

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة البليدة 1
UNIVERSITE DE BLIDA 1



Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département des Sciences Alimentaires
Laboratoire de Recherche en Sciences, Technologies Alimentaires et Développement
Durable

THESE
En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat D-LMD
Spécialité : Agro-alimentaire et Contrôle de Qualité

Par
HANAFI Tahar
حنافي طاهر

Thème

ALTERNATIVES D'EXPLOITATION DES EFFLUENTS LIQUIDES D'UNE
ENTREPRISE LAITIÈRE PAR PRODUCTION DE COMPOSÉS À VALEURS
AJOUTÉES POUR L'AGRICULTURE ET L'AGRO-ALIMENTAIRE

Devant le jury composé de :

F. AMMAD	Professeur,	Université de Blida 1	Présidente
K. ACEM	Professeur,	Université de Tiaret	Examineur
A. RAHALI	MCA,	Université de M'sila	Examineur
H. BELMESKINE	Professeur,	Université de Blida 1	Examinatrice
S. MEGATELI	Professeur,	Université de Blida 1	Directeur de thèse
Z. MEZIANE	MCB,	Université de Blida 1	Co-Directrice de thèse
B. MOUSSAOUI	MCA,	Université de Tissemsilt	Invité

BLIDA, 2025

(الطعم، القوام، والرائحة) مما عزز إمكانية قبولها من طرف المستهلكين بتنقيط 7 من 9 نقاط على سلم التقييم الحسي.

كما تميزت هذه المشروبات بثبات ميكروبيولوجي جيد وحيوية بروبيوتكية عالية (أكثر من 7.70 لغ¹⁰ وحدة مكونة للمستعمرات/مل) خلال التخزين عند 4-6 °م لمدة 28 يوماً، رغم الانخفاض التدريجي في المركبات النشطة بيولوجياً مثل البوليفينولات (من 1.63 ± 36.11 إلى 2.67 ± 33.77 ، من 3.5 ± 35.97 إلى 2 ± 33.01 ، ومن 3.35 ± 35.44 إلى 4.15 ± 32.89 مغ مكافئ حمض القاليك/لتر).

تبرز هذه النتائج بوضوح إمكانية إنتاج منتجات جديدة قائمة على مصل الحليب ذات فوائد غذائية وصحية للمستهلك.

الكلمات المفتاحية: مخلفات، مصل الحليب، *Hermetia illucens*، بروبيوتيك، استدامة.

RÉSUMÉ

La présente étude a porté sur l'examen de deux stratégies innovantes pour valoriser un effluent riche en lactosérum. La première consistait à utiliser le lactosérum comme substrat pour l'élevage des larves de la mouche soldat noir (*Hermetia illucens*). Des larves âgées de cinq jours, réparties en quatre lots de 200 larves chacune, ont été placées dans des boîtes en plastique (11,5 × 9 × 4 cm) contenant différents régimes alimentaires : marc de café (MC), marc de café et lactosérum acide (MCLA), marc de café et lactosérum doux (MCLD), marc de café et lactosérum fermenté (MCLF). Chaque traitement a été répété trois fois. Le poids final des larves, le taux de survie, le taux de croissance, l'indice de réduction des déchets, la digestibilité approximative et le taux de conversion de la biomasse ont été déterminés. La composition nutritionnelle des larves de BSF, du marc de café et du résidu a également été analysée.

La seconde stratégie a porté sur la formulation, et l'évaluation des propriétés fonctionnelles et nutritionnelles, d'une boisson synbiotique à base de lactosérum combiné avec du lait de soja, édulcorée avec du sirop de datte comme édulcorant naturel et inoculée avec le probiotique *Bacillus subtilis*.

Les résultats obtenus montrent que l'utilisation de l'effluent laitier stimule significativement la croissance larvaire par rapport au témoin, favorise la diminution de la matière sèche résiduelle (26,73±0,81 vs 16,87±0,37 %), améliore significativement les taux de conversion de la biomasse (17,94±0,47 vs 11,65±0,52 %) et produit des résidus (frass) à composition minérale intéressante. Les larves obtenues présentent une biomasse riche en protéines (40,11±0,40 vs 34,18±0,50 %) et en graisses (36,06±0,26 vs 37,87±0,24 %), adaptées à l'alimentation animale. La composition minérale, notamment en phosphore (66,37±0,24 vs 37,12±0,23 ppm), ainsi que le pH final du frass, proche de la neutralité à légèrement basique (7,1±0,04 à 7,60±0,04), justifient l'utilisation des résidus issus de la bioconversion comme bio-engrais en agriculture.

Les boissons ainsi formulées ont montré des propriétés intéressantes : amélioration de la valeur nutritionnelle, caractérisée par une meilleure qualité des protéines d'origine mixte (animale et végétale), activité antioxydante accrue attribuée à la présence de composés phénoliques (35,87±3,9 à 36,65±1,63 mg EAG/L), ainsi que des caractéristiques sensorielles

acceptables (goût, texture et arôme), favorisant leur acceptation globale par les consommateurs (environ 7 points sur l'échelle hédonique à 9 points).

Elles présentent également une bonne stabilité microbiologique et une viabilité probiotique satisfaisante (supérieure à $7,70 \log_{10}$ UFC/mL) durant la conservation à 4–6 °C pendant 28 jours, malgré une diminution des composés bioactifs tels que les polyphénols (de $36,11 \pm 1,63$ à $33,77 \pm 2,67$; de $35,97 \pm 3,5$ à $33,01 \pm 2$; et de $35,44 \pm 3,35$ à $32,89 \pm 4,15$ mg EAG/L pour les trois boissons A, B et C, respectivement). Ces résultats mettent en évidence le potentiel de production de nouveaux produits à base de lactosérum, présentant des bénéfices nutritionnels et fonctionnels pour le consommateur.

Mots-clés : Effluents, lactosérum, *Hermetia illucens*, probiotique, durabilité.

TITLE

**ALTERNATIVE USES OF LIQUID EFFLUENTS FROM A DAIRY COMPANY
THROUGH THE PRODUCTION OF VALUE-ADDED COMPOUNDS FOR
AGRICULTURE AND THE AGRO-FOOD INDUSTRY**

ABSTRACT

This study investigated two innovative strategies for valorizing a whey-rich effluent. The first strategy involved using whey as a substrate for rearing black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. Five-day-old larvae, distributed into four groups of 200 larvae each, were placed in plastic boxes ($11.5 \times 9 \times 4$ cm) containing different feeding substrates: spent coffee ground (SCG), spent coffee grounds with acidic whey (AW), spent coffee grounds with sweet whey (SW), and spent coffee grounds with fermented whey (FW). Each treatment was replicated three times. Final larval weight, survival rate, growth rate, waste reduction index, approximate digestibility, and biomass conversion rate were determined. The nutritional composition of BSF larvae, coffee grounds, and residual material was also analyzed.

The second strategy focused on the formulation and assessment of the functional and nutritional properties of a synbiotic beverage based on whey combined with soy milk, sweetened with date syrup as a natural sweetener, and inoculated with the probiotic *Bacillus subtilis*.

The results demonstrated that the use of dairy effluent significantly stimulated larval growth compared to the control, promoted a reduction in residual dry matter (26.73 ± 0.81 vs 16.87 ± 0.37 %), improved biomass conversion rates (17.94 ± 0.47 vs 11.65 ± 0.52 %), and produced residues (frass) with valuable mineral content. The larvae yielded a biomass rich in protein (40.11 ± 0.40 vs 34.18 ± 0.50 %) and fat (36.06 ± 0.26 vs 37.87 ± 0.24 %), suitable for animal feed. Mineral composition, especially phosphorus (66.37 ± 0.24 vs 37.12 ± 0.23 ppm), along with the final frass pH ranging from neutral to slightly basic (7.1 ± 0.04 to 7.60 ± 0.04), highlighted the potential use of bioconversion residues as biofertilizers in agriculture.

The formulated beverages exhibited promising properties, including improved nutritional value characterized by better quality of mixed-origin proteins (animal and plant), enhanced antioxidant activity due to phenolic compounds (35.87 ± 3.9 to 36.65 ± 1.63 mg GAE/L), as

well as acceptable sensory attributes (taste, texture, and aroma), supporting their overall consumer acceptance (around 7 points on a 9-point hedonic scale).

They also showed good microbiological stability and high probiotic viability (more than 7.70 log₁₀ CFU/mL) during storage at 4–6 °C for 28 days, despite a gradual decrease in bioactive compounds such as polyphenols (from 36.11±1.63 to 33.77±2.67, from 35.97±3.5 to 33.01±2, and from 35.44±3.35 to 32.89±4.15 mg GAE/L for beverages A, B, and C, respectively). These findings clearly demonstrate the potential of producing new whey-based products with nutritional and functional benefits for consumers.

Keywords: Effluents, whey, *Hermetia illucens*, probiotic, sustainability.

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, il est primordial de remercier « ALLAH » le Tout-Puissant de tout ce qu'il m'apporte dans la vie et de m'avoir donné la force, la volonté et la santé pour terminer ce travail.

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à mon directeur de thèse ; Monsieur, MEGATELI Smain, Professeur à la faculté des Sciences de la Nature et de la vie de l'université Saad Dahlab-Blida1 et ma Co-directrice; Docteur, MEZIANE Zoubida, maitre de conférences au niveau de la faculté des Sciences de la Nature et de la vie de l'université Saad Dahlab-Blida1, pour leurs qualités humaines, pour leurs savoir-faire, leurs conseils, leur patience, leurs enthousiasme et l'attention particulière avec laquelle ils ont suivi, orienté, dirigé et réaliser cette fabuleuse aventure.

Je souhaite remercier Madame, F. AMMAD, Professeur au niveau de la faculté des Sciences de la Nature et de la vie de l'université Saad Dahlab-Blida1, d'avoir accepté de présider le jury d'évaluation du présent travail. Merci également à Madame, H. BELMESKINE, Professeur au niveau de la faculté des Sciences de la Nature et de la vie de l'université Saad Dahlab-Blida1 ainsi que Monsieur, K. ACEM, Professeur à la faculté des Sciences de la Nature et de la vie de l'université de Tiaret et Monsieur, A. RAHALI, maitre de conférences au niveau de la faculté des Sciences de la Nature et de la vie de l'université de M'sila, d'avoir accepté de faire part du jury d'expertise et d'évaluation.

Un immense merci à Monsieur, MOUSSAOUI Badr Eddine, maitre de conférences à l'université de Tissemsilt pour son support, sa confiance et son encouragement qui m'a continuellement porté vers l'avant durant tout au long de ce travail.

Mes sincères remerciements vont également à Monsieur, BENAÏSSA Toufik maitre de conférences à l'université de Tiaret qui m'a intéressé au monde de la recherche lors de la réalisation d'expérimentations.

Je tiens à remercier Professeur SASI M. Doyen de la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Ibn Khaldoun-Tiaret, pour m'avoir autorisé à accéder aux laboratoires de la faculté pour réaliser une partie de mes expérimentations.

Un énorme merci au Monsieur GUEMOU Laid maitre de conférences à l'université de Tissemsilt pour les analyses statistiques.

Je remercie aussi les ingénieurs de laboratoires pédagogiques des sciences alimentaires, de biochimie et de microbiologie de la faculté SNV Tiaret ; REGHIOUI Bachir, AOUALI Houari, BENHALIMA Ahmed, KHAN Mohamed, CHAIB Maarouf, BENSAID Abdelkader, ainsi que les membres de laboratoire de recherche Sciences, Technologies Alimentaires et Développement Durable (STADD).

Je remercie aussi le directeur et les ingénieurs de laboratoires de recherche de physiologie végétale appliquée aux cultures hors sol, faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Ibn Khaldoun-Tiaret.

Je remercie également les ex-étudiantes ; BAGHDAD Wafaa, BELKHADEM Khaoula Ikram et MEDJADI Iman pour leur aide précieuse dans la réalisation des différentes expérimentations.

Je remercie le directeur et les ingénieurs de laboratoires de contrôle de qualité et de la repression des fraudes de Tiaret.

Je remercie également les ingénieurs ; BELKERCHA K., KERROUCHI DJ., et BENCHIHA M. et les responsables de la laiterie GIPLAIT Tiaret ainsi que HADJI N. de la laiterie El Manbaa GIPLAIT de Saida.

Un grand merci à mes collègues de travail ; BOUSSETA Ismail, YASSINI Mohamed, NACERI Bachir, DJEDDOU Kader et tous les membres de l'unité de médecine préventive de la résidence universitaire Assia Kébir-DOU Tiaret.

Mes remerciements s'adressent à BEKKAR Mahmoud qui m'a fourni la mouche soldat noir et qui m'a aidé durant son élevage.

Certainement par peur d'en oublier certains, je remercie l'ensemble de mes amis qui m'ont encouragé durant cette thèse. Un merci tout particulier à OUACEL Sofiane, HEDIA Mohamed, BOUDJELLA Abed, BENKHELIFA Said, CHAHBI Tayeb, HAMMADI Hakim et BENAZZOUZ Hakim.

Je tiens à remercier ma mère et mon père pour leur soutien continu.

Merci à l'ensemble de ma grande famille, de ma petite belle-famille et plus particulièrement à mes frérots ainsi qu'à ma mère et mon père qui m'ont toujours guidé, accompagné et conseillé lors de mes différentes prises de décision.

Merci à ma chère femme d'être toujours avec moi et sans qui ma vie ne serait pas aussi belle.

Un merci du fond cœur à mes petites belles filles qui ont accompagné durant l'élevage de la mouche BSF.

Enfin, je remercie vivement toutes les personnes ayant contribué directement ou indirectement, de près ou de loin à la réalisation ce travail de thèse.

HANAFI Tahar

Blida, Novembre 2025

Dédicaces

A ma grand-mère

A mes chers parents

A mon épouse et à mes enfants : Amira, Hakima et Mohamed El Fatih

A mes frères et sœurs et à toute ma famille

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Tahar

LISTE DES ABREVIATIONS

- **ADS** : Algérie Press Service
- **AFNOR** : Agence Française de Normalisation
- **ANOVA** : Analyses de la variance.
- **AOAC**: Association of Official Analytical Chemists
- **AT**: Acidité titrable
- **ATCC**: American Type Culture Collection
- **BSF**: Black Soldier fly
- **C/N** : Rapport Carbone sur l'azote
- **DA** : Dinar Algérien
- **DBO** : Demande Biologique en Oxygène
- **DCO** : Demande Chimique en Oxygène
- **DEP** : Direction des Etudes et de la Prospective
- **DPPH** : 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle
- **E. coli** : *Escherichia Coli*
- **EAG** : Équivalent Acide Gallique
- **EAT** : Épicatéchine-3-gallate
- **EGC** : Équivalent Acide Tannique
- **EQ** : Équivalent quercétine
- **ERO** : Espèces réactives vis-à-vis de l'oxygène
- **ET**: Ecart-type

- **FAO**: Food and Agriculture Organisation of the United Nations.
- **HPLC** : Chromatographie liquide a haute performance.
- **IC₅₀** : la concentration inhibitrice de 50% de radical DPPH
- **INRA** : Institut national de la recherche agronomique
- **IPL** : Isolats de Protéines de Lactosérum
- **IR** : Indice de Réfraction
- **ISO** : International Organization for Standardization
- **J C** : Jesus-Christ
- **JORA** : Journal officiel de la République Algérienne
- **LA** : Lactosérum Acide
- **LD** : Lactosérum Doux
- **LF** : Lactosérum Fermenté
- **MS** : Matières sèches
- **MADR** : Ministère de l'Agriculture et de Développement Durable
- **MC** : Marc de Café
- **ND** : Non déterminé
- **ONIL** : Office National Interprofessionnel du Lait
- **ONS** : Office National des statistiques
- **p** : probabilité
- **p/v** : Rapport Poids/Volume
- **PIB** : Produit Intérieur Brut

- **ppm** : Partie Par Million
- **S** : Sud
- **TCA** : Taux de Conversion Alimentaire
- **TCB** : Taux de Conversion de la Biomasse
- **TSS** : Taux de solides solubles
- **UFC** : Unité Formant Colonie
- **UPLC**: Ultra Performance LiquidChromatography
- **WHO**: World Health Organization

LISTE DES FIGURES

Figure1: Techniques de séparation des constituants du lactosérum.....	17
Figure 2: Cycle de vie de la mouche <i>Hermetia illucens</i> (Singh et Kumari, 2019).....	24
Figure 3: Facteurs influençant la croissance et la performance d' <i>Hermetia illucens</i> (Kim et al., 2021).....	28
Figure 4: Les différents produits résultant du traitement de déchets organiques par la mouche soldat noir (BSF) (Siddiqui et al., 2024).....	29
Figure 5: Principaux effets bénéfiques de probiotiques sur la santé (Maftei et al., 2024).....	34
Figure 6: Effets des prébiotiques sur différents organes chez l'homme (Kaur et al., 2021).....	38
Figure 7: Diagramme de fabrication des boissons synbiotiques (A, B et C) et paramètres contrôlés durant la conservation à 4°C.....	58
Figure 8: La matière sèche (moyenne \pm Ecart-type) des larves BSF nourries avec différents régimes.....	67
Figure 9: Temps de croissance des larves BSF (moyenne \pm Ecart-type) nourries par différents régimes.....	68
Figure 10: Taux de survie (moyenne \pm Ecart-type) des larves BSF nourries par différents régimes.....	68
Figure 11: Taux de croissance (moyenne \pm Ecart-type) des larves BSF nourries avec différents régimes	69
Figure 12: Performances larvaires basées sur le taux de réduction du substrat (moyenne \pm Ecart-type) et l'indice de réduction des substrats des larves BSF nourries par différents régimes.....	70
Figure 13: Digestibilité Approximative (DA), le Taux de Conversion de la Biomasse (TCB) et le Taux de Conversion Alimentaire (TCA) (moyenne \pm Ecart-type) des larves BSF nourries avec différents régimes.....	71
Figure 14: Variation de pH et d'acidité titrable (moyenne \pm Ecart-type) des trois boissons A, B et C en fonction de durée de conservation à 4°C.....	87

Figure 15: Variation des taux des solides solubles et l'indice de réfraction (moyenne \pm Ecart-type) des trois boissons A, B et C pendant la conservation à 4°C.....	88
Figure 16: Evolution de la densité (moyenne \pm ET) des Boissons A, B et C durant la conservation à 04°C.....	89
Figure 17: Variation des concentrations des polyphénols totaux (moyenne \pm Ecart-type) des boissons A, B et C durant la conservation à 04°C.....	89
Figure 18: Variation des concentrations des flavonoïdes (moyenne \pm Ecart-type) des boissons A, B et C pendant la conservation à 04°C.....	90
Figure 19: Variation des concentrations des tannins hydrosolubles (moyenne \pm Ecart-type) des boissons A, B et C pendant la conservation à 04°C.....	91
Figure 20: Variation des concentrations de l'activité antioxydante (moyenne \pm Ecart-type) des boissons A, B et C pendant la conservation à 04°C.....	92
Figure 21: Evolution de la viabilité cellulaire de <i>Bacillus subtilis</i> (moyenne \pm Ecart-type) des trois boissons A, B et C durant le stockage à 04°C	94
Figure 22: Radars de l'évaluation organoleptique des boissons synbiotiques A, B et C durant quatre semaines de conservation à 04°C.....	95

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Composition du lactosérum acide et doux (Ganju & Gogate, 2017 ; Nishanthi et al., 2017).....	12
Tableau 2: Composition nutritionnelle moyenne (\pm Ecart-type) des larves BSF nourries avec des déchets alimentaires (Kim et al., 2021).....	25
Tableau 3: Principaux organismes probiotiques fermentaires pour les aliments et boissons fermentés courants (Maftei et al., 2024; Marco et al., 2017).....	35
Tableau 4: Composition moyenne (\pm Ecart-type) du lactosérum acide, doux et fermenté.....	65
Tableau 5: Contenu moyen (\pm Ecart-type) du marc de café sur la base de la matière sèche.....	66
Tableau 6: Pourcentage moyen (\pm Ecart-type) de composition nutritionnelle des larves de BSF nourries par différents régimes.....	71
Tableau 7: Composition chimique moyenne (\pm Ecart-type) des résidus issus des larves de BSF nourries par différents régimes.....	72
Tableau 8: Composition nutritionnelle moyenne (\pm Ecart-type) du lactosérum doux, lait de soja et le sirop de datte.....	84
Tableau 9: Composition nutritionnelle moyenne (\pm Ecart-type) des boissons synbiotiques A, B et C.....	85
Tableau 10: Résultats des analyses microbiologiques (moyenne \pm Ecart-type) des trois boissons synbiotiques A, B et C pendant la période de stockage à 4°C.....	92

TABLE DES MATIERES

ملخص

Résumé

Abstract

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 1

Synthèse bibliographique

I.1. L'industrie laitière en Algérie : Développement, Défis et Perspectives.....	4
I.1.1. La production du lait en Algérie	5
I.1.1.1 Collecte, transformation, commercialisation et distribution du lait	6
I.1.1.2. Importance de l'industrie laitière dans l'économie algérienne.....	6
I.1.2. Politiques laitières nationales.....	7
I.1.3. Les défis de l'industrie laitière en Algérie.....	8
I.1.4. Les perspectives de développement du secteur laitier en Algérie.....	8
I.2. Effluents laitiers liquides.....	10
I.2.1. Transformation du lait.....	10
I.2.1.1. Composition du lactosérum:.....	11
I.2.1.2. Utilisations du lactosérum.....	13
I.2.1.3. Les opportunités d'utilisations des effluents laitiers.....	16
I.3. Recyclage et réutilisation des eaux usées laitières.....	17
I.4. Législation.....	19
II. La mouche soldat noir (<i>Hermetia illucens</i>).....	21
II.1. Généralités sur la mouche soldat noir (BSF).....	22

II.2. Morphologie et cycle de vie de la mouche soldat noir BSF.....	23
II.3. Composition nutritionnelle des larves BSF.....	24
II.4. Facteurs affectant la croissance et la performance de BSF	25
II.4.1. Effet de la température et de l'humidité.....	26
II.4.2. Effet du pH	26
II.4.3. Effet de l'environnement ombragé / lumineux.....	26
II.4.4. Effet de substrats (alimentation).....	27
II.4.5. Effet de la densité larvaire.....	27
II.5. Importance et application des larves BSF.....	28
III. Boissons probiotiques.....	31
III.1. Aliments fonctionnels.....	31
III.1.2. Probiotiques.....	32
III.1.2.1. Effets bénéfiques des probiotiques sur la santé.....	33
III.1.2.2. Souches probiotiques.....	34
III.1.3. Prébiotiques.....	36
III.1.3.1. Effets bénéfiques des prébiotiques pour la santé.....	37
III.1.4. Synbiotiques.....	38
III.1.5. Postbiotiques.....	39
III.1.6. Boissons fonctionnelles.....	39

Partie expérimentale : Matériel et Méthodes

Partie 1 : Bio-traitement du lactosérum par les larves de la mouche soldat noir *Hermetia illucens* (Black Soldier fly) (BSF)

I.1 Matériel.....	41
I.1.1 Matériel biologique.....	41
I.1.1.1 Larves de la mouche soldat noir	41
I.1.1.2 Substrats.....	41
I.2 Méthodes.....	42
I.2.1 Protocole expérimental.....	42
I.2.1.1 Préparation préliminaire des larves.....	42
I.2.1.2 Alimentation des larves âgées de cinq jours	42
I.2.2 Paramètres d'évaluation de la croissance et de la performance des larves de BSF.....	43
I.2.2.1 Le Poids final sec de larve	43
I.2.2.2 Le Taux de Survie (TS)	44

I.2.2.3 Le Taux de Croissance (TC).....	44
I.2.2.4 L'Indice de Réduction des Déchets (IRD) et Réduction des Déchets (RD).....	44
I.2.2.5 Digestibilité Approximative (DA).....	44
I.2.2.6 Taux de Conversion de la Biomasse (TCB) et Taux de Conversion Alimentaire (TCA). 45	
I.2.3. Analyses physico-chimiques de substrat, de la biomasse et du résidu.....	46
I.2.3.1. Détermination du pH	46
I.2.3.2. Détermination de l'acidité titrable.....	46
I.2.3.3. Détermination de l'extrait sec total	47
I.2.3.4. Dosage des cendres.....	47
I.2.3.4. Détermination de la conductivité électrique.....	48
I.2.3.5. Détermination de la matière grasse.....	48
I.2.3.5.1. Détermination de la matière grasse du lactosérum (méthode Gerber).....	48
I.2.3.5.2. Détermination de la matière grasse des larves BSF et du marc de café (Soxhlet).....	49
I.2.3.6. Dosage des protéines.....	50
I.2.3.7. Dosage de l'azote total par la méthode Kjeldahl.....	50
I.2.3.8. Dosage du lactose.....	51
I.2.3.9. Dosage des fibres brutes.....	52
I.2.3.10. Détermination de la teneur en glucides totaux.....	53
I.2.3.11. Dosage du carbone organique.....	53
I.2.3.12. Rapport C/N.....	54
I.2.3.13. Dosage du phosphore assimilable (Méthode de JORET-HEBERT).....	54

Partie expérimentale : Matériel et Méthodes (suite)

Partie 2 : Formulation et suivi du comportement d'une boisson synbiotique à base de lactosérum enrichie avec le lait de soja et édulcorée avec le sirop de datte

