de validation externe et les valeurs déterminées lors des analyses de référence. Il doit tendre vers 1.
 - Erreur standard de prédiction SEP : cette valeur est un paramètre statistique reflétant les résidus (ou erreurs de prédiction) obtenus par la prédiction du jeu de validation externe. Le cas idéal est $SEP \leq SECV$. Si ce n'est pas le cas ($SEP > SECV$), il faut veiller à ce que la SEP soit statistiquement inférieure ou égale à la SECV (soit $SECV < SEP \leq 1,3 \times SECV$).
 - Biais : le biais est la valeur moyenne de résidus (ou des erreurs de prédiction) calculé à partir des valeurs de référence des constituants du jeu de validation. Le biais doit être proche de 0, ce qui indique que les déviations sont distribuées aléatoirement. En revanche, une valeur de biais importante indique une erreur systématique, comme par exemple des changements de l'équipement, ou dans les analyses de référence. Ce biais peut alors être corrigé par le logiciel.
 - RPD : Le RPD signifie « *Relative Percent Difference* » et est un indicateur statistique comparant la précision de la calibration à la variabilité des données de références utilisées. Cette valeur permet donc d'évaluer la qualité de la prédiction faite par la calibration. Il est considéré qu'un RPD supérieur à 1,4 de préférence supérieur 2 est associé à une bonne prédiction et donc que le modèle est considéré comme suffisant. A l'inverse, une valeur RPD inférieure à 1,4 indique que le modèle n'est pas convenable.

Le modèle présentant les meilleures performances est sélectionné et détermine alors les paramètres de modélisation de la calibration finale.

Exemple 2 : Résultats des essais de calibration – Insectes vivants

- Développement du modèle pour la quantification des insectes vivants

- Les développements de modèles pour déterminer la quantité d'insectes vivants à un stade d'évolution particulier dans un milieu complexe donné (différents échantillonnages) ont été établis selon la méthode décrite à l'Exemple 1.

Ainsi, un prétraitement mathématique adéquat a été appliqué à chaque spectre obtenu.

- Il a été déterminé que le prétraitement mathématique adéquat pour l'indicateur de performance relatif aux insectes au stade larvaire dans l'échantillonnage A est une normalisation de type SNV suivie d'une dérivée première sur la plage spectrale de 1100 à 1600 nm. Les paramètres statistiques du jeu d'apprentissage et du jeu de validation externe permettent d'approuver un modèle à 13 facteurs (Fig. 1, A et B respectivement).

Il a été déterminé que le prétraitement mathématique adéquat pour l'indicateur de performance relatif aux insectes au stade larvaire, dans l'échantillonnage B, est une dérivée première sur la plage spectrale de 1100 à 1600 nm. Les paramètres statistiques du jeu d'apprentissage et

du jeu de validation externe permettent d'approuver un modèle à 12 facteurs (Fig. 2, A et B respectivement).

De plus, pour ce même échantillonnage B, il a été déterminé que le prétraitement mathématique adéquat pour l'indicateur de performance relatif aux insectes au stade de nymphe est une normalisation de type SNV, suivie d'une dérivée seconde suivie sur la plage spectrale de 1100 à 1600 nm. Les paramètres statistiques du jeu d'apprentissage et du jeu de validation externe permettent d'approuver un modèle à 9 facteurs (Fig. 3, A et B respectivement).

Il a été déterminé que le prétraitement mathématique adéquat pour l'indicateur de performance relatif aux insectes adultes dans l'échantillonnage C est une dérivée première sur la plage spectrale de 1100 à 1600 nm. Les paramètres statistiques du jeu d'apprentissage et du jeu de validation externe permettent d'approuver un modèle à 11 facteurs (Fig. 4, A et B respectivement).

Dans ce même échantillonnage C, il a été déterminé que le prétraitement mathématique adéquat pour l'indicateur de performance relatif aux insectes au stade de nymphe est une normalisation de type SNV, suivie d'une dérivée seconde sur la plage spectrale de 1100 nm à 1600 nm. Les paramètres statistiques du jeu d'apprentissage et du jeu de validation externe permettent d'approuver un modèle à 8 facteurs (Fig. 5, A et B respectivement).

Enfin, il a été déterminé que le prétraitement mathématique adéquat pour l'indicateur de performance relatif aux insectes au stade adulte dans l'échantillonnage D est une dérivée première sur la plage spectrale de 1100 à 1600 nm. Les paramètres statistiques du jeu d'apprentissage et du jeu de validation externe permettent d'approuver un modèle à 11 facteurs (Fig. 6, A et B respectivement).