II. Matériel et méthodes.....	56
II.1. Matériel.....	56
II.1.1. Matériel biologiques.....	56
II.2. Méthodes.....	56
II.2.1. Protocole expérimental.....	56
II.2.1.1. Préparation du lait de soja.....	56
II.2.1.2. Préparation du sirop de dattes.....	57

II.2.1.3. Formulation de la boisson probiotique.....	57
II.2.2. Analyses physicochimiques.....	58
II.2.2.1. Détermination de taux de solides solubles.....	58
II.2.2.3. Densité.....	59
II.2.2.4. Détermination de l'acidité titrable de la mélasse de datte.....	59
II.2.3. Dosage des métabolites secondaires.....	60
II.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	60
II.2.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	60
II.2.3.3. Dosage des tanins hydrosolubles.....	61
II.2.4. Détermination de l'activité antioxydante.....	61
II.2.4. Analyses microbiologiques.....	62
II.2.4.1. Dénombrement de la viabilité de <i>Bacillus subtilis</i>	62
II.2.5. La surveillance de la salubrité microbiologique.....	62
II.2.5.1. Recherche de la flore aérobie mésophile totale.....	62
II.2.5.2. Recherche des levures et moisissures.....	63
II.2.5.3. Recherche des coliformes.....	63
II.2.6. Analyse sensorielle.....	63
II.3. Analyse statistique.....	64

Résultats et Discussion

Partie 1 : Bio-traitement du lactosérum par les larves de la mouche soldat noir *Hermetia illucens* (Black Soldier Fly Larvae) (BSFL)

III. Résultats.....	65
III.1. Composition biochimique des substrats.....	65
III.1.1. Composition nutritionnelle du lactosérum doux, acide et fermenté.....	65
III.1.2. Composition nutritionnelle du marc de café.....	66
III.2. Effet du lactosérum sur les paramètres de croissance des larves BSF.....	67
III.2.1. Masse sèche finale des larves.....	67
III.2.2. Temps de croissance des larves.....	67
III.2.3. Taux de survie	68
III.2.4. Taux de croissance.....	69
III.3. Effet du lactosérum sur les performances des larves BSF.....	69
III.3.1. Indice de réduction des substrats (IRS) et de réduction des substrats (RS).....	69
III.3.2. Taux de conversion de la biomasse, digestibilité approximative et taux de conversion alimentaire.....	70

III.4 Composition nutritionnelle des larves de BSF.....	71
III.5. Composition chimique des résidus (Frass).....	72
IV. Discussion.....	74
IV.1. Effet du lactosérum sur la croissance des larves de BSF.....	74
IV.2. Effet du lactosérum sur la performance des larves de BSF.....	76
IV.2.1. Réduction des déchets.....	76
IV.2.2. Digestibilité Approximative (DA).....	77
IV.2.3. Taux de Conversion de la Biomasse (TCB).....	77
IV.2.4. Taux de Conversion Alimentaire (TCA).....	78
IV.3.Composition nutritionnelle des larves de BSF.....	78
IV.4. Composition chimique des résidus.....	80
IV.5. Conclusion.....	83

Résultats et Discussion (Suite)

Partie 2 : Formulation et suivi du comportement d’une boisson synbiotique à base de lactosérum enrichie avec le lait de soja et édulcorée avec le sirop de datte

V.1. Résultats.....	84
V.1.1. Composition chimique des matières premières.....	84
V.1.2. Composition chimique des trois boissons synbiotiques.....	85
V.1.3. Suivi du comportement et de la stabilité des boissons durant l’entreposage à froid.....	87
V.1.3.1. Paramètres physicochimiques.....	87
V.1.3.1.1. pH et acidité titrable.....	87
V.1.3.1.2. Taux des solides solubles et indice de réfraction.....	87
V.1.3.1.3. Densité.....	88
V.1.3.2. Composés bioactifs.....	89
V.1.3.2.1. Polyphénols totaux.....	89
V.1.3.2.2. Flavonoïdes.....	90

V.1.3.2.3. Tannins hydrosolubles.....	90
V.1.3.3. Activité antioxydante (test DPPH).....	91
V.1.3.4. Qualité microbiologique des boissons synbiotiques.....	92
V.1.3.5. Suivi de la viabilité cellulaire de <i>Bacillus subtilis</i>	93
V.1.3.5. Évaluation de la qualité organoleptique.....	94
V.2. Discussion.....	96
V.2.1. Composition nutritionnelle des matières premières.....	96
V.2.3. Suivi de la stabilité des boissons durant l'entreposage à froid.....	98
V.2.3.1. Paramètres physicochimiques.....	98
V.2.3.1.1. pH et acidité titrable.....	98
V.2.3.1.2. Densité.....	99
V.2.3.1.3. Solides solubles totaux et indice de réfraction.....	99
V.2.3.2. Composés bioactifs.....	101
V.2.3.2.1. Polyphénols totaux.....	101
V.2.3.2.2. Flavonoïdes.....	102
V.2.3.2.3. Tannins hydrosolubles.....	103
V.2.3.3. Activité antioxydante.....	105
V.2.3.3 Qualité microbiologique des boissons synbiotiques.....	107
V.2.3.4. Suivi de la viabilité cellulaire de <i>Bacillus subtilis</i>	108
V.2.3.5. Évaluation de la qualité organoleptique.....	110
V.3. Conclusion.....	111

Conclusion générale.....	112
Références bibliographiques.....	114
Annexes.....	152
Rapports scientifiques.....	160

Introduction Générale

Introduction générale

En Industries agro-alimentaires, la filière lait et dérivés est la principale filière générant d'importantes quantités d'effluent, pouvant engendrer des effets environnementaux considérables (**Rajeshwari et al., 2000 ; Britz et al., 2006 ; Rivas et al., 2010 ; Domingos et al., 2017**). L'un des produits constituant les effluents laitiers, le lactosérum, un co-produit de l'industrie fromagère, de part les importantes quantités produites (environ 10 litres par kilogramme de fromage), est la substance la plus polluante en raison de sa richesse en matière organique, éléments minéraux et microorganismes (**Prazeres, 2012 ; Sommella et al., 2016**). Sa charge organique est très élevée se traduisant par une demande biologique en oxygène (DBO₅) élevée pouvant atteindre 40 000 mg/L (**Prazeres et al., 2012 ; Bosco et al., 2018 ; Barba, 2021**). En effet, son rejet dans le milieu naturel diminue le rendement des cultures, détruit la structure chimique et physique du sol et influence également la vie aquatique par l'épuisement de la teneur en oxygène dissout dans l'eau (**Rivas et al., 2010 ; Macwan et al., 2016 ; Sommella et al., 2016 ; Zandona et al., 2021**).

La maîtrise de la gestion du lactosérum devient de plus en plus obligatoire, pour les acteurs de la filière lait et dérivés, en raison de ses effets nocifs prouvés sur l'environnement, et aussi les pertes économiques considérables. En effet, la production mondiale de lactosérum a atteint environ 200 millions de tonnes en 2016, avec un taux d'augmentation annuel estimé à 3 %, ce qui accentue les défis liés à son élimination ou sa valorisation (**Salomone et al., 2017**). Dans ce contexte, le développement d'approches novatrices de traitement et de valorisation du lactosérum apparaît comme une solution prometteuse pour répondre simultanément aux enjeux environnementaux et économiques (**Panesar et al., 2007 ; Papargyropoulou et al., 2014**).

L'Algérie, comme plusieurs autres pays, ces dernières années, a connu un développement considérable du secteur laitier, sans pour autant trouver un moyen de valoriser ces sous produits comme le lactosérum (**Acem et al., 2019**). Ainsi, plusieurs lois ont été promulguées en Algérie pour protéger l'environnement contre la pollution liée aux rejets des effluents tout en obligeant les industriels à gérer leurs déchets solides et liquides. La récupération et/ou l'élimination des déchets doivent être effectuées dans des conditions conformes aux normes environnementales, sans mettre en danger la santé des personnes et

des animaux, ni poser de risque pour les ressources en eau, le sol, l'air, la faune ou la flore (JORA n°77, Loi n°01-19, 2001).

Aujourd'hui, et grâce aux différentes méthodes de valorisation, son emploi dans plusieurs domaines s'est considérablement élargi. En effet, le lactosérum est recherché comme matière première précieuse par ses composants (protéines, lactose et minéraux) et représente, ainsi, une opportunité pour la fabrication de nouveaux produits (Singh & Geetanjali, 2016 ; Deeth & Bansal, 2018).

Il existe de nombreuses techniques de traitement du lactosérum de fromage, mais la plupart d'entre elles sont très coûteuses (Tsakali et al., 2010). Récemment, la bio-raffinerie du lactosérum a pris une place importante pour la production des produits précieux tels que l'acide lactique et les bio-composés, ou pour diminuer sa décharge à risques (Pescuma et al., 2015 ; Lappa et al., 2019 ; Zotta et al., 2020). Dans ce contexte, le traitement des déchets alimentaires par recours aux insectes est progressivement plus reconnu comme une méthode biologique de traitement et de valorisation des déchets organiques à faible coût. Parmi ces insectes, l'utilisation de larves de mouche soldat noir (Black Soldier Fly Larvae ; BSFL) *Hermetia illucens* (Linneus, 1758) (Diptera : Stratiomyidae) pour le traitement des bio-déchets a reçu une attention considérable au cours de ces dernières années (Magee et al., 2021). Selon la littérature, les larves de BSF ont montré un potentiel prometteur dans la gestion de divers déchets organiques, y compris les sous-produits (Hadj Saadoun et al., 2020), le marc de café (Permana & Ramadhani, 2018; Fisher et al., 2021), les fumiers d'animaux (Oonincx et al., 2015a; Rehman et al., 2017a), les matières fécales humaines (Banks et al., 2014) et les déchets végétaux (Parra Paz et al., 2015 ; Sprangers et al., 2017). De plus, la décomposition rapide des déchets par les larves et le compost résultant présentent un fort potentiel en tant qu'alternative durable aux méthodes de compostage traditionnelles, avec des avantages supplémentaires tels que la suppression des agents pathogènes des plantes présents dans le sol (Widyastuti et al., 2021 ; Dehliz et al., 2023;).

La présente étude vise principalement deux objectifs, en premier lieu l'utilisation de la mouche soldat noir pour la bioversion du lactosérum comme un moyen de traitement biologique et caractériser le résidu obtenu pour une éventuelle utilisation en agriculture. En second lieu, la valorisation du lactosérum par son incorporation dans des nouvelles formulations, à valeurs ajoutées, pour l'alimentation humaine. En d'autres termes, valoriser le lactosérum par le biais des larves de la mouche soldat noire *Hermetia illucens* pour la

production d'une biomasse riche en protéines et en matière grasse comme alternative aux aliments des animaux et d'un composte organique utiliser comme biofertilisant, et développer une boisson synbiotique à base de lactosérum enrichie avec le lait de soja et édulcorée par le sirop de datte comme édulcorant naturel.

Cette thèse est structurée en deux parties ; la première concerne une synthèse bibliographique synthétisant l'essentiel sur l'industrie laitière en Algérie, les effluents laitiers liquides, la mouche soldat noir (*Hermetia illucens*) et les boissons probiotiques. La seconde partie, réservée aux travaux expérimentaux, composés de deux volets ; l'évaluation de la capacité d'*Hermetia illucens* à bioconvertir le lactosérum en produits utiles, et le suivi de la qualité physico-chimique et microbiologique, ainsi que la viabilité probiotique, d'une boisson fonctionnelle innovante pendant une durée de conservation de 28 jours à 4° C.

CHAPITRE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. L'industrie laitière en Algérie : Développement, Défis et Perspectives

L'industrie laitière en Algérie est un secteur clé de l'agroalimentaire, jouant un rôle important dans l'économie nationale. Elle est complexe, intégrant la production agricole, l'alimentation animale, l'élevage et la santé du bétail. Principalement axée sur la production, la transformation et la commercialisation de produits laitiers tels que le lait, le yaourt, le fromage et le beurre, elle nécessite une infrastructure spécialisée à chaque étape. Plusieurs grands groupes laitiers gèrent la collecte du lait cru, sa transformation et sa distribution (**Kouidri et al., 2018**).

Le lait occupe une place stratégique en Algérie, étant un aliment de base pour les Algériens, connus par leurs fortes consommations de produits laitiers (**Kacimi El Hassani, 2013 ; Srairi et al., 2013**). Le lait et ses dérivés représentent environ 18,4 % de la facture alimentaire annuelle, soit en moyenne 868 millions de dollars par an (**Makhlouf, 2015**). Le gouvernement algérien accorde une attention particulière à la filière laitière, qui a vu la production de lait cru passer de 1,5 milliard de litres en 2009 à 3,7 milliards en 2015, grâce aux politiques de soutien à la croissance économique (**Kouidri et al., 2018**).

Malgré cette augmentation, la production locale reste insuffisante face à une demande croissante. En 2016, la consommation annuelle par habitant a atteint 157 kg, contre seulement 35 kg en 1968 (**Bedrani & Bouaita, 1998 ; MADR, 2018**), cette hausse étant due aux subventions publiques visant à combler le déficit en protéines animales observé après l'indépendance. Actuellement, les Algériens consomment environ 5 milliards de litres de lait par an, tandis que la production nationale n'en couvre que 3,5 milliards litres (**Demmad, 2021**).

Cette situation oblige l'Algérie à importer environ 40 % de sa consommation sous forme de poudre de lait entier, faisant du pays le deuxième plus grand importateur de produits laitiers après la Chine (**Mendaci, 2023**). Les importations laitières du pays représentent 24 % de l'ensemble des importations laitières en Afrique en valeur (**Chatellier, 2019**). En 2019, les produits laitiers ont constitué 15,4 % de la valeur totale des importations alimentaires de l'Algérie, juste après les céréales qui représentaient 33,5 % (**DEP, 2020**).

La facture annuelle, d'importation de poudre de lait, malgré sa réduction en 2025 de 17 millions de dollars, reste élevée. Plus de 800 millions de dollars en 2022, avec une

importation de 180 000 tonnes par le secteur public représenté par l'Office National Interprofessionnel du Lait (ONIL) contre 200 000 tonnes par le secteur privé (APS, 2022 ; Boulahlib, 2023).

I.1.1. La production du lait en Algérie

La production laitière est un secteur stratégique pour l'agriculture, étant un fournisseur essentiel de protéines animales face à une population en croissance rapide et un créateur d'emplois et de richesses (Ouakli & Yakhlef, 2003). La production laitière algérienne repose principalement sur le cheptel bovin représentant environ 80% de la production nationale totale du lait cru, avec environ 932 875 de vaches laitières réparties sur des milliers de petites exploitations agricoles familiales et quelques grandes fermes (MADR, 2021). Malgré cette répartition, le rendement moyen par vache en Algérie reste faible comparé aux standards internationaux, avec des productions d'environ 10 à 12 litres par jour contre environ 25 à 30 litres dans des pays européens comme les Pays-Bas ou la France (Bouguerra, 2017 ; Khemici et al., 2019).

Malgré les efforts pour augmenter la production par l'importation de vaches à haut rendement, la demande nationale n'est pas satisfaite. La consommation laitière est élevée, influencée par les traditions alimentaires et la nutrition, mais aussi par le soutien de l'État. Grâce à ces mesures, la production de lait cru a presque triplé, passant de 1,5 milliard de litres en 2009 à plus de 3,9 milliards de litres en 2022. Selon Kacimi El Hassani (2013), la production nationale a atteint 3 milliards de litres en 2011, soit une augmentation de 84 % par rapport à l'an 2000, et elle a atteint 3.4 milliards de litres en 2019, mais reste insuffisante pour combler les besoins croissants (Sahali, 2023).

Les zones de production laitière en Algérie se distinguent par leur climat. La zone littorale et sublittorale, à climat humide, abrite 60 % du cheptel bovin et produit 63 % du lait, avec 60,9 % des surfaces fourragères. La zone agropastorale et pastorale, à climat semi-aride, représente 26 % du cheptel et de la production laitière, couvrant 31,8 % des surfaces fourragères. Enfin, la zone saharienne, à climat désertique, contient 14 % du cheptel et 11 % de la production laitière, avec seulement 7,3 % des superficies fourragères (Kaouche-Adjalane, 2015).

La faiblesse de la production locale de lait en Algérie est attribuée à plusieurs facteurs. Tout d'abord, le climat aride de certaines régions du pays limite la disponibilité des pâturages, réduisant ainsi les ressources naturelles pour l'élevage (**Makhlouf, 2015**). De plus, l'alimentation des troupeaux est de faible qualité, souvent dépendante d'importations de fourrage. Enfin, le secteur souffre d'un manque de modernisation des techniques d'élevage, avec une utilisation limitée des technologies comme la génétique moderne ou l'insémination artificielle, ce qui freine l'amélioration de la productivité (**Senoussi, 2008 ; Belhadia et al., 2014 ; Amellal, 2015**).

I.1.1.1 Collecte, transformation, commercialisation et distribution du lait

La collecte du lait en Algérie est majoritairement assurée par de grands groupes publics et privés, dont le groupe GIPLAIT, acteur clé dans la collecte, transformation et distribution des produits laitiers. Cependant, une part importante de la production laitière locale échappe aux circuits industriels formels, étant vendue directement par les petits éleveurs via des réseaux informels (**Bouguerra, 2017**).

Cependant, la transformation est dominée par des entreprises publiques comme GIPLAIT et des privées telles que Danone, Soummam, Hodna...ect, qui produisent une large gamme de produits (lait pasteurisé, yaourts, fromages). Des investissements récents dans la technologie ont permis d'améliorer la qualité des produits laitiers et de répondre à la demande croissante (**FAO, 2020**).

La distribution s'effectue à travers des détaillants, supermarchés et marchés informels, avec un rôle important des grandes surfaces commerciales. Le lait subventionné à 25 DA/litre est central dans la stratégie de distribution pour garantir l'accessibilité (**ONS, 2019**).

I.1.1.2. Importance de l'industrie laitière dans l'économie Algérienne

L'industrie laitière en Algérie est l'un des piliers essentiels du secteur agricole et agroalimentaire du pays. Elle joue un rôle prépondérant non seulement dans l'approvisionnement en produits laitiers, mais également dans l'économie nationale à travers la création d'emplois et la contribution au PIB agricole. Le secteur laitier joue effectivement un rôle crucial dans le développement rural, en particulier dans les zones où les opportunités économiques sont limitées. La production laitière, souvent assurée par de petites exploitations

familiales, permet non seulement de générer des revenus, mais aussi de créer des emplois et de soutenir la sécurité alimentaire (**Khemici et al., 2019**).

I.1.2. Politiques laitières nationales

La dépendance de l'Algérie aux importations de lait en poudre pose plusieurs défis économiques. En plus de rendre la filière vulnérable aux fluctuations des prix internationaux, cela affecte également la sécurité alimentaire du pays. Pour réduire cette dépendance, il serait crucial de stimuler la production locale de lait en encourageant les investissements dans l'élevage laitier, en améliorant les infrastructures et en soutenant les agriculteurs. Des politiques publiques ciblées pourraient également favoriser l'innovation et la recherche dans le secteur laitier, renforçant ainsi la résilience de la filière face aux crises globales (**FAO, 2020 ; Khemici et al., 2019**).

Dans le but de réduire sa dépendance vis-à-vis des importations, le gouvernement algérien projette d'adopter une nouvelle politique laitière. Cette initiative vise à restructurer en profondeur la filière laitière, tant sur le plan de la production que sur celui de la transformation et de la distribution, afin de renforcer la sécurité alimentaire du pays et mieux répondre aux besoins nationaux en produits laitiers (**Makhlouf, 2015 ; Demmad, 2021**).

Le ministère de l'Agriculture a insisté sur l'importance de renforcer les investissements dans la collecte de lait, une activité clé reliant les éleveurs de lait cru aux transformateurs. Face à l'insuffisance de la production nationale de lait cru, l'État algérien a intensifié son soutien à la filière laitière, notamment en encourageant l'élevage bovin à travers des subventions. Ces aides financières visent à améliorer la production locale et à réduire la facture des importations, qui représentent environ 18,4 % à 19 % de la facture alimentaire, avec un montant moyen de 900 millions de dollars par an. Des primes à la production laitière, à la collecte et à la transformation ont été mises en place, doublant par exemple la prime de production laitière à 12 DA/L (**Boulahlib, 2023**).

Les efforts pour développer l'industrie de transformation se sont accélérés ces dernières années, notamment grâce à des investissements dans de nouvelles technologies de pasteurisation et de conditionnement. Cela permet non seulement de garantir une meilleure qualité des produits, mais aussi de répondre à la demande croissante des consommateurs algériens pour des produits laitiers de qualité (**FAO, 2020**).

I.1.3. Les défis de l'industrie laitière en Algérie

L'industrie laitière en Algérie est un secteur clé pour l'économie nationale, mais elle fait face à plusieurs défis qui limitent son développement. L'un des principaux obstacles est la forte dépendance du pays aux importations de poudre de lait pour satisfaire la demande intérieure (**Kacimi El Hassani, 2013**). Cette dépendance a un impact négatif sur l'équilibre commercial et expose l'Algérie aux fluctuations des prix mondiaux du lait. De plus, malgré des efforts pour augmenter la production locale, l'Algérie ne parvient pas à atteindre l'autosuffisance (**Hami, 2015**). Les petites fermes laitières, souvent peu mécanisées, manquent de productivité, tandis que le réseau de collecte du lait reste insuffisant, surtout dans les zones rurales, entraînant des pertes importantes de lait non transformé (**Kherzat, 2007 ; Makhlouf et al., 2015**).

Le coût élevé de production est un autre défi majeur, en raison des prix élevés des aliments pour bétail, du manque d'infrastructures adéquates et de l'absence de modernisation des équipements agricoles. Ces facteurs rendent le lait local moins compétitif face aux produits importés. Par ailleurs, la qualité du lait produit localement est souvent inférieure aux normes internationales, en raison de mauvaises pratiques d'hygiène et de l'absence de contrôle de qualité à chaque étape de la chaîne de production (**Mansour, 2015**).

Enfin, les petits producteurs laitiers manquent de soutien technique et financier pour moderniser leurs exploitations et améliorer leur productivité. Les changements climatiques, tels que la sécheresse, aggravent également la situation en affectant la disponibilité des ressources en eau et des pâturages, ce qui perturbe la production laitière. Malgré ces défis, l'industrie laitière en Algérie possède des perspectives de développement, à condition que des réformes et des investissements dans les infrastructures et la formation soient mis en place pour soutenir ce secteur vital (**Mamine et al., 2021**).

I.1.4. Les perspectives de développement du secteur laitier en Algérie

Elles reposent sur plusieurs axes stratégiques. D'abord, le soutien gouvernemental joue un rôle clé avec des initiatives visant à stimuler la production locale. Les subventions pour l'importation de génisses laitières et les crédits pour moderniser les fermes visent à réduire la dépendance aux importations en augmentant la production nationale de lait cru. En parallèle, la modernisation des infrastructures de collecte, de transport et de traitement du lait est cruciale. L'investissement dans des systèmes de refroidissement, de stockage et dans des

usines de transformation modernes permettrait de réduire les pertes post-production et d'améliorer la qualité du lait (**Madani & Far, 2002 ; Madani & Mouffok, 2008**).

Le développement de l'agriculture fourragère est un autre levier important. En favorisant la culture locale de plantes fourragères adaptées au climat algérien, les coûts d'alimentation du bétail pourraient être réduits, ce qui rendrait les élevages plus autonomes et moins dépendants des importations. La formation et le transfert de technologies aux éleveurs et producteurs sont également essentiels pour améliorer la gestion des troupeaux et optimiser la chaîne de valeur du lait. Des programmes de formation adaptés peuvent jouer un rôle majeur dans la professionnalisation du secteur (**MADR, 2017**).

I.2. Effluents laitiers liquides

Les effluents laitiers, comprenant les eaux usées et le lactosérum, représentent un défi environnemental majeur. Ils sont riches en matières organiques (protéines, lipides, lactose) et en nutriments tels que l'azote et le phosphore. Ces composants, s'ils sont rejetés sans traitement dans les rivières et lacs, favorisent l'eutrophisation, un phénomène qui entraîne une prolifération d'algues nuisibles, une consommation excessive d'oxygène dissous et, à terme, une asphyxie de la faune aquatique. La pollution organique se manifeste par une forte demande chimique en oxygène (DCO), créant des zones aquatiques sans vie (**Rajeshwari et al., 2000 ; Britz et al., 2006 ; Rivas et al., 2010 ; Domingos et al., 2017**).

Ces effluents peuvent également contaminer les sols et les nappes phréatiques, notamment par les nitrates issus de l'azote, ce qui pose un risque pour la qualité de l'eau potable. En particulier dans le cas du lactosérum, leur charge organique ainsi que son acidité, peut déséquilibrer les sols, réduire sa fertilité et perturber la croissance des plantes. L'épandage excessif des effluents peut également provoquer des inondations ou un ruissellement vers les rivières, augmentant ainsi la pollution des cours d'eau (**Macwan et al., 2016 ; Sommella et al., 2016 ; Zandona et al., 2021**).

En termes de santé publique, les effluents laitiers non traités peuvent contenir des microorganismes pathogènes (*E. coli*, *Salmonella*), contaminant les sources d'eau et posant des risques pour la population. De plus, leur décomposition produit des gaz à effet de serre, notamment le méthane (CH₄) et le protoxyde d'azote (N₂O), qui contribuent au réchauffement climatique (**Guimarães et al., 2010 ; Prazers et al., 2012 ; Carvalho et al., 2013**).

I.2.1. Transformation du lait

La transformation du lait est l'une des activités centrales de l'industrie agroalimentaire, mobilisant une grande partie de la production laitière mondiale. Ce secteur repose sur des procédés technologiques variés, tels que la pasteurisation, la standardisation, la fermentation, la coagulation et l'égouttage, qui permettent d'obtenir une large gamme de produits finis, notamment le fromage, le yaourt, le beurre et les caséines (**Fox et al., 2017**). Parmi ces filières, la fromagerie occupe une place dominante puisqu'elle absorbe plus de 50 % du lait collecté, générant ainsi une production considérable de coproduits (**Smithers, 2015**).

Au cours de la fabrication du fromage, la coagulation des caséines entraîne la séparation de deux phases distinctes : une phase solide (le caillé) constituant la matrice fromagère, et une phase liquide appelée lactosérum ou *whey* (Smithers, 2008). Ce co-produit représente environ 85 à 95 % du volume initial de lait transformé et retient près de 55 % des nutriments du lait, incluant le lactose, les protéines solubles, les minéraux et les vitamines hydrosolubles (Domingos et al., 2017).

Pendant longtemps, le lactosérum a été considéré comme un simple effluent de fromagerie. Sa forte charge organique et sa biodégradabilité rapide en faisaient une source majeure de pollution lorsqu'il était rejeté dans l'environnement sans traitement (Demirel & Yenigün, 2002). Ainsi, la transformation fromagère, en plus de sa contribution économique et nutritionnelle, a longtemps été associée à une problématique environnementale liée à la gestion du lactosérum.

1.2.1.1. Composition du lactosérum

Le lactosérum de fromage, « parfois appelé sérum de lait » (Guo, 2019), est un produit résiduel, généré lors de la transformation du lait en fromage, liquide aqueux extrait du coagulum pendant la fabrication du fromage (Zadow, 2012), il a une couleur jaune-vert (Pires et al., 2021 ; Bintsis & Papademas, 2023), ou parfois une teinte bleuâtre. La couleur dépend de la qualité et du type de lait utilisé (Guo et Wang, 2019). Le lactosérum est principalement composé d'eau, mais contient également environ 50 % des matières sèches du lait (Lievore et al., 2015 ; Masotti et al., 2017).

La composition du lactosérum peut varier en fonction de plusieurs facteurs tels que la source du lait, sa composition chimique, les méthodes de traitement et le processus de fabrication du fromage. D'autres facteurs, comme l'héritage génétique, les variations saisonnières, l'alimentation et le stade de lactation, influencent également la composition du lait et du lactosérum (Pires et al., 2021 ; Bintsis & Papademas, 2023).

La composition du lactosérum doux et du lactosérum acide varie en raison de leurs processus de production. Le lactosérum doux a des teneurs en matière sèche, en protéines, en lactose et en graisses plus élevées, ce qui le rend plus riche en nutriments, tandis que le lactosérum acide contient plus de minéraux et d'acide lactique, typique des produits fermentés. Le lactosérum doux a un pH élevé (6,0–6,8), contribuant à son acidité plus douce.

Le lactosérum acide, avec un pH de 4,2 à 5,8 et une concentration élevée en acide lactique, est mieux adapté comme agent acidifiant ou dans des applications fermentées. Ces différences influencent leurs propriétés fonctionnelles et leurs applications dans l'industrie alimentaire. Comprendre leur composition permet aux fabricants de mieux utiliser ces sous-produits laitiers en fonction de leurs propriétés et avantages uniques (**Kosseva et al., 2009 ; Fernández-Gutiérrez et al., 2017**). La description détaillée des caractéristiques physiques et chimiques du lactosérum est présentée dans le tableau 1.

Tableau 1. Composition du lactosérum acide et doux (**Ganju & Gogate, 2017 ; Nishanthi et al., 2017**)

Composants	Lactosérum Doux	Lactosérum Acide
Extrait sec (%)	6.0–7.0	5.0–7.0
Protéines (%)	0.8–1.0	0.7–1.0
Lactose (%)	4.6–5.0	4.2–4.4
Matière grasse (%)	0.2–0.5	0.05–0.1
Minéraux (%)	0.5–0.7	0.7–0.8
acide Lactique (%)	0.05–0.2	0.5–0.8
pH	6.0–6.8	4.2–5.8

Composé d'environ 20 % des protéines totales du lait de vache, le lactosérum se distingue par sa richesse en fractions protéiques, dont la β -lactoglobuline, l' α -lactalbumine, et les immunoglobulines, qui apportent une valeur nutritionnelle significative (**Madureira et al., 2010 ; Smithers, 2015**). En parallèle, le lactose, représentant près de 75 % de la matière sèche du lactosérum, en constitue l'un des composants principaux (**Ramos et al., 2016**).

Sa haute charge organique, due à des nutriments tels que le lactose, les protéines, et les vitamines, soulève des enjeux environnementaux, car il a été considéré comme un polluant lorsqu'il était rejeté dans l'environnement (**Yadav et al., 2015 ; Ramos et al., 2016**). Toutefois, face à la nécessité croissante de réduire les déchets, le lactosérum est de plus en plus valorisé pour ses applications dans les aliments fonctionnels et les nutraceutiques (**Singh & Geetanjali, 2016 ; Deeth & Bansal, 2018**). La valorisation du lactosérum offre ainsi une

solution viable à la fois pour la durabilité environnementale et la nutrition humaine, transformant un résidu en un produit à haute valeur ajoutée (**Deeth & Bansal, 2018**).

I.2.1.2. Utilisations du lactosérum

La gestion durable du lactosérum est principalement orientée vers les applications biotechnologiques et alimentaires pour le développement de produits à valeur ajoutée tels que les poudres de lactosérum, les protéines de lactosérum, les aliments et boissons fonctionnels, les films et revêtements comestibles, l'acide lactique et autres produits biochimiques, les bioplastiques, les biocarburants et les bioproduits de valeur similaires (**Zandona et al., 2021**).

Les technologies développées, telles que les techniques membranaires, ont accru les possibilités d'isoler des substances utiles du lactosérum, tels que les protéines, le lactose, les minéraux, ce qui confère au lactosérum des fonctionnalités polyvalentes dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique, dans l'industrie biotechnologique et dans l'agriculture (**Boudjema et al., 2009 ; Patel, 2015 ; Ryan & Walsh, 2016**). Les isolats et concentrés de protéines de lactosérum (IPLs et CPLs) comptent parmi ses principaux produits primaires utilisés dans le développement de nouveaux produits alimentaires à grande échelle en raison de leurs propriétés désirables répondant aux exigences biologiques et physiologiques dans ces domaines (**Agarwal et al., 2015**).

➤ Le lactosérum médicinal et menaçant

Le lactosérum, ou whey, a été utilisé à des fins thérapeutiques pendant des millénaires, notamment pour traiter des affections telles que la septicémie, la cicatrisation des plaies et les maladies de l'estomac (**Hoffmann, 1961**). Hippocrate, en 460 avant J.-C., le prescrivait pour soigner les troubles gastro-intestinaux et les affections cutanées (**Susli, 1956**). Aux 17^e, 18^e et 19^e siècles, le lactosérum devint une boisson fonctionnelle populaire dans des établissements appelés « maisons de lactosérum », où il était consommé sous diverses formes, comme des soupes ou des fromages (**Hoffmann, 1961**). À cette époque, le lactosérum était apprécié pour ses supposés bienfaits sur la santé, de la consommation à l'application topique comme ses propriétés cicatrisantes pour la peau et ses avantages économiques (**Trelogan, 1970**). L'histoire sociale de cette boisson est bien documentée, notamment par **Burnett (2012)**, qui explore son rôle dans la société britannique du 17^e siècle à nos jours. Au début du 20^e siècle, les habitudes de consommation et d'utilisation du

lactosérum ont changé, alors que son image bénéfique s'est dégradée. La demande croissante de lait et de produits laitiers a entraîné une expansion de la production de fromage et de caséine, ce qui a considérablement augmenté les volumes de lactosérum. À ce stade, le lactosérum était perçu comme un déchet gênant pour l'industrie laitière (**Smithers, 2008**). Les producteurs ont cherché à se débarrasser de ce sous-produit de manière économique, en le pulvérisant sur les champs, en le déversant dans les cours d'eau, ou en le traitant par les systèmes d'égouts municipaux, et parfois en l'utilisant comme alimentation pour les animaux. Bien que ces méthodes aient offert des solutions temporaires, elles étaient coûteuses, polluantes et peu rentables. Le lactosérum restait un problème à gérer à long terme, nécessitant une approche plus durable basée sur la valorisation et l'utilisation efficace de ce co-produit (**Panesar et al., 2007; Papargyropoulou et al., 2014 ; Barba, 2021**).

➤ Produits faibles en gras

Ces dernières années, la demande pour des produits faibles en gras a fortement augmenté en raison des préoccupations liées aux effets négatifs des régimes riches en graisses sur la santé, notamment les maladies cardiovasculaires, l'obésité et les syndromes métaboliques (**Jawaldeh & Al-Jawaldeh, 2018**). Les graisses jouent un rôle essentiel dans le goût et la texture des aliments, et leur réduction peut affecter l'acceptabilité des produits par les consommateurs (**Ellander et al., 2015**). Pour répondre à cette demande, les protéines de lactosérum sont utilisées comme substituts des graisses dans divers produits, tels que les yaourts et la mayonnaise, en raison de leurs propriétés fonctionnelles (**Zhang et al., 2015**). Ces protéines sont des substituts de graisse, offrent une bonne capacité de liaison à l'eau, une émulsification efficace et une grande solubilité (**Kankanamge et al., 2015**). **Torres et al. (2018)** ont montré que l'utilisation de protéines de lactosérum microparticulées améliore la microstructure, la rhéologie et la texture des yaourts faibles en gras, augmentant ainsi leur acceptabilité. De même, **Danesh et al. (2018)** ont démontré que l'incorporation de protéines de lactosérum dans le fromage blanc à faible teneur en gras, combinée à l'utilisation d'enzymes, améliore le rendement et la texture tout en réduisant la teneur en graisse. En plus, ces avancées permettent de produire des aliments faibles en gras sans compromettre leurs qualités organoleptiques.

➤ Produits laitiers et la confiserie

En raison de leur teneur élevée en lipides nets, les protéines de lactosérum sont des outils efficaces pour le contrôle de l'excès d'air incorporé lors de la production de glace et agents antimoussants dans d'autres produits de confiserie. En outre, leur capacité à retenir l'eau, comparable à celle des œufs, les qualifie comme ingrédients utiles en pâtisserie (**Ratnayake et al., 2012**). Étant lui-même un produit laitier, le lactosérum est également un ingrédient et/ou une matière première pour d'autres produits laitiers tels que le fromage, le yaourt et les aliments pour nourrissons. **Levin et al. (2016)** ont mené une étude approfondie sur les effets du perméat délactosé et du concentré de phospholipides de protéines de lactosérum dans la production de gâteaux et de glaces. Pour la fabrication de gâteaux, un mélange de perméat délactosé et de concentré de lactosérum a été utilisé à la place des œufs comme source de protéines. Leur étude a montré qu'il n'y avait aucune différence au niveau de la texture, de la couleur ou du rendement. Le concentré de lactosérum a été utilisé comme substitut naturel des émulsifiants synthétiques pour la production de glace, et il a été observé qu'il améliorait le taux de fuite et réduisait la quantité de matières grasses mal coalescées. Leurs études ont généralement montré que le lactosérum était un ingrédient fonctionnel et économique pour la fabrication de confiseries.

➤ **Boulangerie et pâtisserie (pains et Gâteau)**

Les protéines du lactosérum ont été incorporé dans des formulations des biscuits et des pattes alimentaires (**Gani et al., 2015a ; Wani et al., 2015 ; Camargo et al., 2018 ; DELMI B et al., 2018**) et des pains (**Indrani et al., 2007 ; Gani et al., 2015b ; DELMI B A et al., 2018 ; Bouras et al., 2021**). Leurs analyses ont montré une amélioration et une augmentation attendue de la teneur en acides aminés des gâteaux et des pains. Ces protéines corrigent notamment le déficit et le déséquilibre du pain et gâteaux en acides aminés essentiels tel que la lysine (**Bajaj et al., 1991 ; Kamaljit et al., 2010**).

➤ **Aliment thérapeutique et ingrédient pharmaceutique**

Les aliments thérapeutiques sont des formulations alimentaires modifiées selon les besoins des consommateurs. Des exemples courants incluent les aliments minceur, les boissons au lactosérum et les aliments à base de lipides, les boissons probiotiques à base de lactosérum et d'avoine et les boissons fonctionnelles à base de lactosérum, enrichies de concentrés de fruits (**Baldissera et al., 2011 ; Sharma et al., 2017 ; Webb et al., 2017**).

Le lactose, principal composant du lactosérum, est largement utilisé comme ingrédient pharmaceutique. Chaque année, une quantité considérable de lactose est utilisée dans les industries pharmaceutiques pour produire des médicaments sous forme de comprimés, de capsules d'inhalateurs. Le lactose et, à l'état raffiné, est couramment utilisé comme support inerte pour les médicaments en raison de sa stabilité (physique et chimique) et de sa pureté.

Des études récentes mettent en évidence les isolats de protéines de lactosérum (IPL) comme vecteurs prometteurs pour l'administration de médicaments. **Zhang et al. (2018)** ont démontré une biodisponibilité et une pharmacocinétique améliorées pour la puerarine 5 avec l'isolat de protéine du lactosérum succinylé. L'IPL a également été étudié pour isoler par voie enzymatique des peptides antidiabétiques (**Kehinde & Sharma, 2018**). **Owonubi et al. (2018)** ont préparé des hydrogels biodégradables incorporant des médicaments antipaludiques, présentant des profils de libération améliorés. **Lv et al. (2019)** ont abordé les problèmes de cristallisation de la daidzéine et ont obtenu une meilleure stabilité grâce aux isolats de protéines du lactosérum. Collectivement, ces résultats soulignent la polyvalence des isolats de protéines du lactosérum dans les applications pharmaceutiques, en optimisant les systèmes d'administration de médicaments et l'efficacité thérapeutique.

I.2.1.3. Les opportunités d'utilisations des effluents laitiers

La figure 1 illustre les processus impliqués dans l'extraction des protéines et du lactose. Les protéines sont extraites par plusieurs procédés. Ces méthodes représentent diverses approches pour isoler et purifier les protéines. La séparation des protéines se fait par la chromatographie gel-filtration, chromatographie d'adsorption et chromatographie échangeuse d'ions, tout en maintenant leur activité biologique (**Morr, 1989 ; Nielsen et al., 2002**). La nanotechnologie magnétique est une autre méthode simple de récupération des protéines par la co-précipitation de la magnétite à partir des sels Fe^{2+} et Fe^{3+} en ajoutant une base comme NaOH en présence d'un tensioactif ou d'une molécule fonctionnelle sous atmosphère d'azote et agitation magnétique (**Muralidhara et al., 2019**). Le traitement membranaire, tel que les technologies d'ultrafiltration, de microfiltration et d'osmose inverse, a été utilisé dans l'industrie fromagère pour fractionner les composants du lactosérum et permettre aux protéines du lactosérum et à d'autres constituants précieux d'être retenus dans le fromage (**Riera et al., 2016 ; Macedo et al., 2018 ; Carter et al., 2021**).

L'extraction du lactose est présentée avec trois processus : l'ultrafiltration, l'extraction par l'alcool et la cristallisation. Chaque technique est une étape pour isoler efficacement le lactose. La teneur en lactose dans le lactosérum est très élevée et sa récupération peut être une solution qui, combinée à la valorisation de la fraction azotée, peut être intéressante. Pour la récupération du lactose, généralement, le perméat du procédé ultrafiltration contenant environ 4 à 8 % de lactose et 0,5 % de sel est concentré à 60 % de solides dans des évaporateurs. Le lactose est ensuite cristallisé à partir du concentré, séparé et séché en poudre de lactose. Pour améliorer le rendement et la pureté, le perméat d'ultrafiltration est également souvent traité par la nanofiltration pour éliminer partiellement les sels et augmenter la concentration en lactose (Chen et al., 2019).

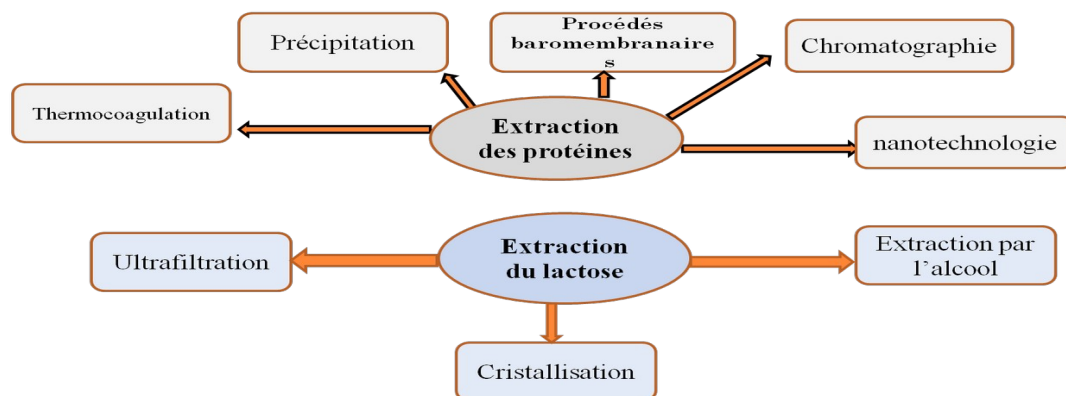


Figure1. Techniques de séparation des constituants du lactosérum (Nielsen et al., 2002 ; Chen et al., 2019 ; Muralidhara et al., 2019)

I.3. Recyclage et réutilisation des eaux usées laitières

La réutilisation des eaux usées après des traitements appropriés présente des avantages très intéressants. En effet, cette pratique permet la réalisation d'une économie en eau douce et par conséquent de protéger les réserves d'eau en réduisant les quantités d'eau prélevées dans les sources naturelles déjà impactées par les changements climatiques. Ainsi, le recyclage des eaux usées offre une approche novatrice en considérant ces eaux comme une ressource à exploiter dans le cadre du programme du développement durable, plutôt que de les considérer comme de simples déchets à éliminer (Tong & Elimelech, 2016).

La réutilisation de l'eau a été pratiquée dans certaines régions du monde où cette ressource est limitée, telles que le Moyen-Orient, l'Australie et le sud-ouest des États-Unis. Elle est également utilisée dans les régions où des restrictions sévères sont imposées concernant l'évacuation des eaux usées traitées, particulièrement en Floride, dans les régions côtières et insulaires de la France et de l'Italie, ainsi que dans les pays densément peuplés d'Europe tels que l'Angleterre et l'Allemagne. De plus, dans les pays où il existe des disparités dans la répartition régionale des ressources en eau, le recyclage et la réutilisation de l'eau sont également très appliqués (**Lazarova et al., 2013 ; Salgot & Folch, 2018**).

Plusieurs auteurs ont étudié les possibilités de la réutilisation des eaux usées, dans le domaine de l'agriculture pour l'irrigation de différentes cultures. Parmi ces auteurs : **Becerra-Castro et al. (2015)**, **Christou et al. (2017)**, **Igoud et al. 2017**, **Djemil et al. (2018)**, **Libutti et al. (2018)**, **Gheraout (2020)**, **Tekerlekopoulou (2020)** et **Sahi et Megateli (2023)**. Dans leurs travaux ils mettent en évidence les opportunités et les avantages offerts par la réutilisation des eaux usées traitées de manière sûre et durable, comme source alternative d'eau pour l'irrigation agricole.

Selon l'étude de **Prazeres et al. (2016)**, les plantes de tomates irriguées avec des eaux usées de fromagerie prétraitées ont montré une amélioration significative de la qualité des fruits. Dans leurs études, **Sdiri et al. (2020)** ont utilisé des effluents laitiers traités pour irriguer des vergers d'olivier de la variété Chemlal en Tunisie. Leurs résultats ont démontré que l'utilisation de ces eaux usées traitées n'affecte pas la qualité de l'huile d'olive et n'entraîne aucune dégradation de celle-ci.

Wang et al. (2019), ainsi que **Srivastava (2020)** ont constaté que l'utilisation d'eaux usées laitières (sans ou après traitement) en irrigation peut contribuer à la fertilisation du sol. Ces eaux usées sont riches en éléments minéraux tels que l'azote, le phosphore et le potassium, ce qui permet de réduire ou de remplacer l'utilisation d'engrais chimiques par les agriculteurs.

L'étude réalisée par **Lal et al. (2013)**, a démontré que l'irrigation avec des eaux usées entraînait une augmentation significative des rendements des cultures non comestibles, telles que la citronnelle ou les rosiers. **Tsoutous et al. (2013)**, ont pareillement constaté que l'irrigation par des eaux usées a amélioré la qualité des huiles récupérées à partir des cultures de tournesol et de ricin.

D'autres auteurs, tels que **Maryam et Büyükgüngör (2019)** et **Akhoundi et Nazif (2020)**; soulignent que l'utilisation des eaux usées traitées peut s'étendre à divers domaines, notamment l'irrigation des jardins et des espaces publics, la recharge des réservoirs d'eau souterrains et des usages industriels tels que le refroidissement.

Sahi et Megateli (2023), ont montré que les eaux usées laitières sont appropriées pour l'irrigation du gazon *Pennicetum*, où les résultats observés confirment l'absence d'impact négatif sur le développement des plantes étudiées. Ils ont même constaté que les plantes irriguées avec les effluents laitiers ont présenté des taux de chlorophylle et de surface foliaire plus élevés par rapport aux plantes témoins (plantes irriguées par de l'eau potable).

Une autre possibilité de réutilisation des eaux laitières traitées consiste à les utiliser comme milieux de culture des algues pour la production de biocarburant (**Wang & Serventi, 2019**).

Un traitement plus poussé par couplage de procédés biologiques à des techniques membranaires permettra l'utilisation de ces eaux usées dans le processus de production (**Fraga et al., 2019**).

Dans leur étude **Tatoulis et al. (2018)** ont examiné la possibilité de réutiliser les eaux usées alimentaires en tant que source potentielle de carbone et de matière organique pour les utiliser dans le traitement des eaux industrielles et dans la réduction biologique du chrome.

I.4. Législation

L'Algérie a promulgué plusieurs lois pour protéger l'environnement entre autres la loi n° 01-19, 2001 (**JORA n°77**). Ces lois obligent les industriels et/ou les exploitants d'entreprises à gérer leurs déchets solides et liquides ; « La récupération et/ou l'élimination des déchets doit se faire dans des conditions conformes aux normes environnementales, notamment sans : mettre en danger la santé des personnes et des animaux, et sans poser de risque pour les ressources en eau, le sol ou l'air, ni pour la faune et la flore » (**JORA n°77, Loi n° 01-19, 2001**).

En Algérie, la législation environnementale relative aux entreprises laitières est encadrée par plusieurs textes de loi et réglementations. Les principaux éléments incluent :

La loi sur l'environnement (**Loi n° 03-10 de 2003**) qui établit les principes généraux de la protection de l'environnement et fixe les normes pour la gestion des déchets et des effluents. Le code de l'environnement détaille les exigences pour les permis de déversement, la gestion des déchets et les procédures d'évaluation des impacts environnementaux. Les règlements spécifiques définissent les normes de qualité pour les effluents industriels et les exigences pour la gestion des déchets solides et liquides. Les entreprises doivent se conformer à ces régulations en mettant en place des systèmes de traitement des effluents et en adoptant des pratiques de gestion des déchets conformes aux normes établies.

II. La mouche soldat noir (*Hermetia illucens*)

L'évacuation des déchets organiques et industriels sans traitement est un problème majeur dans le monde qui peut engendrer des effets néfastes pour l'environnement (Hoornweg & Bhada-Tata, 2012). Dans la plupart des pays, la mise en décharge est le moyen le plus adopté pour la gestion des déchets en raison de leurs avantages économiques, mais elles causent des risques environnementaux tandis que l'incinération, la méthode la plus utilisée, probablement présente des risques de santé des travailleurs, notamment des cancers (Hu & Shy, 2001 ; Renou et al., 2008).