Un résumé des résultats est présenté dans la Table 4 ci-dessous.

[Table 4]

Echantillonnage	KPi	Modèle de calibration			Modèle de validation			Incertitude	RP D
		R ²	SEC	SEC V	R ²	SEP	Biais		
A	Larves	0,9936	0,8472	1,3096	0,9958	1,0022	-0,4036	2,62	7,62
B	Larves	0,9828	1,5456	1,874	0,987	1,8005	0,2876	3,75	6,02
	Nymphes	0,9	0,6936	0,939	0,8883	0,969	-0,0757	1,88	2,25

C	Adultes	0,974 5	1,102 8	1,545 4	0,956 8	1,833 7	- 0,487 4	3,09	4,1 8
	Nymphes	0,939 8	0,323 7	0,399 4	0,955 6	0,387 4	0,045 6	0,80	3,2 2
D	Adultes	0,990 9	0,933 6	1,327 8	0,994 6	1,048 3	0,335 9	2,66	7,0 2

On notera que dans le cas B ci-dessus, si les larves constituent la population d'insectes vivants au sens de la présente invention alors les nymphes sont un constituant du milieu complexe en tant qu'insectes à au moins un stade de développement différent d'au moins un insecte de la population d'insectes vivants ; ou vice versa. De même, dans le cas C ci-dessus, si les nymphes constituent la population d'insectes vivants au sens de la présente invention alors les adultes sont un constituant du milieu complexe en tant qu'insectes à au moins un stade de développement différent d'au moins un insecte de la population d'insectes vivants ; ou vice versa. Ces deux populations sont toutefois constituées d'insectes vivants.

En conclusion, pour chaque modèle obtenu, les coefficients de corrélation R^2 du jeu d'apprentissage d'une part et du jeu de validation externe d'autre part sont très élevés.

La corrélation entre les valeurs calculées et les valeurs déterminées par les analyses de référence, selon chaque modèle développé, est très forte.

Pour chaque modèle relatif à une population d'insectes vivants donnée, les valeurs RPD sont toujours supérieures à 2 et sont très élevées témoignant ainsi de la bonne qualité de prédiction des modèles sur les gammes développées.

L'incertitude de mesure représente l'erreur maximale associée à la prédiction de la quantité massique d'une population d'insectes vivants donnée. Les valeurs obtenues sont relativement faibles.

Ces résultats confirment que l'analyse par spectrométrie NIRS est une méthode adéquate pour déterminer une valeur quantitative d'une population d'insectes vivants dans un milieu complexe comprenant notamment des déjections, du substrat et/ou des insectes morts.

Par ailleurs, les résultats indiquent que la méthode selon le procédé de l'invention permet de distinguer différentes populations d'insectes vivants bien que ces derniers soient mobiles dans le milieu complexe, et ceci sans manipulation de l'échantillon au préalable.

Les résultats de l'échantillonnage D démontrent que la méthode selon le procédé de l'invention peut être utilisée lorsque les insectes sont élevés sur des grilles métalliques et donc que la présence d'une grille métallique n'affecte pas les résultats.

Exemple 3 : Résultats des essais de calibration – Déjections

- Développement du modèle pour la quantification des déjections

5

Le développement de modèles pour déterminer la quantité de déjections a été fait selon la méthode décrite à l'Exemple 1.

Un prétraitement mathématique adéquat est appliqué à chaque spectre obtenu.

10

En particulier, il a été déterminé que le prétraitement mathématique adéquat pour l'indicateur de performance relatif aux déjections dans l'échantillonnage A est une normalisation de type SNV suivie d'une dérivée seconde sur la plage spectrale de 1100 à 1600 nm. Les paramètres statistiques du jeu d'apprentissage et du jeu de validation externe permettent d'approuver un modèle à 9 facteurs (Fig. 7, A et B respectivement).

15

Il a été déterminé que le prétraitement mathématique adéquat pour l'indicateur de performance relatif aux déjections dans l'échantillonnage B est une normalisation de type SNV suivie d'une dérivée première sur la plage spectrale de 1100 nm à 1600 nm. Les paramètres statistiques du jeu d'apprentissage et du jeu de validation externe permettent d'approuver un modèle à 14 facteurs (Fig. 8, A et B respectivement).

20

Un résumé des résultats est présenté dans la Table 5 ci-dessous.