La technologie de conversion des déchets organiques par les saprophages constitue une méthode de traitement réalisable et économiquement viable (Singh & Kumari, 2019). Il s'agit d'une biotechnologie qui intègre dans son application trois objectifs majeurs ; compostage des déchets, récupération des nutriments et génération de revenus (Sheppard et al., 1994). Les insectes jouent un rôle primordial dans le traitement de différents types de déchets organiques (Gabler, 2014 ; Makkar et al., 2014 ; Myers et al., 2014). Les tentatives d'exploiter l'aptitude des insectes à traiter des rejets municipales et industriels ont été largement adoptées avec succès (Newton et al., 2005 ; Choi et al., 2017 ; Boaru et al., 2019). Parmi ces insectes, Les larves de la mouche soldat noir (*Hermetia illucens*) qui ont la capacité de réduire efficacement un énorme volume de déchets organiques, et de les transformer en biomasse riche en protéines et un résidu utilisé comme engrais organique (Lalander et al., 2019). Leur utilisation dans la gestion des déchets organiques est une stratégie innovante et durable pour réduire les charges de mise en décharge (Lopes et al., 2022 ; Pahmeyer et al., 2022 ; Salam et al., 2022). En plus, ces larves ont une tendance à réduire les effets nocifs des déchets organiques à l'environnement ce qui peut grandement contribuer à une agriculture durable (Diener et al., 2009). Les larves de BSF présentent un certain nombre d'avantages sociaux, économiques et environnementaux pour la société, parmi lesquels la réduction massive des déchets organiques qui constitue le moyen le plus important et durable de gestion des déchets solides (Singh & Kumari, 2019). Diener et al. (2011b) et Pathak et al. (2015) ont rapporté une réduction totale des déchets allant de 50 % à 78 % en fonction de leur quantité initiale.

Les larves d'*Hermetia illucens*, communément connues par les larves de mouche soldat noir (Black Soldier Fly Larvae ou BSFL), peuvent constituer une solution potentielle

pour le traitement et la gestion des déchets organiques. Les mouches adultes ne sont pas considérées ni comme une espèce nuisible ni un vecteur de maladie, car elles n'ont pas besoin de se nourrir, survivant grâce aux réserves de graisse accumulées dans leur stade larvaire (Furman et al., 1959 ; Rozkosny, 1983 ; Ustuner et al., 2003). Comme les femelles pondent aux abords des sources de nourriture des larves (Copello, 1926), elles ne transmettent pas d'agents pathogènes provenant des déchets fécaux à l'alimentation humaine, contrairement aux autres mouches telles que *Musca domestica* (Calderon-Arguedas et al., 2005; Fuentes Gonzalez & Risco Oliva, 2009).

L'utilisation des larves BSF a des avantages en matière d'efficacité de conversion des déchets organiques, de productivité de produits de qualité. La biomasse résultante est très riche en protéines et en graisses, susceptible d'être incorporée dans l'alimentation de poisson et de poulet comme aliment alternatif. Le résidu issu de la conversion de déchets organiques par ces larves est très riche en matière organique et en minéraux utilisé comme un bio-fertilisant (Diener et al., 2009 ; Lalander et al., 2013 ; Lourenço et al., 2022 ; Van Huis & Gasco, 2023).

II.1. Généralités sur la mouche soldat noir (BSF)

La mouche soldat noir *Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758), (Diptera : Stratiomyidae), aussi connue (en Anglais) sous le nom BlackSoldier Fly Larva. Elle appartient à la famille des Diptères, de l'ordre des Stratiomyidae. Elle est originaire de l'Amérique latine mais maintenant elle a une distribution mondiale, occupant des habitats dont l'altitude est entre 45°N et 40°S, elle a une répartition géographique très large (Barragan-Fonseca et al., 2017 ; Dortmans et al., 2021). Le climat préféré par cette mouche est le climat des régions tempérées et chaudes dont la température optimale de sa croissance est entre 27 et 28° C et une humidité relative comprise entre 60 et 70 % (Oonincx et al., 2015a ; Manurung et al., 2016 ; Rehman et al., 2017a). Elle se propage largement dans les zones tropicales, plus tempérées et riche en matières organiques (Diener et al., 2011 ; Fatchurochim et al., 2020).

Les adultes ne se nourrissent pas et se trouvent être établis sur des troncs d'arbres, des murs et des plantes de jardin dans les zones résidentielles (Rozkosny, 1983 ; Ustuner et al., 2003). La mouche soldat noire, a été introduite et étudiée en Algérie pour sa capacité à convertir des déchets organiques en protéines utiles pour l'alimentation animale et l'agriculture. L'intérêt pour cette espèce dans le pays s'est accru récemment en raison de son

potentiel de bioconversion des déchets et l'agriculture circulaire, un domaine où plusieurs recherches locales ont été menées ces dernières années.

Des études expérimentales sur son élevage et ses applications ont notamment eu lieu dans des universités algériennes et ont souligné son efficacité pour la valorisation des déchets agricoles et alimentaires (**Foughar, 2021 ; Koutsoukos & Kazilas, 2021 ; Aitmokhtar, 2022 ; Dehliz et al., 2023 ;**).

II.2. Morphologie et cycle de vie de la mouche soldat noir BSF

Les larves du BSF diffèrent de celles des autres larves de Diptères appartenant au groupe des mouches domestiques, comme les genres *Musca* (**Fonseca et al., 2017**). Les larves de BSF ont une surface de tête orange, sans crochets et un corps plat, rond ou en forme de bateau. Des poils et des pores peuvent également être trouvés sur le corps des larves. Les pupes ont la même forme que la larve ; la surface du corps est ridée. Le BSF mâle a un abdomen de couleur bronze tandis que l'abdomen de la femelle est brun rougeâtre d'une longueur d'environ 15 à 20 mm (**Hardouin & Mahoux, 2003**).

En comparaison avec d'autres insectes, la mouche BSF a un cycle de vie un peu court. En tant qu'adultes, le BSF n'a pas de dard et n'a pas de dents buccales ou d'organes digestifs qui ne leur permettent pas de mordre comme d'autres insectes (**Dortmans et al., 2021**). Le cycle de vie se compose essentiellement de cinq étapes : œufs, larves, prepupes, pupes et adultes. Les étapes larvaires et pupales contribuent au maximum à l'ensemble du cycle de vie tandis que les étapes d'adulte et l'éclosion d'œufs sont relativement courtes (Figure 2). Comme la durée de vie de la mouche adulte BSF est très courte ; une seule femelle donne un grand nombre d'œufs (400-800 œufs) qui éclosent rapidement pour donner des larves de nouveau-nés. Ces mouches ont une durée de vie très courte, d'environ 6 à 8 jours, qui peut être étendue à 6 à 7 semaines en fonction des conditions environnementales, car ces larves ralentissent leur activité dans des conditions défavorables (**Tomberlin & Sheppard, 2002 ; Alvarez, 2012 ; Caruso et al., 2013 ; Dortmans et al., 2017 ;**). Elles peuvent atteindre un cycle de vie flexible en prolongeant leur stade larvaire (apparemment jusqu'à 4 mois) dans des conditions de basse température et de faible disponibilité alimentaire (**Furman et al., 1959**). Cela facilite la viabilité de la population larvaire en cas de pénurie de déchets organiques (source de nourriture pour les nouveau-nés). Néanmoins, la production d'œufs et

le développement des larves dépendent largement de la qualité de la nourriture (Chippindale et al., 1993).

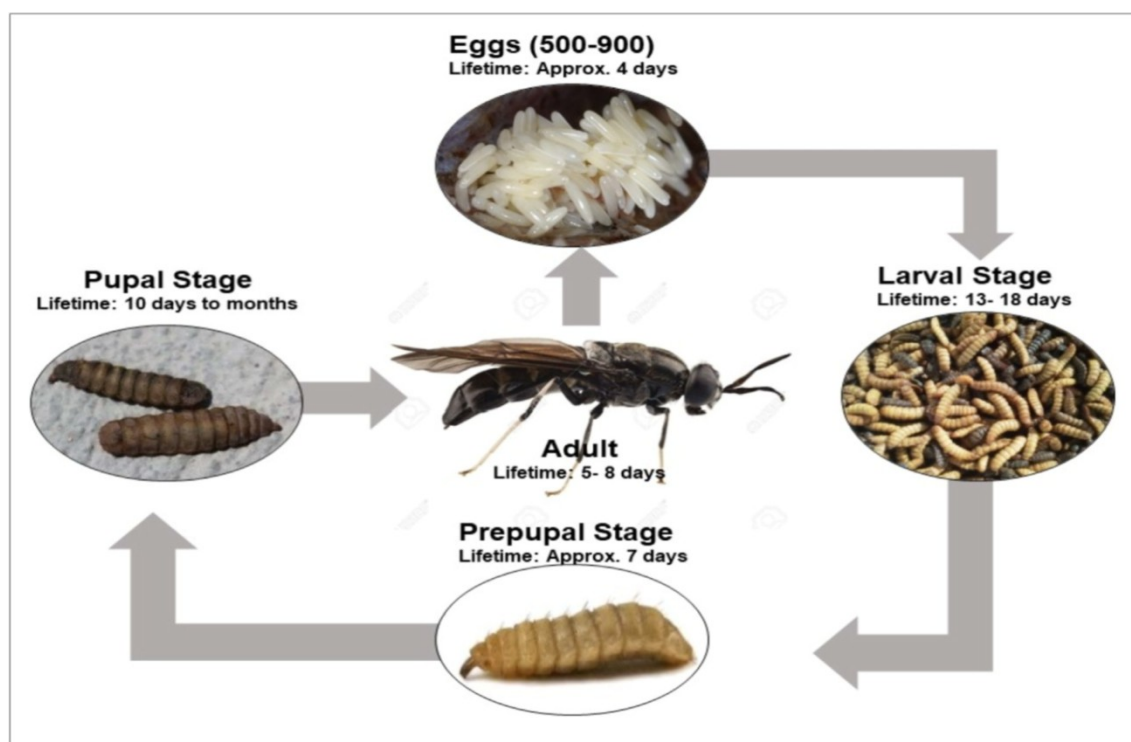


Figure 2. Cycle de vie de la mouche *Hermetia illucens* (Singh & Kumari, 2019)

Avec ; Eggs : œufs, lifetime : durée de vie, pupalstage : stade nymphal, larvalstage : stade larvaire, prepupalstage : stade prénymphal, adult : adulte

II.3. Composition nutritionnelle des larves BSF

Selon Makkar et al. (2014), les larves sèches de BSF contiennent environ 42 à 49 % de protéines brutes, 38 % de lipides, 20 % de fibres brutes, 20 % de cendres, et des vitamines, ayant montré un effet bénéfique pour l'amélioration de production animale (Schiavone et al., 2017 ; Kierończyk et al., 2020 ; Sypniewski et al., 2020).

Bien que les larves de BSF contiennent en moyenne à la fois une protéine élevée et un niveau élevé en matière grasse par rapport à d'autres espèces d'insectes comestibles (Zheng et al., 2012a ; Barragan-Fonseca et al., 2017), la composition corporelle des larves dépend de la qualité et la quantité de nourriture ingérée (tableau 2) (Nguyen et al., 2015 ; Ooninx et al., 2015a, b). Par conséquent, les larves nourries sur différents substrats avaient des protéines corporelles variables (allant de 37,0 à 62,7 % de MS) et la teneur en graisse (6,6–39,2 % MS) (Barragan-Fonseca et al., 2017).

Tableau 2. Composition nutritionnelle moyenne (\pm Ecart-type) des larves BSF nourries avec des déchets alimentaires (Kim et al., 2021)

Référence	(Noor et al., 2018)	(Mohd-Noor et al., 2018)	(Julita et al., 2018)	(Liu et al., 2018)	(Surendra et al., 2016)
Pays	Malaysie	Malaysie	Indonesie	New Zealand	USA
Sources de substrats	Fruits	Légumes fruits	+ Fumier cheval légumes	de + Déchets brasserie	de Déchets alimentaires
Matière grasse	42.7 \pm 2.1	58.7 \pm 2.1	13.0 \pm 0.0	33.7 \pm 0.3	31.8 \pm 0
Protéines	18.6 \pm 0.2	23.4 \pm 0.2	46.6 \pm 0.0	49.9 \pm 0.2	43.7 \pm 0.6
Minéraux	ND	ND	14.2 \pm 0.0	5.7 \pm 0.1	6.0 \pm 0.0

ND: Non disponible

II.4. Facteurs affectant la croissance et la performance de BSF

La large distribution mondiale de BSFL conduit qu'elles peuvent résister à un large éventail de conditions environnementales ; Cependant, des conditions optimales existent pour cultiver le BSFL comme le montre la figure 3. De nombreux pays de zones tropicales ont des conditions naturelles appropriées pour l'élevage de BSF. Les facteurs et les conditions environnementaux optimaux affectant la croissance et la performance des larves peuvent être résumés comme suit :

II.4.1. Effet de la température et de l'humidité

La température idéale de croissance se situe entre 24 et 30 °C. S'il fait trop chaud, les larves s'éloigneront de la nourriture à la recherche d'un emplacement plus frais. S'il fait trop froid, les larves ralentiront leur métabolisme, dégradent moins de matières organiques et se développent plus lentement (**Barragan-Fonseca et al., 2017; Dortmans et al., 2017**). Plusieurs études sur la bioconversion des substrats organiques par le BSF ont montré que les températures optimales sont entre 25 à 30 °C (**Harnden & Lalander et al., 2013 ; Tomberlin, 2016 ; Dortmans et al., 2017**). Des conditions idéales pour la reproduction ont été observées à 32 °C, mais des températures allant de 15 à 47 °C ont été tolérées par ces mouches (**Diener et al., 2011a ; Park, 2016**). Cependant, la majorité des études recommandent une température de 27 °C et une humidité relative de 65-70 % (**Diener et al., 2009 ; Banks et al., 2014 ; Barragan-Fonseca et al., 2017 ; Cheng et al., 2017**).

II.4.2. Effet du pH

Le pH est un paramètre intrinsèque qui affecte le cycle de vie et la survie du BSF. De nombreuses études sur les mouches diptères ont révélé qu'un pH supérieur à 6 est optimal pour le développement et la croissance des larves (**Meneguz et al., 2018**). Selon **Green & Popa (2012)**, les larves peuvent réguler un pH jusqu'à 9 dans des lixiviats organiques, bien que cette capacité dépende de la densité larvaire selon **Alattar (2012)**. **Ma et al. (2018)** a montré que des niveaux de pH entre 6 et 10 favorisent le développement et le poids des larves, alors qu'un pH plus bas, comme 4 ou 2, les affecte négativement. Les larves peuvent réguler un substrat alcalin (pH de 8 à 8,5) mais pas les milieux très acides.

II.4.3. Effet de l'environnement ombragé / lumineux

Les larves évitent la lumière et rechercheront toujours un environnement ombragé, à l'abri du soleil. Si leur source de nourriture est exposée à la lumière, elles s'enfonceront plus profondément dans la couche de nourriture pour échapper à la lumière (**Dortmans et al., 2021**). Alors que les mouches adultes exigent la présence de la lumière pour la ponte. L'intensité de lumière optimale est de 135 à 200 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, ce qui dépend fortement des changements saisonniers et de la météo (**Shumo et al., 2019**).

II.4.4. Effet de substrats (alimentation)

L'alimentation est un facteur décisif affectant le développement des larves BSF. Le type, la quantité et la qualité de la nourriture affecte la croissance des larves, le taux de survie, la taille et la fertilité des mouches adultes (**Gobbi et al., 2013; Nguyen et al., 2013**). Pour cette raison, le prétraitement du substrat est essentiel pour la culture du BSFL. Par exemple, la transformation des aliments, telle que le broyage, modifie la structure du substrat afin que les larves BSF améliorent leur digestion des déchets organiques (**Pastor et al., 2015 ; Dortmans et al., 2021**). La croissance du BSF est aussi influencée par la teneur en eau du substrat (**Cheng et al., 2017**), et une humidité excessive diminue le taux de dégradation du substrat (**Diener et al., 2011 ; Simon et al., 2011**).

II.4.5. Effet de la densité larvaire

Selon **Parra Paz et al. (2015)**, la densité larvaire optimale est de 1,2 larves/cm² et un taux d'alimentation de 163 mg/larve/jour (base sèche), ce qui produit jusqu'à 1,1 kg/m²/jour de compost et 59 g/m²/jour de biomasse larvaire. la densité larvaire peut être un facteur essentiel affectant le taux de développement (**Tomberlin et al., 2002; Diener et al., 2009**). Dans leur recherche, **Parra Paz et al. (2015)** ont démontré que la densité larvaire a une influence significative sur la bioconversion de la matière organique résiduelle en masse corporelle par le BSF. Ils ont trouvé qu' une densité larvaire optimale de 1,2 larves/cm². Les larves de BSF ont tendance à se regrouper et la surpopulation ralentit le développement larvaire en raison de la compétition pour la nourriture (**Rivers & Dahlem, 2013**).

Les plages optimales pour chaque facteur sont illustrées par la figure 3. Les conséquences qui surviennent lorsque chaque facteur n'est pas correctement contrôlé sont indiquées en rouge.

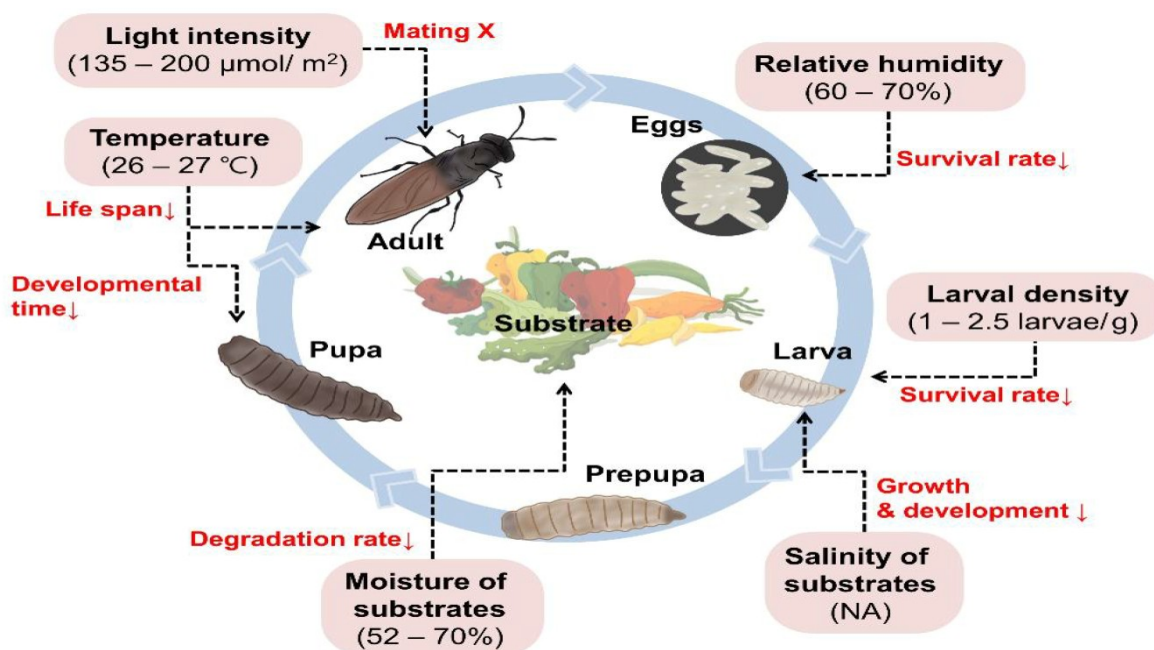


Figure 3. Facteurs influençant la croissance et la performance d'*Hermetia illucens* (Kim et al., 2021).

II.5. Importance et applications des larves BSF

Les technologies de Conversion des Déchets Organiques par les Saprophages (CORS), pour le traitement des déchets organiques, offrent des moyens de traitement réalisables et économiquement viables. Cela fait appel à des technologies telles que la décomposition bactérienne et la décomposition par espèces biologiques. De plus, ces technologies durables offrent des alternatives prometteuses pour la récupération des nutriments à partir des déchets (Elissen, 2007 ; Čičková et al., 2015; Gold et al., 2018b ; Zurbrügg et al., 2018). La figure 4 décrit le processus de conversion par l'action de BSF de l'alimentation organique (substrats) en engrais (frass) (Siddiqui et al., 2024).

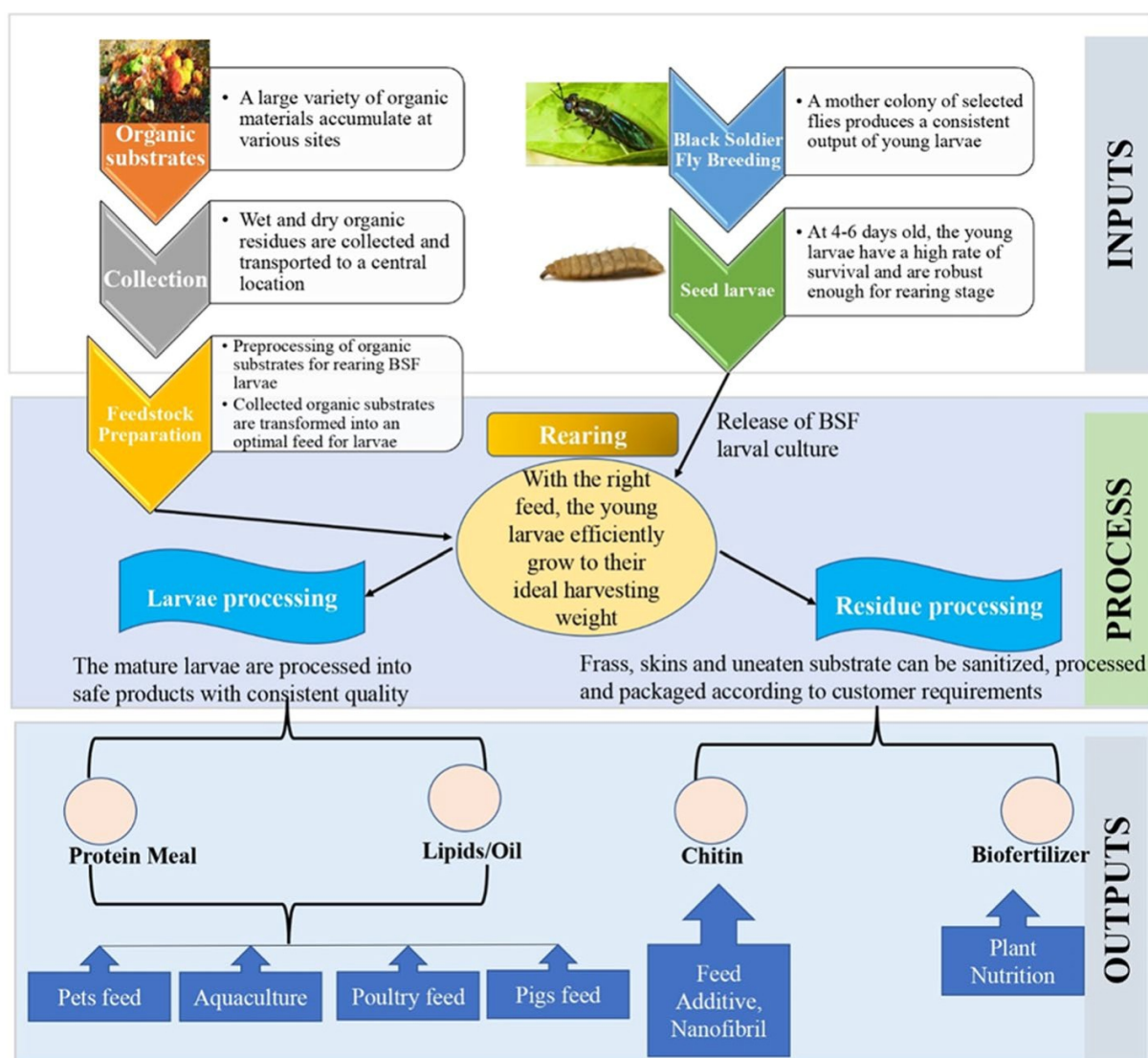


Figure 4. Les différents produits résultant du traitement de déchets organiques par la mouche soldat noir (BSF) (Siddiqui et al., 2024)

La technologie de traitement par des larves de BSF est l'une de ces technologies qui intègre dans son application trois termes majeurs : récupération des nutriments, génération de revenus et compostage des déchets (Sheppard et al., 1994).

Le traitement des biodéchets par les larves de mouches soldats noires (BSFL) est une biotechnologie émergente de gestion des déchets (Čičková et al., 2015 ; Gold et al. 2018b ; Zurbrügg et al., 2018), de lubrifiants et de biodiesel (Li et al., 2011 ; Leong et al., 2016 ; Franco et al., 2021), des produits pharmaceutiques (Vilcinskis, 2013 ; Surendra et al., 2020 ; Wong et al., 2020) et des aliments pour animaux (Makkar et al., 2014 ; Sánchez-Muros et al., 2014 ; Barragán-Fonseca et al., 2017 ; Wang et Shelomi, 2017 ; Shah et al., 2022).

Il s'agit d'une meilleure alternative par rapport aux autres techniques de compostage, compte tenu de son faible coût, de son faible entretien, de son fonctionnement moins sophistiqué et facile, de ses besoins en terres, de sa faible empreinte écologique et de son potentiel économique plus adapté. Ce processus convertit les déchets en biomasse larvaire, réduit la masse sèche des déchets et génère les matières premières pour la production d'amendements de sol et d'engrais (**Setti et al., 2019**).

En raison de sa forte teneur en nutriments et de son potentiel d'utilisation en tant qu'engrais organique, l'engrais BSF est un sous-produit qui se développe en popularité (**Lalander et al., 2015 ; Oonincx et al., 2015 ; Setti et al., 2019 ; Bortolini et al., 2020 ; Gärttling et al., 2020 ; Anyega et al., 2021**). Cette approche est la plus simple méthode pour produire des fertilisants organiques. Ce résidu (Frass) fait que le compost produit par la décomposition des larves est plus propre et dépourvu de microbes dangereux qui peuvent nuire à la santé des humains, des bovins, et les plantes. L'avantage de ces larves est qu'elles renferment des microorganismes symbiotiques, tels que les *Bacillus* sp., qui ont une activité contre les agents pathogènes et rhizobactéries favorables à la croissance (**Kusumawati et al., 2018; Lopes et al., 2022**).

Il contient à la fois des composants macro et micro nécessaires à d'autres êtres vivants, tels que les plantes. La composition chimique varie selon le type de substrat et d'autres facteurs. La teneur en minéraux est de 3,27% d'Azote, 3,38% de Phosphore, 9,74% de Potassium, 40,95% de Calcium organique, un rapport C/N de 12,50%, et 11,04% de teneur en eau (**Nuryana et al., 2022**).

III. Boissons probiotiques

Dans la tendance alimentaire moderne, le paradigme de la santé et de la nutrition a radicalement changé au cours des deux dernières décennies. Au-delà de fournir les nutriments de base dont nous avons besoin, la nourriture est désormais considérée comme un outil pour optimiser le bien-être. Les consommateurs s'intéressent de plus en plus à l'adaptation d'une alimentation saine, qui contribue à prévenir les maladies. De plus en plus, le développement de nouveaux aliments fonctionnels et leur incorporation dans une alimentation saine a une grande importance. Les boissons fermentées sont des produits traditionnels qui agissent comme véhicules de probiotiques dans l'alimentation humaine (**Granato et al., 2010 ; Shori, 2016**).

Récemment, les boissons probiotiques ont été un secteur croissant crucial dans l'exploitation du lactosérum de lait dans le monde entier. Un nombre important de produits fermentés porteurs de souches probiotiques ont été développés par l'industrie alimentaire. Des quantités suffisantes de probiotiques viables sélectionnés dans les produits fermentés présentent de nombreux avantages pour la santé humaine (**Gürakan et al., 2010 ; Özer & Kirmaci, 2010 ; Baschali et al., 2017**).

L'ingestion de probiotiques présente de nombreux avantages pour la santé, notamment l'amélioration de la santé intestinale par la résistance aux agents pathogènes intestinaux, la réduction du cholestérol sérique, réduction de l'intolérance au lactose, réduction du risque de cancer, etc. (**Stringheta et al., 2007 ; De Vres & Schrezenmeir, 2008 ; Cenci & Chingwaru, 2010**).

III.1. Aliments fonctionnels

En raison de la prise de conscience croissante de la relation entre l'alimentation et la santé, et l'évolution de la tendance en matière de choix alimentaire, les consommateurs d'aujourd'hui sont de plus en plus soucieux d'un mode de vie plus sain et recherchent des aliments fonctionnels. Les aliments fonctionnels sont des produits qui apportent certains avantages aux humains, comme la protection du corps et même la prévention des maladies, (**Mark-Herbert, 2004 ; FAO, 2007 ; Nystrand & Olsen, 2021**).

L'industrie alimentaire s'est récemment orientée entre autres vers la production d'aliments fonctionnels. Les micro-organismes probiotiques et les composants prébiotiques

entrent dans cette catégorie d'aliments fonctionnels. Bien que des matrices alimentaires laitières soient traditionnellement utilisées pour leur élaboration. La viabilité de ces produits et leur persistance ont suscité un intérêt particulier, car elles dépendent clairement de la technique utilisée pour l'inoculation ou l'ajout des micro-organismes. Cette persistance est généralement affectée à la fois par la transformation des aliments et par la durée de stockage **(Roberfroid, 2000 ; Granato et al., 2010)**.

Depuis leur apparition, ces aliments fonctionnels ont attiré l'attention en raison de la gamme d'attributs nécessaires au maintien d'une santé durable. Il s'agit d'un concept relativement nouveau pour l'industrie alimentaire qui tente de développer des aliments fonctionnels en tant que produits ciblés pour moduler l'équilibre du microbiote intestinal **(Bandyopadhyay & Mandal, 2014)**.

Le terme aliments fonctionnels englobe à la fois les aliments naturels et transformés industriellement, qui « lorsqu'ils sont régulièrement consommés dans le cadre d'un régime alimentaire diversifié à des niveaux efficaces, ont des effets potentiellement positifs sur la santé au-delà de la nutrition de base » **(Granato et al., 2020)**. Par conséquent, les aliments fonctionnels favorisent une santé optimale et réduisent le risque de maladies non transmissibles **(Granato et al., 2017)**. Les aliments fonctionnels ont également été appelés aliments médicinaux, nutraceutiques, aliments thérapeutiques, super-aliments, et alicaments **(Finley, 1996)**.

III.1.2. Probiotiques

Probiotique est un mot relativement nouveau signifiant « pour la vie » et il est généralement utilisé pour nommer les bactéries associées aux effets bénéfiques pour les humains et les animaux. À l'heure actuelle, la définition scientifique la plus largement acceptée des probiotiques, formulée en 2002 par la FAO (Food and Agriculture Organization of the United) et WHO (World Health Organization) sont des micro-organismes qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un avantage pour la santé sur l'hôte » **(FAO/WHO., 2002)**.

Pour être qualifié de probiotique, un micro-organisme doit répondre à plusieurs critères. Il doit appartenir à la même espèce que celle ciblée, il ne doit pas être pathogène

pour l'hôte, il doit survivre au transit dans le tractus gastro-intestinal et conserver sa viabilité durant un stockage prolongé (Picardo et al., 2020; Lopes et al., 2023).

III.1.2.1. Effets bénéfiques des probiotiques sur la santé

Quelques avantages pour la santé sont revendiqués en faveur des produits contenant des organismes probiotiques (figure 5), notamment une activité antimicrobienne et des infections gastro-intestinales, une amélioration du métabolisme du lactose, des propriétés antimutagènes, des propriétés anticancérigènes, une réduction du cholestérol sérique, des propriétés anticonstipation et antidiarrhéiques, stimulation du système immunitaire, traitement des maladies inflammatoires de l'intestin et suppression de l'infection à *Helicobacter pylori* (Kurmann & Rasic, 1991 ; Shah, 2004 ; Nagpal et al., 2013). Certains des avantages pour la santé sont bien établis, tandis que d'autres ont donné des résultats prometteurs dans des modèles animaux. Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires chez l'homme pour étayer ces affirmations. Les bienfaits pour la santé apportés par les bactéries probiotiques sont spécifiques à une souche et non à une espèce ou à un genre. Il est important de noter qu'aucune souche ne fournira tous les avantages proposés, pas même les souches de la même espèce, et que toutes les souches de la même espèce ne seront pas efficaces contre des problèmes de santé définis.

Dans ses recherches, (Playne et al., 2003 ; Shah, 2006a, b) ont montré que les souches *L. rhamnosus* GG, *S. cerevisiae* Boulardii, *L. casei* Shirota et *B. animalis* Bb-12 présentent des données prometteuses sur la santé humaine. Ces souches ont la capacité à traiter l'intolérance au lactose et de diarrhées (à rotavirus, associée aux antibiotiques et à *Clostridium difficile*).

Il existe suffisamment de preuves pour étayer l'opinion selon laquelle l'administration orale de *Lactobacillus* et de *Bifidobacterium* est capable de rétablir l'équilibre normal des populations microbiennes dans l'intestin (Shah, 2006b).

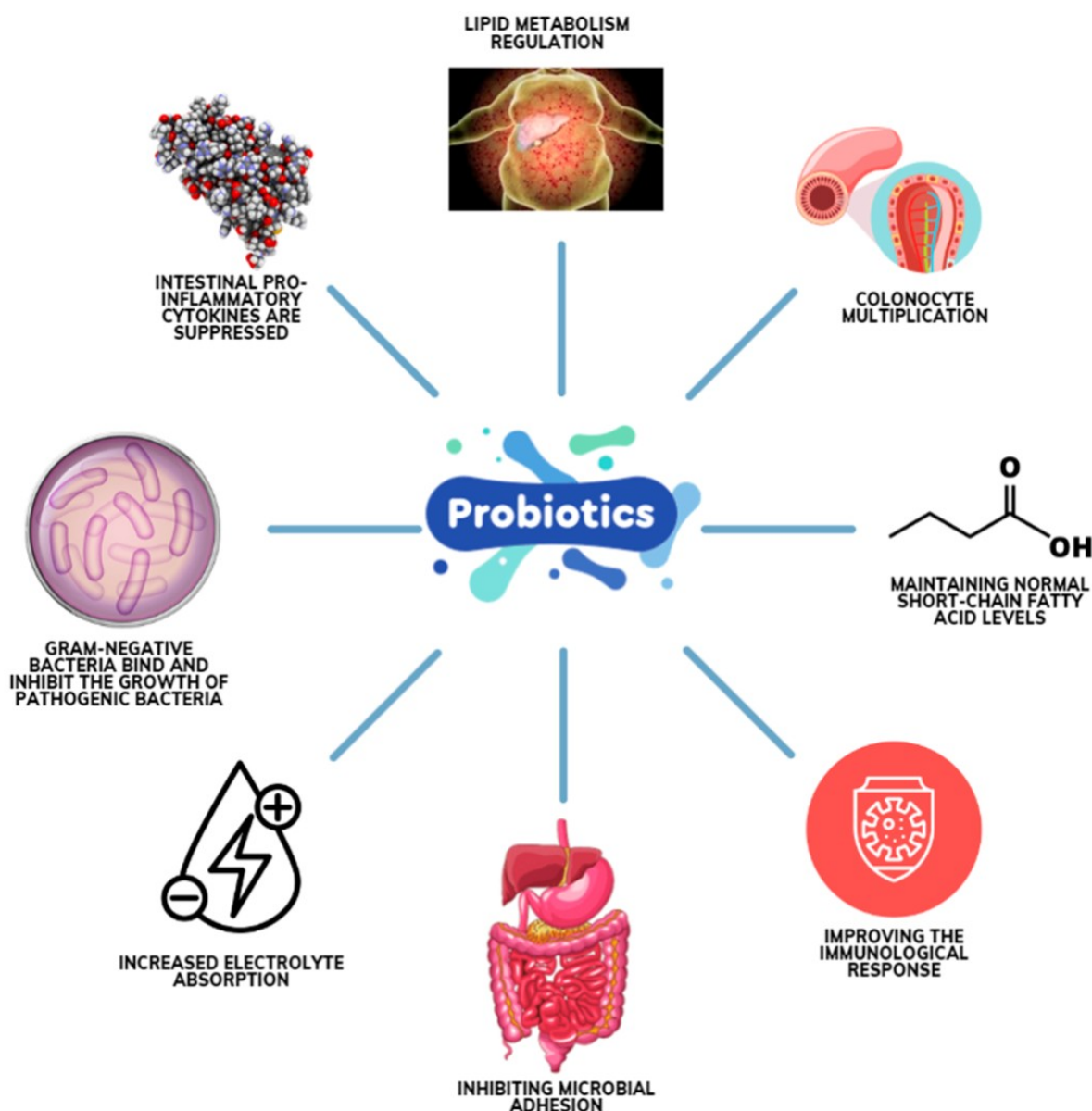


Figure 5. Principaux effets bénéfiques de probiotiques sur la santé (Maftai et al., 2024)

III.1.2.2. Souches probiotiques

Sur la base d'études détaillées, il a été démontré que les caractéristiques probiotiques ne sont pas liées à une espèce spécifique de micro-organismes, mais ils sont plutôt attribués à des souches spécifiques et en même temps rares (tableau 3). Les micro-organismes probiotiques les plus approfondis sont les bactéries du genre *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* et la levure *Saccharomyces Bulardii* (Holzapfel & Schillinger, 2002 ; Shah, 2007).

Tableau 3. Principaux organismes probiotiques fermentaires pour les aliments et boissons fermentés courants (Marco et al., 2017 ; Maftei et al., 2024).

Genres	Souches	Source alimentaire	Avantages potentiels
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. acidophilus</i> <i>L. sake</i> , <i>L. brevis</i> <i>L. delbrueckii ssp. bulgaricus</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>L. reuteri</i> <i>Lc.casei</i> , <i>Lc. plantarum</i>	Yaourt, aliments fermentés, pain, choucroute, vin, céréales (avoine, son, grain entier, etc.)	Gastro-entérite, soulagement de l'intolérance au lactose, modulation du système immunitaire, protection contre le cancer, modulation de l'activité cérébrale, soulagement de l'inflammation, réduction du cholestérol, prévention de la colonisation pathogène, résistance à la bile
<i>Streptococcus</i>	<i>St., thermophilus</i>	Yaourt	Peut produire des composés antioxydants et atténuer le risque de certains types de cancer ; a des effets anti-inflammatoires et antimutagènes et stimule le système immunitaire intestinal ; et est utile dans les maladies inflammatoires de l'intestin.
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. infantis</i> , <i>B. adolescentis</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. longum</i>	Yaourt, kéfir, kombucha(thé fermenté), choucroute	Diarrhée résistante à la bile, associée aux antibiotiques, eczéma, modulation du système immunitaire, capacités de réduction du cholestérol
<i>Saccharomyces</i>	<i>Sa. Boulardii</i>	Yaourt, vin, Kombucha, choucroute	Diarrhée associée aux antibiotiques, Prévention des infections récurrentes à <i>Clostridium difficile</i> , Syndrome du côlon irritable, diarrhée du voyageur
<i>Escherichia coli</i>	<i>E. coli NISSLE 1917</i>	Capsules	Utilisé dans le traitement des maladies intestinales (diarrhée, maladie inflammatoire de l'intestin, colite ulcéreuse) ; peut présenter des effets antagonistes sur diverses bactéries pathogènes intestinales ; régule la sécrétion de facteurs immunitaires in vivo ; et améliore la capacité de l'immunité de l'hôte.
<i>Bacillus</i>	<i>Ba. subtilis</i> , <i>Ba. Coagulans</i>	Natto	Utilisé dans le traitement de la diarrhée, dans l'éradication de <i>H. pylori</i> et dans la production de vitamine K. Peut réguler l'équilibre du microbiote intestinal et améliorer l'immunité ; favorise le métabolisme et l'utilisation des nutriments ; et est capable de résister à des températures élevées et a une résistance aux acides et à la bile

L., *Lactobacillus*; *Lc.* *Lacticaseibacillus*, *St.*, *Streptococcus*; *B.* *Bifidobacteriu* ; *Sa.*, *Saccharomyces*; *Ba.*, *Bacillus*, *E. Escherichia*.

III.1.3. Prébiotiques

Les prébiotiques, ont été définis pour la première fois par **Gibson et Roberfroid (1995)**, ont été utilisées pour manipuler les microbes de l'hôte pour améliorer les résultats de santé mesurables. Une mise à jour de la définition du prébiotique publiée en 2017 comme « un substrat qui est sélectivement utilisé par les micro-organismes hôtes conférant un bénéfice pour la santé » a été contrainte par la nécessité de clarifier ce qui a fait et ne constituait pas une substance prébiotique face aux avancées scientifiques (**Gibson, 2017**).

Au cours des dernières décennies, le terme « prébiotique » a évolué de manière significative. Le concept de prébiotiques a été introduit en 1995 comme « des ingrédients alimentaires non digestibles, qui présentent des effets bénéficiaux sur l'hôte en stimulant sélectivement la croissance et la prolifération d'une ou une bactérie spécifique dans le côlon qui améliore considérablement la santé de l'hôte » (**Gibson & Roberfroid, 1995**). À cette époque, les substances capables d'améliorer le nombre de bactéries, principalement les bifidobactéries et les lactobacilles, étaient également considérées comme des prébiotiques. Cependant, en 2004, la définition a été mise à jour pour « ingrédients fermentés sélectivement qui améliorent spécifiquement l'activité et la composition de la microflore gastro-intestinale et apportent des avantages pour la santé et le bien-être de l'hôte », décrivant ainsi les conditions qui présentent des effets bénéfiques sur l'hôte. Selon cela, les prébiotiques devraient avoir la capacité de résister à la digestion de l'hôte et d'être fermentés par la microflore intestinale (**Gibson et al., 2004**). Après quelques années, en 2010, avec le développement des recherches scientifiques et des preuves sur la densité et la diversité des espèces probiotiques, l'Association Scientifique Internationale pour les Probiotiques et les Prébiotiques (ISAPP) a publié une déclaration de solidarité révisant la définition du prébiotique alimentaire comme « un prébiotique alimentaire sélectif ». Ingrédient fermenté qui entraîne des changements spécifiques dans la composition et l'activité du microbiote gastro-intestinal, conférant ainsi un (des) bénéfice(s) sur la santé de l'hôte » (**Gibson et al., 2010**).

Certains oligosaccharides, de par leur structure chimique, sont résistants aux enzymes digestives et passent donc dans le gros intestin où ils deviennent disponibles pour la fermentation par les bactéries saccharolytiques.

Pour qu'il soit un prébiotique, il faut répondre aux critères suivants ;

- 1) ni hydrolysé ni absorbé dans la partie supérieure du tractus gastro-intestinal ;
- 2) un substrat sélectif pour un ou un nombre limité de bactéries bénéfiques commensales au côlon, qui sont stimulées pour se développer et / ou sont activées métaboliquement ;
- 3) Par conséquent, être capable de modifier la flore colique en faveur d'une composition plus saine.
- 4) induire des effets locaux ou systémiques qui sont bénéfiques pour la santé de l'hôte (**Gibson & Roberfroid, 1995 ; Swennen et al., 2006 ; Manigandane et al., 2012 ; Pandey et al., 2015**).

III.1.3.1. Effets bénéfiques des prébiotiques pour la santé

Les effets positifs des prébiotiques incluent les activités antimicrobiennes, anticarcinogènes, hypolipidémiques, glucosémodulatrices et anti-ostéoporotiques. Ils peuvent être utilisés pour le traitement de la constipation, de l'encéphalopathie hépatique et de la maladie inflammatoire de l'intestin. Ils peuvent se protéger contre certains agents pathogènes intestinaux et peuvent exercer des effets lipidiques favorables ainsi que des avantages dans le diabète sucré. En outre, les prébiotiques ont également un rôle très important dans l'amélioration de l'absorption et de l'équilibre minéraux, par exemple, ils peuvent améliorer l'absorption colique de certains minéraux (**Guiné et al., 2009 ; Manigandan et al., 2012 ; Pandey et al., 2015**).

Il a été démontré que les prébiotiques présentent plusieurs avantages pour la santé chez l'homme (Figure 6), tels que la réduction de la prévalence et de la durée de la diarrhée, le soulagement de l'inflammation et d'autres symptômes associés aux troubles intestinaux et des effets protecteurs pour prévenir le cancer du côlon (**Peña, 2007**). Ils sont également impliqués dans l'amélioration de la biodisponibilité et de l'absorption des minéraux, dans la réduction de certains facteurs de risque de maladies cardiovasculaires et dans la promotion de la satiété et de la perte de poids, prévenant ainsi l'obésité (**Pokusaeva et al., 2011**).

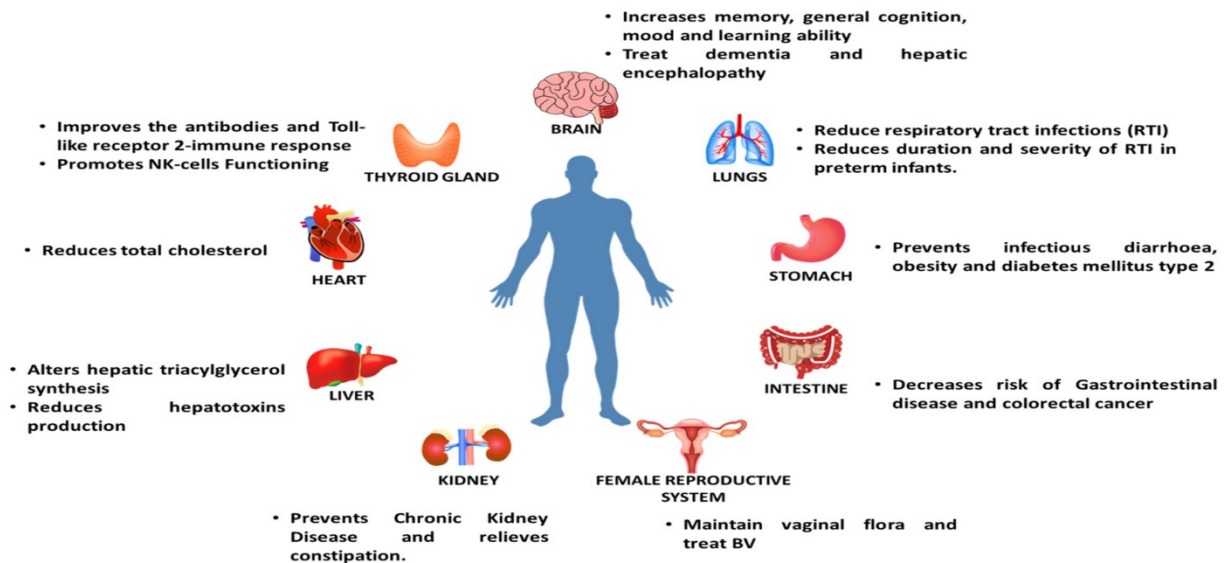


Figure 6. Effets des prébiotiques sur différents organes chez l'homme (Kaur et al., 2021).

III.1.4. Synbiotiques

Une autre possibilité de gestion de la microflore intestinale est l'utilisation de synbiotiques. Toute composition combinant probiotique et prébiotique est qualifiée de synbiotique. Les synbiotiques devraient apporter de meilleurs bénéfices en termes de santé et de bien-être des consommateurs. Par exemples, les bifidobactéries en conjonction avec les FOS et/ou avec les GOS, les lactobacilles avec lactilol, les *Saccharomyces* en conjonction avec les GOS (Manigandan et al., 2012 ; Pandey et al., 2015). La combinaison de prébiotiques et de probiotiques a des effets synergiques car en plus de favoriser la croissance des souches existantes de bactéries bénéfiques dans le côlon, les synbiotiques agissent également pour améliorer la survie, l'implantation et la croissance des souches probiotiques nouvellement ajoutées (Nagpal et al., 2007, Nagpal & Kaur 2011). Certaines des allégations de santé concernant les synbiotiques comprennent une réduction du stress, le renforcement de l'immunité et la chimioprévention du cancer du côlon, une meilleure efficacité de conversion alimentaire. Une autre étude a rapporté qu'une synbiotique contenant *Pediococcus pentoseceus*, le *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus paracasei* et *L. plantarum* avec quatre sucres fermentescibles, notamment la β -glucane, l'inuline, l'amidon résistant et la pectine ont réduit la présence des infections post-opératoires de 48% pour 13 % chez 66 patients transplantés hépatiques (Rayes et al., 2005).

III.1.5. Postbiotiques

Les postbiotiques font référence aux sous-produits métaboliques d'origine microbienne tels que les enzymes, les peptides, l'acide teichoïque, les mucopeptides dérivés du peptidoglycane, les exopolysaccharides, la surface cellulaire et les protéines sécrétées, les bactériocines et les acides organiques générées par les souches probiotiques au cours de ses durées de vie (**Tsilingiri et al., 2012 ; Konstantinov et al., 2013 ; Tomar et al., 2015**). Ce sont des métabolites qui visent à imiter les effets thérapeutiques bénéfiques des probiotiques tout en éludant le risque probable d'administrer le micro-organisme vivant (**Kataria et al., 2009**). Après la mort d'un organisme probiotique, il exsude ces postbiotiques accumulés sous forme de nutriments au cours de sa vie qui continuent de soutenir la santé. Il existe des appréhensions concernant les effets secondaires des probiotiques comme la dissémination du gène de résistance aux antibiotiques, les facteurs de virulence spécifiques à la souche, le risque de septicémie chez les bébés prématurés, etc., (**Kataria et al., 2009 ; Tomar et al., 2015**). Les postbiotiques présentent des avantages inhérents en raison de leur structure chimique évidente, de leurs paramètres de dose de sécurité, de leur durée de conservation plus longue et du fait qu'ils évitent les effets secondaires des cellules vivantes ou mortes qui peuvent altérer défavorablement les fonctions physiologiques d'un individu (**Shenderov, 2013**).

L'organisme s'éteint finalement, ils dégagent ces postbiotiques amassés comme des nutriments au cours de sa durée de vie qui continue de soutenir la santé.