25

[Table 5]

Echantillonnage	KPi	Modèle de calibration			Modèle de validation			Incertitude	RP D
		R ²	SEC	SEC V	R ²	SEP	Biais		
A	Déjections	0,9945	0,4394	0,5799	0,9931	0,6918	0,2878	1,16	9,65
B	Déjections	0,9897	0,6714	1,1017	0,9877	1,0033	-0,2975	2,20	5,63

En conclusion, pour chaque modèle obtenu, les coefficients de corrélation R² du jeu d'apprentissage d'une part et du jeu de validation externe d'autre part sont très élevés.

Echantillonna ge	KPi	Modèle de calibration			Modèle de validation			Incertitu de	RP D
		R ²	SEC	SEC V	R ²	SEP	Biais		

A	Substrat nutritif	0,9941	0,4431	0,6565	0,997	0,4668	0,0645	1,31	8,53
B	Substrat nutritif	0,9815	0,8742	1,148	0,9846	1,1156	0,1301	2,3	5,41
C	Substrat nutritif	0,9078	1,4189	1,9498	0,9304	1,6883	0,1056	3,90	2,32

Pour chaque modèle obtenu, les coefficients de corrélation R^2 du jeu d'apprentissage d'une part et du jeu de validation externe d'autre part sont très élevés.

- 5 Pour chaque modèle relatif au substrat nutritif, les valeurs RPD sont toujours supérieures à 2 et sont relativement élevées témoignant ainsi de la bonne qualité de prédiction des modèles sur les gammes développées.

10 L'incertitude de mesure représente l'erreur maximale associée à la prédiction de la quantité de substrat nutritif. Les valeurs obtenues sont relativement faibles.

15 Ces résultats confirment que l'analyse par spectrométrie NIRS est une méthode adéquate pour déterminer de façon fiable la valeur quantitative d'un substrat nutritif dans différents milieux complexes comprenant des insectes vivants à différents stades d'évolution, des déjections et/ou des insectes morts.

Exemple 5 : Résultats des essais de calibration – Insectes morts

- 20 • Développement du modèle pour la quantification d'insectes morts

Le développement de modèles pour déterminer la quantité massique d'insectes morts dans un milieu complexe a été fait selon la méthode décrite à l'Exemple 1.

25 Un prétraitement mathématique adéquat est appliqué à chaque spectre obtenu.

30 Il a été déterminé que le prétraitement mathématique adéquat aux spectres issus de l'échantillonnage A est une normalisation de type SNV, suivie d'une dérivée première sur la plage spectrale de 1100 à 1600 nm. Les paramètres statistiques du jeu d'apprentissage et du jeu de validation externe permettent d'approuver un modèle à 11 facteurs (Fig. 12, A et B respectivement).

35 Il a été déterminé que le prétraitement mathématique adéquat aux spectres issus de l'échantillonnage B est une normalisation de type SNV, suivie d'une dérivée seconde sur la plage spectrale de 1100 à 1600 nm. Les paramètres statistiques du jeu d'apprentissage et du jeu de validation externe permettent d'approuver un modèle à 13 facteurs (Fig. 13, A et B respectivement).

Il a été déterminé que le prétraitement mathématique adéquat des spectres acquis sur l'échantillonnage C est une dérivée seconde sur la plage spectrale de 1100 à 1600 nm. Les

paramètres statistiques du jeu d'apprentissage et du jeu de validation externe permettent d'approuver un modèle à 6 facteurs (Fig. 14, A et B respectivement).

Enfin, il a été déterminé que le prétraitement mathématique adéquat des spectres acquis sur l'échantillonnage D est une normalisation de type SNV, suivie d'une dérivée première sur la plage spectrale de 1100 à 1600 nm. Les paramètres statistiques du jeu d'apprentissage et du jeu de validation externe permettent d'approuver un modèle à 10 facteurs (Fig. 15, A et B respectivement).

Un résumé des résultats est présenté dans la table 7 ci-dessous.

[Table 7]

Echantillonnage	KPi	Modèle de calibration			Modèle de validation			Incertitude de	RPD
		R ²	SEC	SEC V	R ²	SEP	Biais		
A	Insectes morts	0,9914	0,1254	0,1884	0,9904	0,1835	-0,0513	0,38	6,81
B	Insectes morts	0,9681	0,072	0,1394	0,9273	0,1606	-0,036	0,28	2,77
C	Insectes morts	0,973	1,4862	1,6046	0,9862	1,4814	0,0696	3,21	5,51
D	Insectes morts	0,9924	0,8393	1,3092	0,9946	1,0755	0,0963	2,62	7,12

En conclusion, pour chaque modèle obtenu, les coefficients de corrélation R² du jeu d'apprentissage d'une part et du jeu de validation externe d'autre part sont très élevés.