III.1.6. Boissons fonctionnelles

La demande en produits laitiers probiotiques et en aliments fonctionnels a fortement progressé ces dernières décennies. Ces produits, issus d'aliments d'origine végétale ou animale, intègrent des composants bioactifs tels que polyphénols, flavonoïdes, tanins, peptides, vitamines et minéraux, et présentent des propriétés thérapeutiques potentielles allant au-delà des besoins nutritionnels de base, notamment des effets anticancéreux, immunomodulateurs et probiotiques/prébiotiques/synbiotiques (**Klopčič et al., 2020 ; Sharma, 2019**). Le développement de nouvelles approches biotechnologiques et de techniques de manipulation microbienne s'avère essentiel pour formuler des produits laitiers à haute valeur ajoutée, y compris des aliments dérivés du lait, du colostrum et du lactosérum, ainsi que des formulations adaptées à la nutrition infantile (**Brandelli et al., 2015 ; Sharma,**

2019). Les boissons fonctionnelles constituent aujourd'hui la catégorie la plus dynamique du marché, en particulier les boissons laitières probiotiques, prébiotiques et synbiotiques, qui figurent parmi les premiers produits fonctionnels commercialisés et dominent toujours ce secteur (**Özer & Kirmaci, 2010**). Historiquement, les aliments et boissons fermentés comme le yaourt, le lait fermenté, le vin et la bière étaient principalement valorisés pour leur conservation, leur sécurité et leurs qualités organoleptiques, mais il est désormais reconnu que la fermentation améliore également la valeur nutritionnelle et fonctionnelle par la formation de métabolites bioactifs (**Marco et al., 2017**). Dans les sociétés occidentales, la popularité des boissons à valeur ajoutée s'est accrue, notamment celles enrichies en protéines et destinées aux sportifs (**Parker et al., 2018**). Le lactosérum, sous-produit de la fabrication du fromage, est depuis longtemps utilisé dans la formulation de boissons laitières (**Tunick, 2008**). Récemment, la demande accrue des consommateurs de composants riches en nutriments dérivés de lactosérum a rendu ces produits rentables sur le marché comme les aliments probiotiques et fonctionnels et. Par exemple, les produits dérivés de lactosérum présentent une riche source de vitamines et de minéraux, les protéines à digestibilité plus élevée, les acides aminés essentiels, et une excellente source d'acides aminés liés au soufre, qui fournirait l'énergie pour remplir diverses fonctions métaboliques du corps (**Brandelli et al., 2015 ; Singh & Geetanjali, 2016**).

Enfin, les boissons laitières probiotiques, généralement élaborées à partir de lait, de yaourt ou de lactosérum et enrichies en micro-organismes vivants tels que *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ou *Saccharomyces boulardii*, procurent des effets bénéfiques lorsqu'elles sont consommées en quantités adéquates (**García-Burgos et al., 2020 ; Khablenko et al., 2022 ; Sarita et al., 2025**).

PARTIE II

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE 5 : MATERIELS ET METHODES

**Biotraitement du lactosérum par les larves de la mouche
soldat noir *Hermetia illucens* (Black Soldier Fly Larvae)
(BSFL)**

I. Matériels et méthodes

La partie expérimentale de la présente étude a été réalisée au niveau des laboratoires (sciences alimentaires et microbiologie) du département des sciences biologiques de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Ibn Khaldoun Tiaret ainsi que le Laboratoire de recherche en Sciences, Technologies Alimentaires et Développement Durable (LSTADD), du département des Sciences Alimentaires de Faculté des Sciences de la Nature et la Vie de l'université Saad Dahlab Blida-1.

I.1 Matériels

I.1.1 Matériel biologiques

I.1.1.1 Larves de la mouche soldat noir

Les larves de la mouche soldat noir, connues en anglais Black Soldier Fly (BSF), âgées de 10-12 jours, ont été obtenues à partir d'une colonie d'une petite entreprise spécialisée dans l'élevage de mouches soldat noir situées dans la wilaya d'Oued Souf dans le sud-est de l'Algérie (Latitude 33° 22'06" N, Longitude 6° 52'03" E).

I.1.1.2 Substrats

Quatre substrats distincts ont été utilisés pour nourrir les larves de la mouche soldat noir (BSF) :

1. L'aliment de démarrage des poussins, acheté de la FabgrainCompany localisée dans la wilaya de Tiaret, utilisé pour nourrir les larves âgées de cinq jours.
2. Les fruits et légumes endommagés, obtenus à partir d'un marché local de la ville de Tiaret, coupés en petits morceaux de 0,5 à 1 cm, utilisés pour la préparation préliminaire des larves pour l'expérimentation ultérieure.
3. Le lactosérum acide, récupéré de la laiterie Sidi Saada (Wilaya de Relizane, Ouest de l'Algérie) ainsi que le lactosérum doux récupéré de la laiterie El Manbaa (Wilaya de Saïda, Ouest de l'Algérie). Les échantillons du lactosérum, transportés dans des glacières à une température de 4°C, ont été utilisés le lendemain de leur arrivée au laboratoire.

4. Le marc de café, collecté au niveau de la Cafétéria Elbahdja située à Tiaret centre, étant complètement séché à température ambiante et conservé au congélateur (-25°C) (Larouche et al., 2019).

I.2 Méthodes

I.2.1 Dispositif expérimental

I.2.1.1 Préparation préliminaire des larves

Les larves de BSF âgées de 10 à 12 jours, placées dans une caisse en plastique (60 cm de longueur, 40 cm de largeur et 12 cm d'hauteur) sont mises dans une petite chambre (3 x 2 x 3 m) au niveau du laboratoire sous les conditions suivantes : une température de 29 ± 2 °C et une humidité relative de $45 \pm 11\%$. Elles sont nourries par des fruits et légumes endommagés mélangés avec l'aliment de démarrage de poussins jusqu'à que la majorité des larves sont transformées en nymphes ; caractérisées par une couleur noire de leur cuticule (May, 1960). Les nymphes obtenues ont été placées dans une nouvelle caisse (récipient de nymphose) contenant des copeaux de bois à l'obscurité. Cette caisse était recouverte d'une cage sombre servant d'espace de transition aux nymphes après leur métamorphose (transformation des nymphes en mouche adulte), mise dans un grillage (70 x 50 x 90 cm) sur une table, couvert par une moustiquaire. À chaque pied de la table, un récipient rempli d'eau et de gouttes de détergent a été utilisé comme piège à fourmis et insectes pour protéger les caisses et les grillages de l'invasion de fourmis (Dortmans et al., 2021). Après l'apparition des mouches adultes, la moustiquaire a été exposée à une source de lumière photopériodique (L12: D12) à une distance d'environ 60 à 70 cm. Elles sont fournies avec de l'eau et un attractif contenant des fruits endommagés fermentés afin d'attirer les mouches adultes à pondre leurs œufs dans un système qui a été conçu pour faciliter la collecte des œufs BSF. Selon Boaru et al. (2019), ce système est composé de morceaux de carton ondulé ou de petites plaques de bois superposées, séparées par des punaises et reliées entre elles par un élastique placé en dessus de l'attractif. Des photos du dispositif expérimental sont présentées en annexe 1.

I.2.1.2 Alimentation des larves âgées de cinq jours

Après la ponte des mouches, les œufs âgés de moins de 24 heures ont été collectés et placés sur une passoire à quatre pieds dans une caisse dans les mêmes conditions précédentes

en utilisant la méthode décrite par **Dortmans et al. (2021)**. Les œufs éclosent après 96-100 heures d'incubation, les nouvelles larves tombent directement sur le substrat et se nourrissent jusqu'à cinq jours.

Les caisses contenant l'alimentation du démarrage des poussins (30% de matière sèche, 70% d'humidité) mouillé avec de l'eau comme témoin, le lactosérum doux, le lactosérum acide et le lactosérum doux fermenté. Le lactosérum fermenté a été obtenu par incubation du lactosérum doux à 37°C pendant 24 heures (**Boudjema et al., 2009**).

L'élevage de la mouche du soldat noir (BSF) a été effectué selon la méthode de **Dortmans et al. (2021)**. Des larves, âgées de cinq jours, divisées en quatre lots de 200 larves pour chacun placés dans des petites boîtes en plastique (11,5 x 9 x 4 cm) contenant 30% du marc de café sec humidifié avec 70% de l'eau comme régime témoin, ou lactosérum doux, lactosérum acide et lactosérum doux fermenté comme test. Trois répétitions ont été faites par chaque traitement. La quantité de nourriture ajoutée a été fournie chaque cinq jours avec une moyenne de 200 mg/larve/jour (**Manurung et al., 2016 ; Permana & Ramadhani, 2018**).

I.2.2 Paramètres d'évaluation de la croissance et de la performance des larves de BSF

Les larves de BSF ont été récoltées après avoir observé la première nymphe. À partir de chaque récipient, toutes les larves récoltées ont été comptées et lavées par l'eau distillée pour éliminer les résidus, et leurs téguments ont été séchés avec des serviettes en papier. Un séchage de la masse obtenue dans une étuve à 70 ° C puis stockée dans un congélateur à -25 ° C.

Pour évaluer l'efficacité des larves de BSF et la réduction des substrats, de nombreux paramètres ont été calculés :

I.2.2.1 Le poids sec final d'une larve

Le poids sec final d'une larve a été déterminé, après séchage des larves vivantes finales, par la formule suivante :

$$\text{PSFL} = \text{PSFLs} / \text{NFLs}$$

Où **PSFL** représente le poids sec final d'une larve, **PSFLs** ; poids sec final des larves et **NFLs** exprime le nombre final des larves.

I.2.2.2 Le Taux de survie (TS)

Le taux de survie TS a été calculé, pour déterminer l'effet d'alimentation, selon l'équation ci-dessous (**Diener et al., 2009**) :

$$TS = (NFLsV/NILs) \times 100$$

Où TS ; désigne le Taux de survie des larves, NFLs ; Nombre final de larves vivantes, NILs ; Nombre initial des larves.

I.2.2.3 Le Taux de Croissance (TC) :

Le taux de croissance des larves (TC) a été calculé par la formule de Diener et al. (**Diener et al., 2009**) :

$$TC = ((PSF-PSI) / T)$$

Où PSF ; représente le poids sec final en mg, PSI ; représente le poids sec initial en mg et T le temps (jours)

I.2.2.4. L'Indice de Réduction des Déchets (IRD) et Réduction des Déchets (RD) :

L'indice de réduction des déchets a été mesuré selon la formule de **Diener et al. (2009)** :

$$IRD = TRD/T$$

Où TRD ; représente le taux de réduction des déchets et T ; le temps en jours

$$TRD = ((S-R) / S) \times 100$$

Avec S ; Substrat en grammes, R ; Résidus en grammes.

I.2.2.5 Digestibilité Approximative (DA) :

La digestibilité approximative DA a été calculée selon **Permana et Ramadhani (2018)** :

$$DA = ((R-S) / R) \times 100$$

Où R ; Résidus en grammes, S ; Substrat en grammes

I.2.2.6. Taux de Conversion de la Biomasse (TCB) et Taux de Conversion Alimentaire (TCA) :

Le Taux de Conversion de la Biomasse (TCB) est un indicateur utilisé pour mesurer l'efficacité avec laquelle une biomasse (comme les insectes, les algues ou d'autres sources biologiques) est convertie en un produit désiré. Cette conversion peut inclure des processus comme la production de biomasse animale, la transformation en bioénergie, ou la production de divers produits biotechnologiques (**Waldbauer, 1968**). Le TCB est calculé en divisant la quantité de biomasse convertie par la quantité de substrat initiale utilisé. En d'autres termes, il évalue combien de la biomasse initiale est transformée en un produit final. Un TCB élevé signifie que le processus de conversion est efficace, produisant une grande quantité de produit final par unité de biomasse de départ. C'est un indicateur clé pour les industries qui dépendent de la biomasse pour évaluer l'efficacité de leurs processus de production et leur impact environnemental (**Rehman et al., 2017b**)

Le taux de conversion de la biomasse (TCB) est calculé selon la formule de **Rehman et al. (2017b)** :

$$\text{TCB (\%)} = (\text{PLs} / \text{SC}) \times 100$$

Avec **PLs** ; Poids des larves en grammes et **SC** ; Substrat consommé en grammes.

Le TCA est un indice utilisé principalement dans l'agriculture et l'élevage pour mesurer l'efficacité de la conversion alimentaire des animaux en poids corporel. Il s'agit d'un indicateur de performance important permettant aux agriculteurs d'optimiser les coûts et la productivité de leur production animale (**Waldbauer, 1968**). Un TCA inférieur indique une meilleure efficacité alimentaire, ce qui signifie que les insectes utilisent les aliments plus efficacement pour grandir. Il est calculé en divisant la quantité de nourriture consommée par les animaux par leur gain de poids corporel. En d'autres termes, cela donne une idée de la quantité de nourriture nécessaire pour produire une unité de poids corporel chez les animaux (**Rehman et al., 2017b**).

Le taux de conversion alimentaire (TCA) est calculé par la formule de **Rehman et al., 2017b** :

$$\text{TCA (\%)} = (\text{SC} - \text{PLs}) \times 100$$

Où SC représente le Substrat consommé en grammes et PLs ; le Poids des larves en grammes.

I.2.3. Analyses physico-chimiques de substrats, de la biomasse et du résidu

Les matières premières (les trois types de lactosérum et marc de café sec) et les produits finis (larves séchées de BSF collectées et résidu) ont fait l'objet d'une analyse physico-chimique et ce après leur conservation dans un congélateur (-25 ° C).

I.2.3.1. Détermination du pH

Principe :

Le pH, paramètre exprimant la concentration totale des ions H_3O^+ d'une solution, est mesuré à l'aide d'une électrode en verre. Cette dernière mesure le potentiel d'hydrogène entre la solution à analyser et l'électrolyte interne.

Protocole :

Après étalonnage du pH-mètre, la valeur du pH a été mesurée par l'immersion directe de l'électrode du pH-mètre dans un bécher contenant du lactosérum acide, doux ou fermenté (AOAC, 2000). Pour le pH de marc de café et du résidu, sa mesure a été réalisée en plongeant l'électrode du pH-mètre dans une suspension, de 5g de marc de café ou du résidu dissouts dans 50ml d'eau distillée, homogénéisée et filtrée (AFNOR, 2005).

I.2.3.2. Détermination de l'acidité titrable (ISO 1166 : 1986)

Principe :

Le principe d'analyse est basé sur un phénomène de neutralisation acide-base, il s'agit d'un dosage volumétrique en présence d'un indicateur approprié jusqu'au point de virage. Un volume connu d'échantillon est neutralisé avec une solution étalon d'hydroxyde de sodium en présence de la phénolphtaléine comme indicateur. La quantité d'hydroxyde de sodium requis est fonction de la quantité de l'acide lactique (Poillot, 2010).

Protocole : un volume de 10 ml, du lactosérum, auquel sont ajoutées quelques gouttes d'une solution alcoolique de phénolphtaléine, est titré par une solution d'hydroxyde de sodium 0.1N jusqu'au point de virage (ISO 1166 : 1986).

L'acidité titrable exprimée en degré Dornic est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Acidité titrable (\%)} = 9 \times V \times N / w$$

V = Volume d'hydroxyde de sodium 0.1N nécessaire au titrage,

N = Normalité de la solution étalon d'hydroxyde de sodium (0.1N)

w = Volume de l'échantillon prélevé pour le test en ml

I.2.3.3. Détermination de l'extrait sec total (ISO 4333, 2002).

Principe :

Lorsqu'un échantillon est exposé à la chaleur dans une étuve à air, l'eau s'évapore, ce qui entraîne une diminution du poids de l'échantillon. Le pourcentage d'humidité est déterminé à partir de la différence de poids entre la masse initiale et finale de l'échantillon.

Protocole :

Un échantillon de 10g mis dans des capsules, a été placé dans une étuve réglée à 105°C jusqu'à ce que le poids devienne constant (AFNOR, 1994). La teneur en matière sèche MS se calcule selon la formule suivante :

$$\text{MS\%} = 100 \% - \text{H\%}$$

Où le taux d'humidité H est calculé selon l'expression suivante :

$$\text{H\%} = (M_1 - M_2 / P_E) \times 100$$

Où M_1 : représente le poids de la capsule + échantillon avant dessiccation, et M_2 : représente le poids de la capsule + échantillon après dessiccation, P_E : La prise d'essai.

I.2.3.4. Dosage des cendres

Principe :

La méthode de dosage des cendres repose sur la calcination des échantillons dans un four à moufle à une température de 550°C. Le résidu inorganique restant après l'oxydation complète exprime la teneur en cendres (AFNOR, 1985 ; AOAC, 1995).

Protocole :

Une prise d'essai de 3 g, mis dans un creuset pesé au préalable, est introduite dans un four à moufle pendant 4 à 5 heures à 550°C. Après la combustion, et en respectant les mesures nécessaires les creusets sont récupérés et pesés. La teneur en cendres pour chaque échantillon est calculée en utilisant la formule suivante :

$$\text{Cendres (\%)} = (M_2 - M_0) / (M_1 - M_0) * 100$$

Où

M_0 : Masse du creuset vide en (g), M_1 : Masse du creuset et de la prise d'essai en (g), M_2 : Masse du creuset et des cendres obtenues en (g).

I.2.3.4. Détermination de la conductivité électrique :**Principe :**

La conductivité électrique d'une solution correspond à la capacité des ions à conduire le courant électrique. Ce courant est généré par la migration des ions dans un champ électrique induit par un courant alternatif.

Protocole :

Pour mesurer la conductivité, on place 5g d'échantillon dans un bécher et on ajoute 50 ml d'eau distillée. Le mélange est agité pendant 5 minutes pour assurer son homogénéité. Ensuite, on mesure la conductivité à l'aide d'un conductimètre (EC 214, HANNA Instruments Inc, Woonsocket-USA) (AFNOR, 1994).

I.2.3.5. Détermination de la matière grasse**I.2.3.5.1. Détermination de la matière grasse du lactosérum (méthode Gerber)****Principe :**

Le lactosérum est mélangé avec de l'acide sulfurique et de l'alcool iso-amylque dans un tube Gerber spécial, ce qui permet la dissolution des protéines et la libération de la graisse. Les tubes sont centrifugés et la matière grasse qui remonte dans la partie calibrée du tube est

mesurée en pourcentage de la teneur en matière grasse de l'échantillon de lactosérum (ISO, 2018).

Protocole :

La méthode Gerber est utilisée pour mesurer la teneur en matière grasse du lactosérum, dans un butyromètre, 10 ml d'acide sulfurique concentré sont soigneusement introduits, suivis par l'ajout doux de 11 ml de lactosérum bien agité et 1 ml d'alcool iso-amylque. Le butyromètre est fermé hermétiquement et agité avec précaution pour éviter toute exposition à la chaleur émise. Après centrifugation à 1100 tours par minute pendant 5 minutes dans une centrifugeuse Gerber, le butyromètre est placé dans un bain-marie à 70°C pendant 10 minutes sans inversion. En utilisant le bouchon, la quantité de matière grasse est lue directement à partir de l'échelle du butyromètre, en alignant le début de la couche de matière grasse avec le repère "0" (ISO, 2018).

I.2.3.5.2. Détermination de la matière grasse des larves BSF et du marc de café (Soxhlet) :

Principe :

La teneur en matières grasses brutes est déterminée par extraction de la matière grasse, de l'échantillon à l'aide d'éther de pétrole ou d'hexane normal comme solvants organiques, à partir d'un échantillon séché en utilisant dans l'appareil Soxhlet. La teneur en matière grasse brute est déterminée en calculant la différence de poids du ballon d'extraction avant et après l'extraction (Nielsen, 2017).

Protocole :

Pour effectuer l'extraction, 5g de marc de café ou 5g de larves de BSF séchées sont placés dans des cartouches de l'appareil d'extraction. Ensuite, 150 ml d'hexane sont versés dans le ballon. Le ballon est alors monté sur l'appareil à extraction, qui est placé sur un bain à chauffage électrique. À ce stade, un siphon aspire la solution de la cartouche et la retourne dans le ballon à distiller, transportant ainsi les substances dissoutes extraites dans le liquide en continu. Après une période d'extraction de 6 heures, l'appareil est éteint et laissé refroidir. Par distillation, le solvant est évaporé par chauffage dans un rota-vapeur, puis le ballon

contenant le résidu huileux est pesé pour déterminer le rendement de l'extraction (AOAC, 2005, Method 2003.05).

La teneur en matière grasse est exprimée par la formule suivante :

$$MG (\%) = (M_2 - M_1) / P_E \times 100$$

M_1 : poids du ballon vide, M_2 : poids du ballon après évaporation, P_E : masse de la prise d'essai, MG : taux de la matière grasse.

I.2.3.6. Dosage des protéines

Les protéines des échantillons ont été déterminées après le dosage de l'azote total par la méthode Kjeldhal. La teneur en protéines brutes, exprimée en pourcentage massique, est obtenue en multipliant la teneur en azote total par 6,25, 6,25 et 6,38 pour le marc de café (Ballesteros et al., 2014), les larves BSF séchées (Rumpold & Schlüter, 2013 ; Janssen et al., 2017) et le lactosérum (AFNOR, 1993), respectivement.

I.2.3.7. Dosage de l'azote total par la méthode Kjeldahl

Principe :

L'échantillon à analyser est pesé dans une fiole de digestion et digéré en le chauffant en présence d'acide sulfurique concentré comme oxydant, de sulfate de potassium anhydre (pour accélérer la réaction en élevant le point d'ébullition) et d'un catalyseur, tel comme le cuivre (accélérer la réaction). La digestion convertit tout l'azote contenu dans les aliments en ammoniac et d'autres matières organiques en CO_2 et H_2O . Ensuite, la solution dans le ballon de digestion est alcalinisée par l'ajout d'hydroxyde de sodium qui est distillé à la vapeur et convertit le sulfate d'ammonium en gaz ammoniac. L'ammoniac gazeux est libéré de la solution et sort du ballon de digestion vers le ballon de réception qui contient un excès d'acide borique. Ensuite, le faible pH de la solution dans le ballon récepteur convertit l'ammoniac gazeux en ion ammonium et convertit simultanément l'acide borique en ion borate (Kirk & Sawyer, 1991). Enfin, la teneur en azote est estimée par titrage du borate d'ammonium avec de l'acide chlorhydrique standard à l'aide d'un indicateur approprié pour déterminer le point final de la réaction.

Protocole :

A 1 g d'échantillon pesé à l'aide d'une balance analytique, 0.2 g de catalyseur CuSO_4 et 7 g de K_2SO_4 ont été ajoutés. Ensuite, entre 15 et 25 ml d'acide sulfurique concentré à 98% ont été versé dans chaque matras contenant l'échantillon. Chaque matras a été placé dans un bloc de chauffage d'un digesteur et chauffé à 420°C pendant une heure et demie, jusqu'à décoloration. Une fois le chauffage est terminé, éteignez le digesteur et laissez-le refroidir. Neutralisez ensuite l'échantillon digéré en ajoutant du NaOH à 40% jusqu'à neutralisation. L'ammoniac formé est distillé dans une solution d'acide borique, contenant le bleu méthylène et rouge de méthyle comme indicateurs, puis titrer par de l'acide chlorhydrique 0.1N (AOAC, 2012, Method 2001.11).

Expression des résultats

La teneur en azote total N est calculée selon la formule suivante

$$N (\%) = (N_{\text{HCl}} \times V_{\text{HCl}} \times 14 / M_{\text{Ech}}) \times 100$$

Où N_{HCl} : correspond à la Normalité d'HCl, V_{HCl} : Volume d'HCl, **14** : Masse molaire de l'Azote (g/mol) et M_{Ech} : la masse de prise d'essai.

I.2.3.8. Dosage du lactose « méthode de Dubois et *al.*, 1956 »**Principe :**

Cette méthode repose sur l'utilisation de l'acide sulfurique concentré à chaud pour déshydrater les oses. Ce processus conduit à la formation d'hydroxy-méthyl furfural (HMF) pour les hexoses et de furfural pour les pentoses. Ces produits réagissent avec le phénol pour former des complexes, de couleur jaune orangé. Pour quantifier cette concentration, l'absorbance de ces complexes est mesurée à une longueur d'onde de 488 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

Protocole :

1 ml du lactosérum dilué est mélangé avec 1 ml de phénol à 5% et 5 ml d'acide sulfurique. Après agitation, le mélange réactionnel est alissé au repos pendant 10 minutes à température ambiante, puis est incubé au bain marie à 30°C pendant 30 minutes. Les absorbances sont ensuite mesurées à 488 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible

(JENWAY, 7205) et les valeurs obtenues sont converties en concentrations de lactose en se référant à une courbe d'étalonnage préalablement établie (Dubois et *al.*, 1956). La courbe d'étalonnage a été tracée en utilisant des solutions de lactose à des concentrations comprises entre 0 et 100 µg/ml (Annex 2).

I.2.3.9. Dosage des fibres brutes

Principe :

Pour la détermination des fibres brutes, l'échantillon doit être finement broyé pour faciliter l'interaction avec les produits chimiques et extraire la graisse des aliments avant de quantifier la fibre brute pour faciliter le processus de digestion et de filtration. Ensuite, la fibre brute est déterminée gravimétriquement après digestion chimique et solubilisation d'autres matériaux présents en traitant l'échantillon avec de l'acide sulfurique bouillant, puis avec de l'hydroxyde de potassium bouillant ou de l'hydroxyde de sodium. Le résidu restant après la calcination du résidu et la soustraction des cendres est appelé fibre (Thiex, 2009).