Pour chaque modèle relatif aux insectes morts, les valeurs RPD sont toujours supérieures à 2 et sont relativement élevées témoignant ainsi de la bonne qualité de prédiction des modèles sur les gammes développées.

L'incertitude de mesure représente l'erreur maximale associée à la prédiction de la quantité d'insectes morts. Les valeurs obtenues sont relativement faibles.

Ces résultats confirment que l'analyse par spectrométrie NIRS est une méthode adéquate pour déterminer de façon fiable la valeur quantitative d'insectes morts dans un milieu complexe comprenant notamment des insectes vivants à différents stades d'évolution, du substrat nutritif et/ou des déjections.

De plus, ces résultats démontrent que l'analyse par spectrométrie NIRS est une méthode adéquate pour distinguer des insectes morts des insectes vivants dans un milieu complexe.

Exemple 6 : Résultats des essais de calibration – Contaminants

- Développement du modèle pour la quantification des contaminants

5

Le développement de modèles pour déterminer la quantité de contaminants dans un milieu complexe a été fait selon la méthode décrite à l'Exemple 1.

10 Il a été déterminé que le prétraitement mathématique adéquat des spectres acquis de l'échantillonnage E est un traitement de type Savinsky, suivie d'une dérivée première sur la plage spectrale de 1100 à 1600 nm. Les paramètres statistiques du jeu d'apprentissage et du jeu de validation externe permettent d'approuver un modèle à 12 facteurs (Fig. 16, A et B respectivement).

15 Un résumé des résultats est présenté dans la Table 8 ci-dessous.

[Table 8]

Echantillonnage	KPi	Modèle de calibration			Modèle de validation			Incertitude	RPD
		R ²	SEC	SEC V	R ²	SEP	Biais		
E	Contaminants	0,9023	7,170	8,775	0,929	8,302	-1,39	15,68	2,85

20 En conclusion, les coefficients de corrélation R² du jeu d'apprentissage d'une part et du jeu de validation externe d'autre part sont très élevés.

La corrélation entre les valeurs calculées et les valeurs déterminées par les analyses de référence est très forte.

25 Dans le modèle relatif aux contaminants, la valeur RPD est supérieure à 2 ce qui témoigne de la bonne qualité de prédiction du modèle sur les gammes développées.

30 Ces résultats confirment que l'analyse par spectrométrie NIRS est une méthode adéquate pour déterminer de façon fiable la valeur quantitative de contaminants dans un milieu complexe comprenant notamment des insectes vivants, du substrat nutritif et des déjections.

Exemple 7 : Résultats des essais de calibration – IMM

- Développement du modèle pour la détermination de la masse moyenne individuelle dans la gamme de 1,03 mg à 42,86 mg

35

Le développement de modèles pour déterminer la masse moyenne individuelle des insectes dans un milieu complexe a été fait selon la méthode décrite à l'Exemple 1.

40 En particulier, il a été déterminé que le prétraitement mathématique adéquat pour l'indicateur IMM dans l'échantillonnage E dans la gamme de 1,03 mg à 42,86 mg est une dérivée première

sur la plage spectrale allant de 1100 à 1600 nm. Les paramètres statistiques du jeu d'apprentissage et du jeu de validation externe permettent d'approuver un modèle à 14 facteurs (Fig. 17, A et B respectivement).

- 5 Un résumé des résultats est présenté dans la Table 9 ci-dessous.

[Table 9]

Echantillonnage	KPi	Modèle de calibration			Modèle de validation			Incertitude	RPD
		R ²	SEC	SEC V	R ²	SEP	Biais		
E	IMM (1,03 mg à 42,86 mg)	0,922	2,8295	3,276	0,9133	3,8428	0,5073	6,56	2,87

- 10 En conclusion, les coefficients de corrélation R² du jeu d'apprentissage d'une part et du jeu de validation externe d'autre part sont très élevés.

En effet, la corrélation entre les valeurs calculées et les valeurs déterminées par les analyses de référence est très forte.

- 15 Dans le modèle relatif à la détermination de la masse moyenne individuelle des insectes, la valeur du RPD est supérieure à 2 ce qui témoigne de la bonne qualité de prédiction du modèle sur la gamme de 1,03 mg à 42,86 mg.

- 20 • Développement du modèle pour la détermination de la masse moyenne individuelle dans la gamme de 40,85 mg à 173,46 mg

Le développement de modèles pour déterminer la masse moyenne individuelle des insectes dans un milieu complexe a été fait selon la méthode décrite à l'Exemple 1.