Protocole :

2 g de l'échantillon, préalablement séché à 105 °C pendant 3 h, sont placés dans des béchers de 600 ml de capacité à lesquels sont ajoutés 200 ml de solution d'acide sulfurique à 1.25 %. Faire bouillir les mélanges pendant 30 minutes en les agitant périodiquement. Ensuite filtrer les résidus et les laver avec de l'eau distillée chaude. Après ce temps, 200 ml d'une solution d'hydroxyde de potassium à 1.25 % sont additionnés dans chaque bécher contenant ces résidus et faire bouillir pendant 30 minutes, en maintenant le niveau du liquide avec de l'eau distillée chaude. Une série de lavages est appliquée aux résidus pendant la deuxième filtration ; laver les résidus trois fois avec de l'eau distillée chaude, une fois avec l'eau distillée froide et les rincer une fois avec l'acétone (3 x 25 ml). Sécher les résidus composés de fibres et de minéraux dans une étuve à 130°C pendant trois heures, les refroidir dans un dessiccateur et enregistrer leur poids (W_1). Calciner les creusets avec leur contenu dans un four à moufle à 550°C pendant 3 heures, puis les refroidir dans un dessiccateur. Enfin, peser chaque creuset et enregistrer ce poids comme (W_2). Utiliser ces mesures pour calculer la teneur en fibres brutes de l'échantillon (AOAC, 2005, Method 978.10).

$$\text{Fibres brutes (\%)} = (W_1 - W_2) / W_3 \times 100$$

Où ; W_1 : poids de (creuset + échantillon) après séchage, W_2 : poids de (creuset + échantillon) après incinération, W_3 : poids de l'échantillon

I.2.3.10. Détermination de la teneur en glucides totaux

La teneur en glucides des échantillons a été déduite plutôt que déterminée par analyse directe (Nielsen, 2017).

Glucides (%) = 100 - (Humidité + Protéines + Matière Grasse + Fibres + Minéraux)

I.2.3.11. Dosage du carbone organique

Principe :

Le carbone organique est oxydé par de l'acide chromique et d'acide sulfurique, puis l'excès d'acide chromique non réagi est dosé par titration en présence d'indicateur coloré (la diphénylamine). Pour le calcul, on suppose que la quantité d'oxygène consommée est proportionnelle à la quantité de carbone à doser. Le dosage se fait à froid à l'aide d'une solution de sel de Mohr (Nelson & Sommers, 1983).

Protocole :

1g de résidu broyé et tamisé à 0.2 mm est placé dans un Erlenmyer, 10 ml de dichromate de potassium (08%) avec 20 ml d'acide sulfurique concentré sont ajoutés. Le mélange est agité sur une plaque chauffante jusqu'à ébullition pendant 05 mn, puis laissé au repos pendant 30 min. Après refroidissement, la solution est ajustée à 200 ml par addition d'eau distillée. Ensuite, un échantillon de 20 ml de cette suspension est introduit dans une fiole jaugée de 250 ml, dilué à 150 ml auquel sont ajoutés 3 gouttes de diphénylamine ainsi que 1 ml d'acide phosphorique H_3PO_4 . Par la solution de sel de Mohr (0.2N), la solution obtenue est titrée en agitant jusqu'à virage de la couleur vers le bleu vert. Dans les mêmes conditions, procéder à un témoin en remplaçant le résidu par 1g de sable calciné (en trois répétitions). La teneur en carbone organique exprimée en % (g/100g) est calculée comme suit (Anne, 1945) :

$$C(\%) = 0.9975 \times N \times (V_0 - V)$$

Où N : exprime la normalité de la solution de sel de Mohr, V_0 : le volume en millilitre de sel de Mohr versé du témoin, V : le volume en millilitre de sel de Mohr versés de l'échantillon.

I.2.3.12. Rapport C/N

Le rapport C/N (Carbone organique/Azote total) est un indicateur du niveau de décomposition ou de maturation de la matière organique présente, excluant les situations de culture récente. Un rapport C/N > 12 indique généralement des conditions défavorables pour la décomposition de la matière organique.

I.2.3.13. Dosage du phosphore assimilable (Méthode de JORET-HEBERT)

Principe :

Le phosphore assimilable est extrait en utilisant de l'oxalate d'ammonium (le rapport résidu/eau est de 1/25). Le dosage repose sur la formation et la réduction d'un complexe entre l'acide phosphorique et l'acide molybdique. Dans la solution d'oxalate d'ammonium contenant du phosphate, l'ajout d'un réactif sulfomolybdique et d'une solution d'acide ascorbique provoque, par chauffage, l'apparition d'une coloration bleue. L'intensité de cette coloration est proportionnelle à la concentration en orthophosphates (**Pansu & Gautheyrou, 2006**).

Protocole :

Le phosphore assimilable est dosé en deux étapes :

1- Extraction

Dans un flacon de 150 ml, introduire 4g de résidu broyé et tamisé à 2 mm, ensuite ajouter 100 ml d'une solution d'oxalate d'ammonium (0.2N) ajustée à un pH compris entre 6.5 et 7. Mettre le flacon sous agitation mécanique pendant 2 heures. Le mélange obtenu est filtré sur un filtre plissé et la solution est recueillie dans un flacon de 100 ml.

2- Colorimétrie

Le dosage est effectué sur un volume de 10 ml dans des tubes à essai en pyrex 20–200.

Les réactifs ont été additionnés de la façon suivante :

- 1.5ml de prise d'essai.
- 2ml de réactif sulfomolybdique.

- 6.5 ml de solution d'acide ascorbique (1g/l).

Après une homogénéisation suffisante des solutions, les tubes sont placés dans un bain marie pendant 10 à 12 mn. Après refroidissement, des solutions, une lecture des absorbances à 650 nm a été effectuée.

Expression du résultat :

$$P_2O_5 \text{ (ppm)} = X (U*V) / (v * p)$$

$$P_2O_5 \text{ (ppm)} = X * 1000/6$$

Où :

X : concentration lue sur le graphique en mg/l (ppm) de P_2O_5 , **U** : volume colorimétrique (10 ml), **v** : volume de prise d'essai (1.5 ml), **V** : volume de la solution d'extraction (100 ml), **P** : poids de la prise de résidu (4g).

CHAPITRE 5 : MATERIELS ET METHODES

(Suite)

**Formulation et suivi du comportement d'une
boisson synbiotique à base de lactosérum
enrichie avec le lait de soja et édulcorée avec le
sirop de datte**

II. Matériel et Méthodes

II.1 Matériel

II.1.1. Matériel biologique

Pour préparer la boisson probiotique à base de lactosérum, quatre produits ont été utilisés, le lait de soja, le sirop de dattes, le lactosérum doux et du levain (*Bacillus subtilis*) :

1. Le lactosérum doux, utilisé comme composant principal, a été obtenu de la laiterie El Manbaa (Wilaya de Saïda, Ouest de l'Algérie). Les échantillons du lactosérum, transportés dans des glacières à une température de 4°C, ont été utilisés le lendemain de leur arrivée au laboratoire.
2. Le lait de soja a été obtenu par extraction aqueuse des grains de soja, utilisé pour enrichir la boisson formulée. Les grains de soja ont été achetés d'une superette d'alimentation localisée dans la wilaya de Tiaret, Ouest de l'Algérie.
3. Le sirop de dattes a été obtenu par extraction pour utilisation comme édulcorant naturel.
4. Les levains bactériens bénéfiques employés de *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ont été offerts en forme liquide commerciale (10^9 UFC/ml) par le laboratoire des Micro-Organismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé LMBAFS-Mostaganem.

II.2. Méthodes

II.2.1. Protocole expérimental

La préparation de la boisson fonctionnelle passe par plusieurs étapes :

II.2.1.1. Préparation du lait de soja

Les grains de soja entiers ont été lavés, trempés dans de l'eau distillée pendant une nuitée, et laissés égoutter pendant une heure. Les grains de soja enflés ont été décortiqués et moulus avec de l'eau tiède selon un rapport de 1:10 (p/v) à l'aide d'un mélangeur pendant 3 à 5 min. L'extrait des grains de soja, a été chauffé à 80°C pendant 15 min puis, filtré pour séparer les résidus insolubles et le lait de soja. Le lait de soja obtenu a été stérilisé par

autoclavage à 121°C pendant 10-15 min (Pathomrungsyounggul et al., 2010 ; Lee et al., 2016).

II.2.1.2. Préparation du sirop de dattes

Le sirop de dattes a été obtenu par extraction aqueuse en suivant une méthode traditionnelle très répandue en Algérie. Des fruits de la variété H'mira ont été lavées avec de l'eau puis déshydratées par egoutage. Les fruits déshydratés ont subi un traitement thermique avec de l'eau chaude. Le mélange a été filtré et concentré par un chauffage jusqu'à l'obtention d'un sirop de couleur marron-rouge (Mimouni & Siboubkeur, 2011 ; Hariri et al., 2017).

II.2.1.3. Formulation des boissons probiotiques

Le diagramme de la figure 7 illustre les différentes étapes de la formulation de la boisson probiotique. La boisson préparée se fait en mélangeant le lactosérum doux additionné par 05% du lait de soja, le mélange obtenu a été édulcoré par trois proportions (5, 10 et 15%) de sirop de dattes. Ensuite les boissons sont soumises à une homogénéisation, pasteurisation à 80°C pendant 10-15 minutes dans un bain marie puis refroidissement à 37°C. Le produit final est conditionné dans des flacons en verre de 250 ml. Le temps d'incubation ainsi que la concentration de la souche probiotique *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ont été optimisés pour définir les paramètres idéaux. Chaque flacon a été inoculé, dans des conditions aseptiques, par 1.5% d'inoculum de *Bacillus subtilis* ATCC 6633 en appliquant une fermentation agitée à 37°C pendant 5 heures dans un bain marie secoueur (GFL, 1083, Germany). Après fermentation, les bouteilles ont été conservées dans un réfrigérateur à 04-06° C. Les boissons réfrigérées ont été soumises à un suivi post-fermentaire de leur comportement de 28 jours (5h, 24h, 7jrs, 14jrs, 21jrs et 28 jrs) sur une multitude d'aspects. Il comporte les paramètres physico-chimiques (pH, Acidité, TSS, Degré Brix, Densité), les métabolites secondaires et les activités biologiques (Polyphénols totaux, Flavonoïdes, Tannins et activité antioxydante "DPPH"), le suivi de la viabilité de *Bacillus subtilis*, la surveillance de la salubrité microbiologique par dénombrement des bactéries pathogènes, levures et moisissures et en fin l'évaluation de la qualité sensorielle.

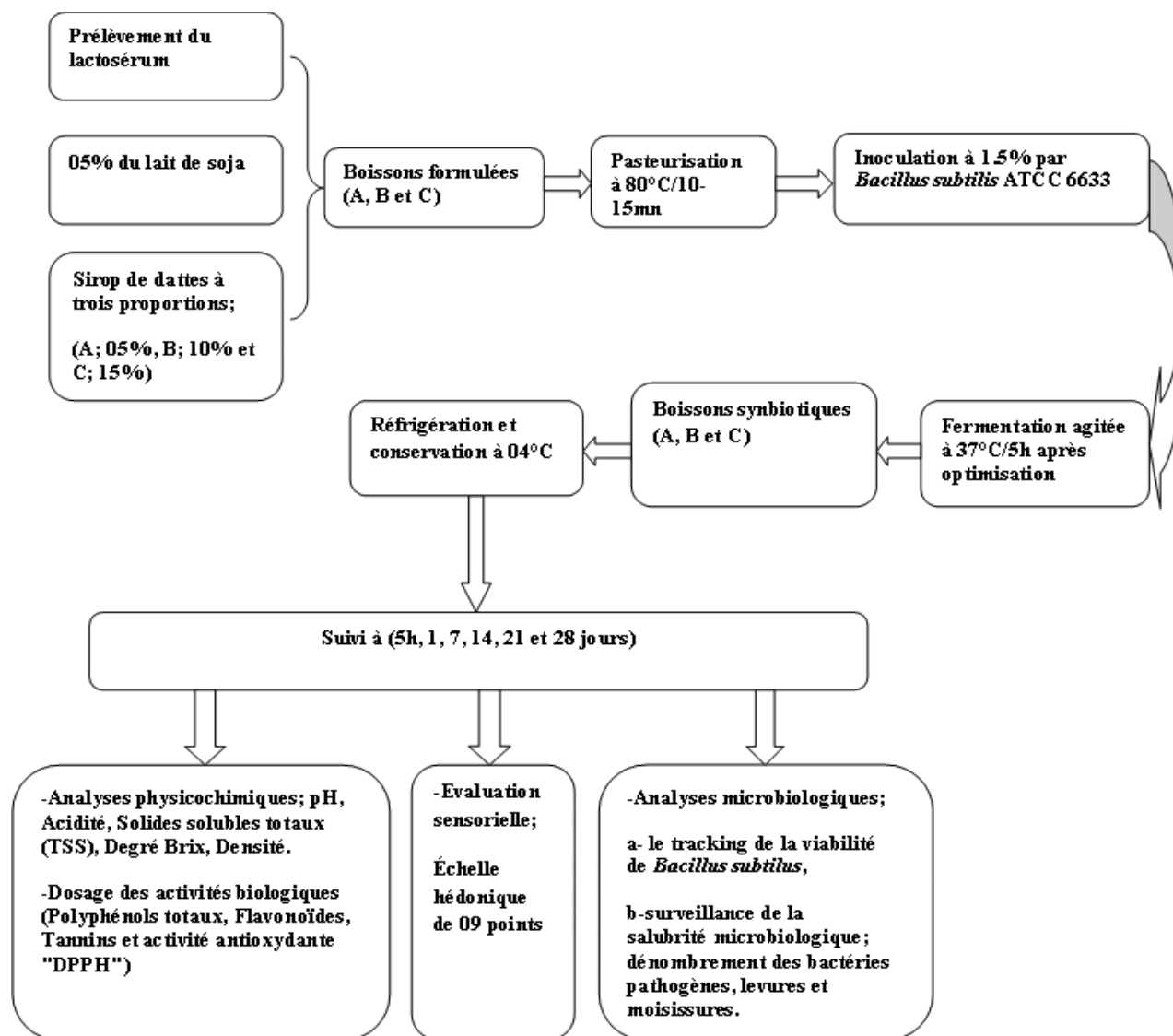


Figure 7. Diagramme de fabrication des boissons synbiotiques (A, B et C) et paramètres contrôlés durant la conservation à 4°C

II.2.2. Analyses physicochimiques

II.2.2.1. Détermination du taux de solides solubles (TSS)

Un réfractomètre a été utilisé pour déterminer le contenu total des solides solubles (TSS) à température ambiante (25–30 °C). Avant de déterminer le TSS dans l'échantillon, le réfractomètre a été calibré avec de l'eau distillée. La valeur de TSS a été déterminée en plaçant une goutte d'échantillon de boisson sur le prisme du réfractomètre. Le TSS a été calculé à l'aide d'une moyenne de lectures de cinq et signalés comme ° Brix.

II.2.2.3. Densité

La densité du produit a été déterminée en utilisant les méthodes décrites par AOAC (2012) et consiste à utiliser des pycnomètres de 100 ml. Chaque pycnomètre a été calibré avec de l'eau distillée. Les pycnomètres remplis par l'eau distillée et par les échantillons sont immédiatement pesés. Les résultats sont exprimés en utilisant la formule suivante :

$$d = \frac{P_2 - P_0}{P_1 - P_0}$$

Où ;

P_0 : le poids du pycnomètre vide.

P_1 : le poids du pycnomètre rempli d'eau distillée.

P_2 : le poids de pycnomètre rempli de l'échantillon.

II.2.2.4. Détermination de l'acidité titrable du sirop de datte (AOAC, 2005)

Le principe de cette méthode consiste en un titrage de l'extrait de sirop de datte avec une solution d'hydroxyde de sodium NaOH (0,1N) en présence de la phénophtaléine comme indicateur.

Dans une fiole de 100ml, 10g du sirop de datte ont été mélangés avec 70ml d'eau distillée bouillie jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène. Le mélange a été chauffé dans un bain marie puis son volume a été ajusté à 100 mL par ajout de l'eau distillée puis filtré.

10ml du filtrat a été additionné par 10ml d'eau distillée ont été titré par une solution d'hydroxyde de sodium 0,1N en présence de 3 gouttes de comme indicateur.

L'acidité titrable est calculée selon la relation suivante :

$$A(\%) = \frac{(175 \times V_1)}{(V_0 \times M)}$$

M : masse du sirop de dattes en gramme ;

V_0 : volume en ml de la prise d'essai ;

V_1 : volume en ml de la solution NaOH à 0,1N.

II.2.3. Dosage des métabolites secondaires

II.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux de chaque échantillon ont été déterminés selon la méthode Folin-Ciocalteu (**Singleton & Rossi, 1965**). Un volume de 0,3 ml d'échantillon dilué a été ajouté à 1,5 ml de réactif Folin – Ciocalteu (prédilué 10 fois avec de l'eau distillée) puis agité. Le mélange a été laissé au repos à température ambiante pendant 8 minutes. Ensuite, 1,2 ml de carbonate de sodium (7,5 %) ont été ajoutés au mélange, agité et laissé à l'obscurité pendant 90 min à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (JENWAY, 7305). Les polyphénols totaux ont été calculés à partir d'une courbe d'étalonnage établie en utilisant de l'acide gallique (**Singleton et al., 1999 ; Hmid, 2013 ; Sabokbar & Khodaiyan, 2016**). La courbe d'étalonnage est présentée en annexe 3.

II.2.3.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode est basée sur la formation d'un complexe d'aluminium-flavonoïde d'une coloration jaune-dorée, ayant une absorption maximale à 430 nm (**Chang et al., 2002, Hmid, 2013; Pękal & Pyrzynska, 2014**).

Les flavonoïdes ont été mesurés sur la base d'une courbe d'étalonnage établie à partir des absorbances des solutions étalons contenant de la quercétine. Pour ce, une solution mère de quercétine à 60 mg/100 ml dans le méthanol a été préparée. 2 ml d'une solution méthanolique de chlorure d'aluminium à 2 % ont été ajoutés aux échantillons dilués à 1/100 avec l'eau distillée et aux solutions de quercétine. Les absorbances ont été mesurées à 430 nm avec un spectrophotomètre UV-visible (JENWAY, 7305) contre un blanc constitué de 1 ml d'eau distillée et 2 ml de AlCl_3 à 2 % après une incubation à 15 minutes à température ambiante (**Hmid, 2013 ; Pękal & Pyrzynska, 2014**).

La teneur totale en flavonoïdes des boissons testés a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine ($Y = 0,185x + 0,146$; $R^2 = 0,994$). Cette courbe, représentant la relation entre les absorbances des solutions étalons et les concentrations des solutions filles de quercétine, est présentée en annexe 4. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents quercétine par litre d'échantillon (mg EQ/l).

II.2.3.3. Dosage des tanins hydrosolubles

La méthode d'iodate de potassium (KIO_3) est largement utilisée pour évaluer la teneur des tanins hydrolysables. Les tanins hydrolysables sont des composés d'esters d'acide gallique. La réaction de ces composés avec le KIO_3 développe une coloration rouge stable, qui absorbe la lumière visible entre 500 nm et 550 nm (Willis & Allen, 1998 ; Hartzfeld et al., 2002).

Une solution aqueuse d'acide tannique à 21 mg/100 ml a été préparée, considérée comme mère pour la préparation d'une gamme d'étalonnage de 5 concentrations. 1 ml d'échantillon ou de solution d'acide tannique avec 5 ml de solution d'iodate de potassium à 2.5 % ont été mélangés. Dans cette méthode, la couleur rouge n'a pas une apparition instantanée, donc il est préférable de procéder à une incubation des tubes à une température ambiante, jusqu'à la stabilisation de la couleur. Les absorbances ont été mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (JENWAY, 7305) à 550 nm contre un blanc constitué de 1 ml d'eau distillée et 2.5 ml de KIO_3 à 2.5 %. Les résultats sont exprimés en milligramme d'Equivalent d'Acide Tannique par litre d'échantillon (mg EAT/L) après le traçage de la courbe d'étalonnage ($Y = 0,002x + 0,004$ avec $R^2 = 0,991$) (Willis & Allen, 1998) (Annexe 5).

II.2.4. Détermination de l'activité antioxydante

La capacité de piégeage des radicaux des échantillons a été déterminée en utilisant l'évaluation de l'effet antiradicalaire libre, des antioxydants des boissons formulées, sur le radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazine (DPPH). En suivant la méthode de Brand-Williams et al. (1995), 2 ml d'une solution méthanolique à 95% de 25mg/l DPPH fraîchement préparée ont été ajoutées à 0.1 ml d'échantillons dilués. Les mélanges ont été bien secoués. L'échantillon témoin a été préparé avec le même volume de méthanol au lieu de la boisson. Les mélanges ont été laissés à température ambiante dans un endroit sombre pendant 30 min et après les absorbances ont été mesurées à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (JENWAY, 7305).

Le % du DPPH restant a été calculé comme suit :

$$\text{Activité de piégeage DPPH (\%)} = ((\text{Abs}_{\text{Contrôle}} - \text{Abs}_{\text{Echantillon}}) / \text{Abs}_{\text{Contrôle}}) \times 100$$

Où; $Abs_{Echantillon}$ est l'absorbance du mélange réactionnel après 30 min (état d'équilibre); $Abs_{Contrôle}$ est l'absorbance de contrôle. Le pourcentage restant de DPPH a été tracé contre la concentration des boissons pour obtenir IC_{50} (la concentration de boisson qui peut diminuer la concentration de DPPH initiale de 50%). Une valeur IC_{50} plus faible indique une activité de piégeage radicale plus élevée.

II.2.4. Analyses microbiologiques

II.2.4.1. Dénombrement de la viabilité de *Bacillus subtilis*

Pour déterminer la viabilité cellulaire des souches *Bacillus subtilis* ATCC 6633 dans les boissons synbiotiques durant leur conservation après cinq heures de fermentation (Boissons fraîches, 1, 7, 14, 21 et 28 jours) à froid ($4-6^{\circ}C$), des dilutions décimales appropriées de 10^{-1} à 10^{-7} , ont été effectuées en utilisant de l'eau peptonée salée. 1ml de chaque boisson a été ensemencé en aérobie dans des boîtes de Pétri contenant Tryptone Soy Agar ou Luria-Bertani Agar solidifiés. Les colonies ont été comptées après une incubation de 24-48 h à $37^{\circ}C$ et les viabilités cellulaires ont été exprimées en unités formant colonies par gramme d'échantillon (UFC/ml) (Gorsuch et al., 2019 ; Zhang et al., 2022).

II.2.5. La surveillance de la salubrité microbiologique

Selon Jofin et Jofin (1999), le dénombrement des bactéries pathogènes, moisissures et levures consistent à rechercher si les produits à analyser sont contaminés par les germes indicateurs de contamination.

II.2.5.1. Recherche de la flore aérobie mésophile totale

Le protocole expérimental de recherche des flores mésophiles aérobies totaux (FMAT) se fait à partir des tubes de dilution en série. Durant la réfrigération des boissons, le nombre total de cellules aérobies mésophiles a été déterminé par la méthode de dilution sur boîte de Pétri en utilisant une gélose de Plate Count Agar PCA. Des dilutions en série de chaque échantillon de boisson ont été étalées sur des boîtes Pétri recouvertes par PCA en triple puis homogénéisées par des mouvements circulaires de va-et-vient en forme de 8. Les boîtes ont été incubées à $37^{\circ}C$ pendant 24 h en position retournée. La lecture et le dénombrement des colonies sont faites après 48 à 72 heures d'incubation (Lee et al., 2016)

II.2.5.2. Recherche des levures et moisissures

Le test microbiologique des levures et moisissures permet d'évaluer l'efficacité du traitement thermique appliqué aux aliments ainsi que leur état d'entreposage (**Guiraud., 1998**). Selon la norme NF ISO 7954 citée par **Adjou et al. (2013)**, le dénombrement des colonies de ces microorganismes consiste à étaler 0.1 ml de la dilution 1/10 de la boisson sur la surface de gélose PDA (Potato Dextrose Agar). La lecture a été faite après une incubation des boîtes à 25-30° C pendant 4 à 5 jours.

II.2.5.3. Recherche et dénombrement des coliformes

Un millilitre de la dilution 10^{-2} de chaque boisson a été ensemencé aseptiquement dans deux boîtes de Pétri stériles. Environ 15 ml de gélose VRBL (Violet Red Bile Lactose), préalablement fondue et maintenue à une température de 44 à 47 °C, ont ensuite été ajoutés dans chaque boîte. Le contenu a été soigneusement homogénéisé par de légers mouvements de rotation afin d'assurer une répartition uniforme de l'inoculum dans le milieu, tout en évitant la formation de bulles d'air. Après solidification complète, une seconde couche de gélose VRBL a été versée pour recouvrir la surface. Les boîtes ont été incubées en position inversée pendant 24 heures à 37 °C pour le dénombrement des coliformes totaux et à 44 °C pour celui des coliformes fécaux (**Guiraud, 1998 ; ISO 4832, 2006**).

II.2.6. Analyse sensorielle

Un panel volontaire, composé de 27 membres (12 hommes et 15 femmes, âgés de 23 à 55 ans), a évalué les caractéristiques sensorielles des boissons formulées. Le test de dégustation des boissons maintenus à 4-6 °C a eu lieu dans une salle de la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Ibn Khaldoun Tiaret en présence d'un groupe des professeurs, des ingénieurs de laboratoires ainsi que des étudiants en master 2 microbiologie et sciences alimentaires. Un protocole international (ISO 6658 : 139 1985) cité par (**AlJahani & Cheikhousman, 2017**) a été utilisé pour effectuer les analyses descriptives. Il a été demandé à tous les membres d'évaluer les produits en termes de couleur, de goût, d'arôme, de texture et d'acceptabilité globale à l'aide d'une échelle hédonique en neuf (09) points (Annexe 6). Les échantillons ont été étiquetés avec un code à trois chiffres et un protocole de présentation côte à côte a été suivi pour tous les échantillons. Les panélistes se sont rincés la bouche avec de l'eau entre après chaque dégustation.