- 25 Il a été déterminé que le prétraitement mathématique adéquat pour l'indicateur IMM dans l'échantillonnage E pour le développement d'un modèle dans la gamme de 40,85 mg à 173,46 mg est une normalisation du type SNV suivie d'une dérivée première sur la plage spectrale allant de 1100 à 1600 nm. Les paramètres statistiques du jeu d'apprentissage et du jeu de validation externe permettent d'approuver un modèle à 15 facteurs (Fig. 18, A et B respectivement).
- 30

Un résumé des résultats est présenté dans la Table 10 ci-dessous.

[Table 10]

Echantillonnage	KPi	Modèle de calibration			Modèle de validation			Incertitude	RPD
		R ²	SEC	SEC V	R ²	SEP	Biais		

E	IMM (40,85 mg à 173,4 6 mg)	0,90 5	9,28 1	11,68	0,95 2	8,90 2	- 1,54 7	21,54	2,66
---	---	-----------	-----------	-------	-----------	-----------	----------------	-------	------

En conclusion, les coefficients de corrélation R^2 du jeu d'apprentissage d'une part et du jeu de validation externe d'autre part sont très élevés.

- 5 En effet, la corrélation entre les valeurs calculées et les valeurs déterminées par les analyses de référence est très forte.

- 10 Dans le modèle relatif à la détermination de la masse moyenne individuelle des insectes, la valeur du RPD est supérieure à 2 ce qui témoigne de la bonne qualité de prédiction du modèle sur la gamme de 40,85 mg à 173,46 mg.

- 15 Ces résultats confirment que l'analyse par spectrométrie NIRS est une méthode adéquate pour déterminer la masse moyenne individuelle des insectes dans un milieu complexe comprenant notamment des insectes vivants à différents stades d'évolution, du substrat nutritif et/ou des insectes morts, et ce de manière non invasive.

REVENDEICATIONS

1. Procédé non destructif de détermination quantitative d'au moins un indicateur de performance d'un élevage d'une population d'insectes vivants dans un milieu complexe, ledit procédé comprenant les étapes suivantes :
 - (i) une étape d'irradiation du milieu complexe comportant la population d'insectes vivants avec une lumière comportant une ou plusieurs longueurs d'onde comprise(s) dans une gamme allant de 420 nm à 2500 nm,
 - (ii) une étape de collecte de la lumière réfléchie par le milieu complexe afin d'obtenir un spectre de réflexion du milieu, et
 - (iii) une étape de corrélation dudit spectre à une valeur quantitative d'au moins un indicateur de performance.
2. Procédé selon la revendication 1, dans lequel le milieu complexe comprend au moins deux constituants différents autres que la population d'insectes vivants.
3. Procédé selon la revendication 2, dans lequel les au moins deux constituants différents sont choisis parmi un substrat et des déjections.
4. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, dans lequel le milieu complexe comprend au moins un insecte à au moins un stade de développement différent d'au moins un insecte de la population d'insectes vivants.
5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, dans lequel le milieu complexe comprend au moins un insecte mort.
6. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, dans lequel l'indicateur de performance est choisi parmi une quantification d'une population d'insectes, d'un substrat, des déjections, d'un contaminant, et/ou une masse moyenne individuelle des insectes.
7. Procédé selon la revendication 6, dans lequel l'indicateur de performance est une quantification des déjections.
8. Procédé selon la revendication 6, dans lequel l'indicateur de performance est une quantification d'une population d'insectes.
9. Procédé selon la revendication 8, dans lequel la population d'insectes est constituée par les insectes morts.
10. Procédé selon la revendication 8, dans lequel la population d'insectes est constituée par des insectes vivants à un stade de développement donné.
11. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, comportant en outre, après l'étape (ii) de collecte et avant l'étape (iii) de corrélation, une étape de traitement mathématique du spectre de réflexion comprenant une dérivée première, une dérivée seconde, un traitement de type Savinsky et/ou une normalisation de type SNV.
12. Utilisation du procédé tel que défini à l'une quelconque des revendications 1 à 11, pour effectuer le suivi de croissance de la population d'insectes vivants, pour déterminer l'efficacité d'une machine de tri et/ou pour déterminer l'efficacité des équipements de nourrissage de la population d'insectes vivants.
13. Utilisation d'un spectrophotomètre pour la détermination quantitative d'au moins un indicateur de performance d'une population d'insectes vivants dans un milieu complexe.
14. Utilisation selon la revendication 13, dans laquelle l'indicateur de performance est choisi parmi une quantification d'une population d'insectes, d'un substrat, des déjections, d'un contaminant, et/ou une masse moyenne individuelle des insectes.