II.3. Analyse statistique

L'analyse statistique des tests effectués en triple a été réalisée avec IBM SPSS statistic v 16.0 pour Windows. Des moyennes \pm écart type ont été utilisées pour présenter les données dans cette étude. Une ANOVA unidirectionnelle a été utilisée après pré-confirmation de l'homogénéité de la variance. Si des différences significatives étaient constatées à $p < 0,05$ (lorsque les résultats sont trop loin, on va jusqu'à 0,0001), alors un test post-hoc de Tukey a été réalisé pour déterminer les différences entre les traitements.

CHAPITRE 6: RESULTATS ET DISCUSSION

**Biotraitement du lactosérum par les larves de la
mouche soldat noire (Black Soldier Fly Larvae)**

***Hermetia illucens* (BSFL)**

III. Résultats

III.1. Composition des substrats

III.1.1. Composition du lactosérum doux, acide et fermenté

Les résultats illustrants, la composition nutritionnelle des trois types de lactosérum, sont regroupés dans le tableau 4.

Tableau 4. Composition moyenne (\pm Ecart-type) du lactosérum acide, doux et fermenté

Composition	Lactosérum acide	Lactosérum doux	Lactosérum fermenté
Matière sèche (g/l)	64.96 \pm 0.29	68.91 \pm 0.39	ND
Protéines (g/l)	6.21 \pm 0.32	6.92 \pm 0.18	ND
Lactose (g/l)	44.57 \pm 0.35	49.6 \pm 0.43	ND
Matière grasse (g/l)	1.30 \pm 0.22	1.57 \pm 0.36	ND
Acide Lactique (g/l)	3.23 \pm 0.16	1.08 \pm 0.08	4.46 \pm 0.15
Cendres (g/l)	7.91 \pm 0.35	7.08 \pm 0.26	ND
pH	4,66 \pm 0.12	6,09 \pm 0.16	4.06 \pm 0.1

ND=Non déterminé

Le lactosérum doux présente, des teneurs en lactose plus élevées que le lactosérum acide (soit une différence de 5 g/l), des teneurs comparables en protéines. La teneur en matière grasse est plus faible que celle en lactose et en protéines avec des quantités élevées dans le lactosérum doux. Le taux des cendres est légèrement plus élevé dans le lactosérum acide.

Concernant la teneur en acide lactique le lactosérum fermenté a manifesté les niveaux les plus élevés d'acide lactique se traduisant par des pH les plus bas.

La composition et les caractéristiques sensorielles du lactosérum varient en fonction du type de lactosérum (acide ou doux), de la source du lait (lait de vache, de brebis, de bovin,

etc.) et de l'alimentation de l'animal qui a produit le lait, de la transformation fromagère utilisée, de la période de l'année et stade de lactation (Tsakali et al., 2010).

Les différences de composition nutritionnelle peuvent être attribuées au type de traitement et aux composants spécifiques retirés lors de la production de chaque type de fromage (Božanić et al., 2014).

III.1.2. Composition du marc de café

Le tableau 5 regroupe les résultats d'analyse de la composition du marc de café. Les polysaccharides sont les composants les plus abondants dans le marc de café avec un taux de 51.58%. Les résultats ont montré un taux de protéines de 14,22% se traduisant par un faible rapport (protéine/glucides) de (1/3.6). Ce bio-déchets a montré un niveau élevé en fibres brutes et en matière grasse. Cependant, le pH du marc de café reste comme même acide.

Selon Petracco (2005) et Cruz et al., (2012), la composition du marc de café est fonction de la composition biochimique du café et le type de café (Arabica, Robusta), de l'origine, de degré de la torréfaction ainsi que du taux d'extraction.

Tableau 5. Composition moyenne (\pm Ecart-type) du marc de café

Composition	Marc de café
Cendres (%)	1.59 \pm 0.05
Protéines (%)	14.22 \pm 0.32
Matière grasse (%)	13.29 \pm 0.57
Fibres brutes (%)	19.16 \pm 0.31
Sucres totaux (%)	51.58 \pm 0.85
Ratio Protéines / Sucres	1/3.6
pH	5.32 \pm 0.13

III.2. Effet du lactosérum sur les paramètres de croissance des larves BSF

III.2.1. Masse sèche finale des larves

L'utilisation de différents types de lactosérum, dans l'alimentation des larves de mouches soldats noirs, a montré un effet significatif sur la masse sèche finale de ces dernières ($P < 0,0001$) (Figure 8). Les larves de BSF nourries avec un régime alimentaire contenant le lactosérum fermenté (LF+MC) ont présenté des teneurs en matière sèche plus élevée ($53,83 \pm 0,49$ mg/larve) par rapport à celles nourries avec les autres régimes. Cependant, les larves nourries par le marc de café seul avaient significativement la masse sèche la plus faible avec seulement $25,10 \pm 0,18$ mg/larve. Pas de différences significatives dans le poids sec final des larves entre les larves nourries avec les régimes contenant le lactosérum doux (LD+MC) et celui contenant le lactosérum acide (LA+MC) ($p > 0,05$). Dans l'ensemble, le poids sec de la larve nourrie avec différentes combinaisons de lactosérum (LA+MC, LD+MC, LF+MC) était approximativement le double de celui de la larve de poids sec nourrie uniquement avec MC.

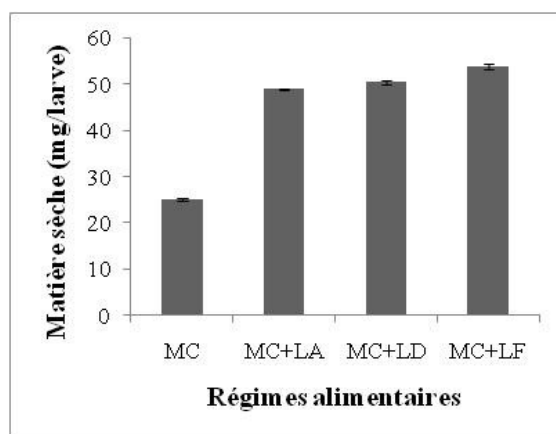


Figure 8. La matière sèche (moyenne \pm Ecart-type) des larves BSF nourries avec différents régimes

III.2.2. Temps de croissance des larves

Les résultats présentés dans la figure 9 montrent une différence significative de temps nécessaire au développement des larves entre le régime témoin et les autres régimes ($P < 0,0001$). Les larves nourries avec des régimes contenant le lactosérum (MC+LA, MC+LD et MC+LF) ont manifesté une croissance plus rapide que celles nourries par un régime témoin MC dont le temps de développement a été le plus long ($37,00 \pm 01$ jours). Le

temps de développement le plus court a été observé chez les larves de BSF nourries avec MC+LF (28 ± 01 jours).

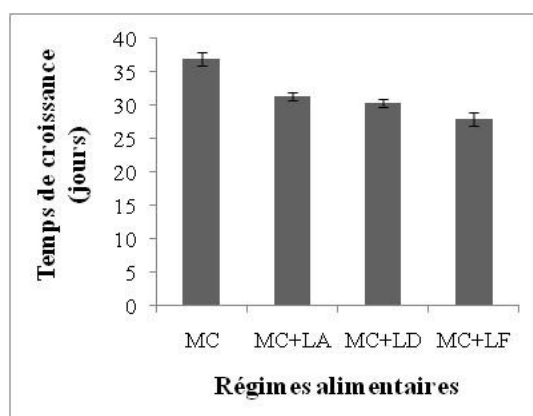


Figure 9. Temps de croissance des larves BSF (moyenne \pm Ecart-type) nourries par différents régimes

III.2.3. Taux de survie

Concernant le taux de survie des larves de BSF, les résultats ont montré une différence significative entre le régime du marc du café seul et le régime MC supplémenté en lactosérum ($P < 0,0001$). Cependant, les taux de survie en présence de différents types de lactosérum sont pratiquement les mêmes (77 à 78,83 %) (Figure 10).

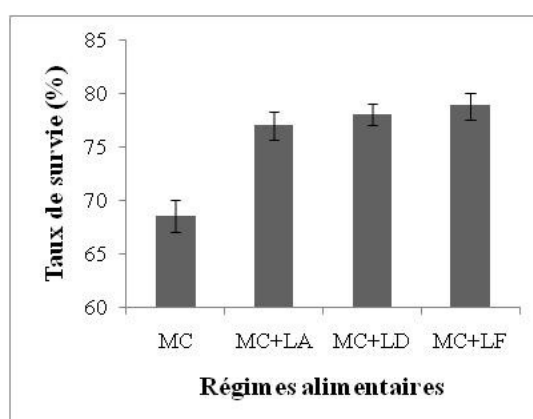


Figure 10. Taux de survie (moyenne \pm Ecart-type) des larves BSF nourries par différents régimes

III.2.4. Taux de croissance

De manière identique, un taux de croissance significativement plus faible ($P < 0,0001$) a été observé avec le régime marc de café pur par rapport à celui enrichi en lactosérum. Le taux de croissance le plus élevé ($p < 0,05$) a été noté avec l'association du marc de café au lactosérum fermenté (Figure 11).

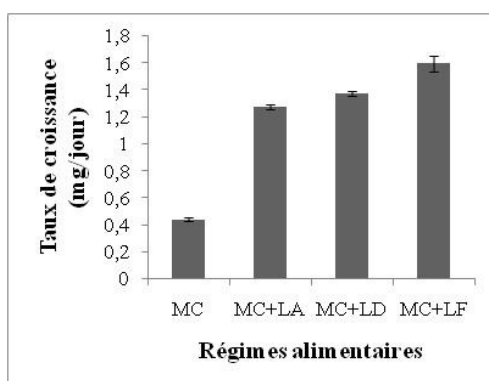


Figure 11. Taux de croissance (moyenne \pm Ecart-type) des larves BSF nourries avec différents régimes

III.3. Effet du lactosérum sur les performances des larves BSF

III.3.1. Indice de réduction des substrats (IRS) et de Taux de réduction des substrats (TRS)

Le taux de réduction du substrat (TRS) fait référence à la capacité des larves à réduire la matière organique des substrats, tandis que l'indice de réduction des substrats (IRS) représente la réduction du substrat en fonction du temps.

La supplémentation de différents types de lactosérum au régime alimentaire du marc decafé a considérablement augmenté les performances des larves de BSF (Figure 12). Le pourcentage de réduction du substrat était significativement différent entre les régimes alimentaires ($P < 0,0001$). En ce qui concerne le type de lactosérum, tous les régimes supplémentés en lactosérum ont été plus efficaces en donnant une réduction de matière sèche plus élevée allant de $22,98 \pm 0,42$ à $26,73 \pm 0,81$ %. La valeur maximale a été enregistrée pour le régime marc de café avec le lactosérum fermenté. De plus, la même supériorité hautement significative ($P < 0,0001$) des régimes à base de lactosérum (jusqu'à $0,85 \pm 0,01$)

contre le contrôle ($0,45 \pm 0,01$) a été notée pour l'indice de réduction des déchets, sans différence statistique entre tous les traitements testés (Figure 12).

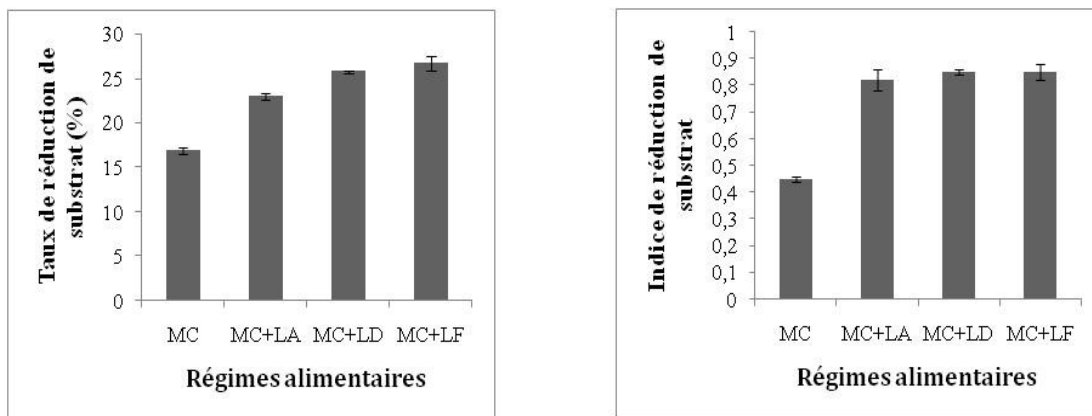


Figure 12. Performances larvaires basées sur le taux de réduction du substrat (moyenne \pm Ecart-type) et l'indice de réduction des substrats des larves BSF nourries par différents régimes

III.3.2. Taux de conversion de la biomasse, digestibilité approximative et taux de conversion alimentaire

Le taux de conversion de la biomasse (TCB) définit l'efficacité des larves à convertir la nourriture digestive dans sa biomasse. Par conséquent, la valeur TCB a une relation avec la valeur de digestibilité approximative (DA) qui exprime la quantité de nourriture assimilée par les larves (**Permana & Ramadhani, 2018**). Les résultats obtenus montrent que le TCB et la DA des larves nourries avec des traitements au lactosérum sont significativement supérieures à celles alimentées avec le régime marc de café pur ($P < 0,0001$). Le régime marc de café avec le lactosérum fermenté a eu l'impact le plus remarquable sur les deux paramètres ; la digestibilité approximative ($36,49 \pm 1,52$ %) et le taux de conversion de la biomasse ($17,94 \pm 0,47$). D'autre part, des différences significatives ($P < 0,0001$) dans le taux de conversion alimentaire (TCA) ont été trouvées entre les régimes (Figure 13). La valeur TCA du régime témoin était en moyenne de $8,59 \pm 0,38$, ce qui était significativement la valeur la plus élevée.

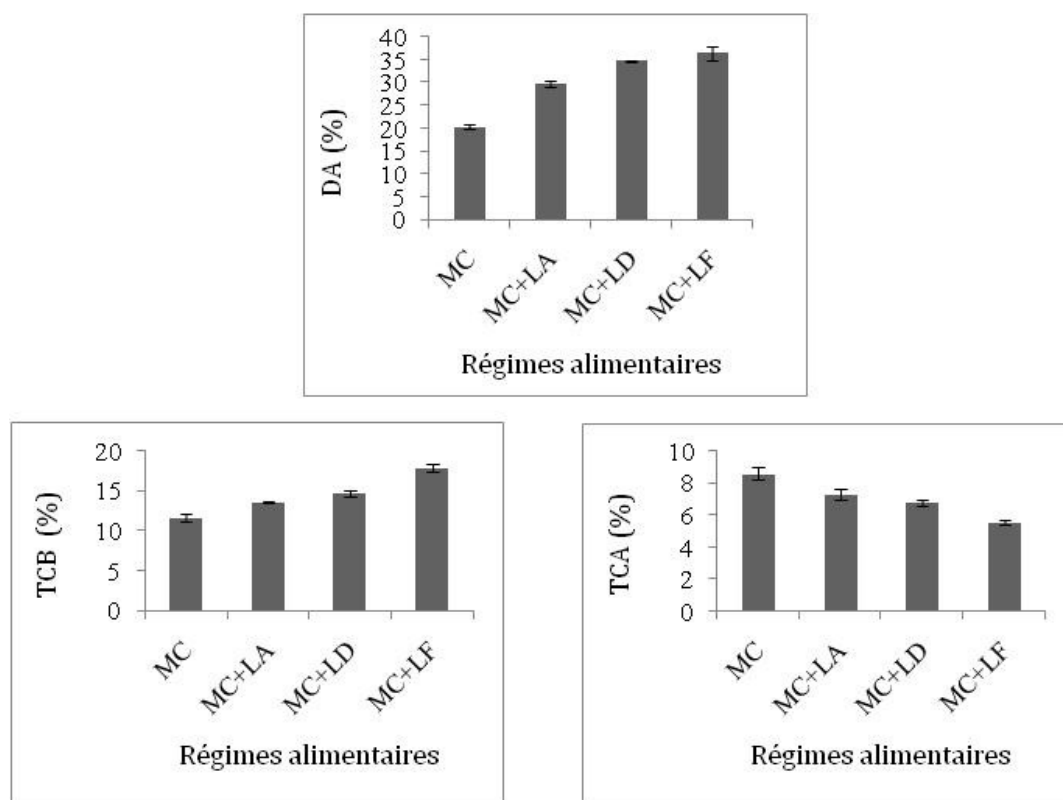


Figure 13. Digestibilité Approximative (DA), le Taux de Conversion de la Biomasse (TCB) et le Taux de Conversion Alimentaire (TCA) (moyenne \pm Ecart-type) des larves BSF nourries avec différents régimes

III.4 Composition nutritionnelle des larves de BSF

La composition en principaux nutriments, des larves de mouche soldat noire BSF, est présentée dans le tableau 6.

Tableau 6. Pourcentage moyen (\pm Ecart-type) de composition nutritionnelle des larves de BSF nourries par différents régimes

Régimes	Masse sèche (%)	Protéines (%)	Matière grasse (%)	Fibres brutes (%)	Cendres (%)
MC	31.41 \pm 0.34	34.18 \pm 0.59	37.87 \pm 0.24	5.55 \pm 0.38	5.46 \pm 0.26
MC+LA	35.74 \pm 0.57	39.15 \pm 0.25	35.18 \pm 0.31	11.21 \pm 0.43	7.03 \pm 0.30
MC+ LD	36.06 \pm 0.37	40.11 \pm 0.40	35.53 \pm 0.11	8.38 \pm 0.37	7.09 \pm 0.22
MC+LF	37.16 \pm 0.22	38.22 \pm 0.38	36.06 \pm 0.26	9.92 \pm 0.37	6.92 \pm 0.08

La teneur en protéines des larves de BSF a augmenté en présence du lactosérum ($P < 0,0001$) notamment dans le régime contenant le lactosérum doux. Les quantités de protéines sont comprises entre $38,22 \pm 0,38$ et $40,11 \pm 0,40$ % par rapport à celles nourries au marc de café pur ($34,18 \pm 0,59$ %). La teneur en matière grasse est supérieure dans le régime témoin où la quantité produite est significativement la plus élevée, atteignant $37,87 \pm 0,24$ % ($P < 0,0001$). Les résultats obtenus de la teneur en matières grasses produites par les larves sont proches pour les régimes à base de lactosérum. L'effet du lactosérum sur la teneur en fibres est plus important où des augmentations comprises entre 33,77% et 50,49% sont enregistrés. Les larves nourries par le régime contenant le lactosérum acide contiennent plus de fibres ($11,21 \pm 0,43$ %). De même, les taux de cendres dans les régimes à base de lactosérum sont supérieurs au taux dans le milieu témoin.

III.5. Composition chimique des résidus (Frass) :

L'ajout de lactosérum au régime marc de café a induit de légère modification de la composition chimique des résidus (Tableau 7).

Tableau 7. Composition chimique moyenne (\pm Ecart-type) des résidus issus des larves de BSF nourries par différents régimes

Composition Chimique	MC moyenne \pm ET	MC+LA moyenne \pm ET	MC+LD moyenne \pm ET	MC+LF moyenne \pm ET
Matière sèche %	84,99 \pm 1,58	80,95 \pm 1,32	79,82 \pm 1,04	82,08 \pm 1,88
Cendres %	2,24 \pm 0,09	3,64 \pm 0,27	3,12 \pm 0,17	2,94 \pm 0,25
Carbone organique %	6,42 \pm 0,22	6,46 \pm 0,15	5,99 \pm 0,3	6,23 \pm 0,15
Azote total%	0,340 \pm 00	0,363 \pm 00	0,357 \pm 00	0,351 \pm 00
C:N ratio	18,44 \pm 0,68	17,77 \pm 0,19	16,93 \pm 0,59	17,79 \pm 0,30
Phosphore assimilable (ppm)	37,12 \pm 0,23	66,37 \pm 0,24	60,02 \pm 0,40	59,41 \pm 0,22
Conductivité électrique mS cm ⁻¹	1,59 \pm 0,09	2,51 \pm 0,11	2,37 \pm 0,09	2,42 \pm 0,21
pH	7,1 \pm 0,04	7,60 \pm 0,04	7,40 \pm 0,11	7,31 \pm 0,08

La masse sèche de résidus issus des larves de BSF est plus élevée dans le régime témoin ($84,99 \pm 1,58$ %), l'ajout de lactosérum de différentes natures a induit une baisse de la matière sèche à des valeurs comprises entre $79,82 \pm 1,04$ et $82,08 \pm 1,88$ %. Les excréments se sont caractérisés par des teneurs en matière organique élevée allant de $96,36 \pm 0,52$ à $97,76 \pm 0,23$ %. Nous avons noté que la teneur en carbone organique des excréments était pratiquement similaire pour tous les traitements avec une valeur de $6,46 \pm 0,15$ % pour le régime marc de café avec le lactosérum acide. De même, il n'y avait pas de différences notables entre les teneurs d'azote total, le carbone organique et le rapport carbone/azote entre les résidus de larves nourries au marc de café seul ou avec du lactosérum.

L'ajout de lactosérum a induit une augmentation significative, des teneurs en phosphore assimilable dans les excréments, soit une augmentation comprise entre 37,5% (cas du régime contenant le lactosérum fermenté) et 44,07 % (cas du régime contenant le lactosérum acide).

De même des augmentations, des taux de cendres ainsi que la conductivité électrique dans les régimes contenant le lactosérum, ont été enregistrées.

Le pH final des excréments est pratiquement le même dans les quatre régimes et il est compris entre 7,1 et 7,6.

IV. Discussion

L'utilisation des larves de mouche soldat noir BSF pour la gestion des déchets organiques a connue un intérêt particulier ces dernières années (**Čičková et al., 2015 ; Gold et al., 2018**). Par ce traitement biologique à base d'insectes, les déchets biodégradables sont transformés en deux produits essentiels : une biomasse larvaire riche en protéines et en lipides (**Lalander et al., 2019 ; Ewald et al., 2020**) qui peuvent être utilisés en alimentation animale (**Wang & Shelomi, 2017 ; Yildirim-Aksoy et al., 2020 ; Rawski et al., 2021**) ; et un résidu de bio-transformation, appelé frass, qui a montré son apport en agriculture par l'amélioration de la production végétale. Plusieurs travaux ont montré que l'utilisation des frass donnent des résultats similaires voir meilleures à celles obtenus avec des engrais inorganiques avec l'avantage d'absence d'effets nocifs sur l'environnement (**Kebli & Sinaj, 2017 ; Mertenat et al., 2019 ; Smetana et al., 2019 ; Beesigamukama et al., 2020 ; Menino et al., 2021 ; Quilliam et al., 2020 ; Song et al., 2021**).

Cette biotechnologie s'inscrit dans le cadre de l'économie circulaire dans laquelle les déchets d'un processus deviennent la ressource d'une autre activité (**Slorach et al., 2019**).

IV.1. Effet du lactosérum sur la croissance des larves BSF

L'incorporation des trois types de lactosérum dans le marc de café a eu un effet très positif sur la croissance des larves ; une augmentation considérable du poids sec final des larves et qui a atteint la valeur de $53,83 \pm 0,49$ mg pour le régime alimentaire marc de café additionné par le lactosérum fermenté. Cette valeur est comparable à celle obtenue par **Gold et al. (2020)** en alimentant des larves par les aliments de volailles (55,6 mg).

Les larves nourries uniquement au marc de café ont eu la plus longue période de croissance ($37,00 \pm 01$ jours), elle est proche à celle (38 jours) trouvée par **Manurung et al. (2016)** et **Permana et Ramadhani (2018)**. L'ajout de lactosérum dans ce régime témoin a réduit le temps nécessaire à leur développement de 9 jours dans le régime contenant du marc de café et lactosérum fermenté.

Pour le taux de survie, les larves de BSF nourries avec du marc de café seul ont présenté une valeur nettement supérieure à celle rapportée par **Fischer et al. (2021)** dont la valeur a atteint les $45,13 \pm 10,2$ %. Ce taux de survie a atteint des valeurs élevées lorsque le marc de café a été mélangé avec différents types de lactosérum ($78,83 \pm 1,25$ %), ces niveaux

sont comparables à ceux observés chez des larves nourries avec des régimes artificiels **Ooninx et al. (2015b)** où le taux de survie a atteint une valeur de 77 %.

Les résultats exprimants le taux de croissance des larves ont montré des valeurs significativement élevées par rapport à ceux obtenus dans le régime marc de café. Le taux de croissance observé dans cette étude ($1,59 \pm 0,06$ mg/jour) était inférieur à celui trouvé par **Gligorescu et al. (2020)** dont la valeur est comprise entre 1,6 et 2,8 mg/jour. Les larves de BSF nourries uniquement avec du marc de café se développaient lentement, avaient le poids sec final le plus faible, le taux de survie et le taux de croissance les plus faibles. Cela peut être dû au contenu nutritionnel du marc de café qui contient plus de fibres, de matière grasse et un faible taux de protéines par rapport aux glucides. En effet, il a été confirmé dans certains travaux que les larves de BSF présentent une faible digestibilité des fibres (**Li et al., 2015 ; Permana & Ramadhani, 2018**). Selon **Barry (2004)**, un substrat riche en matière grasse est difficile à digérer par les larves de BSF, ce qui entraîne une prolongation de leur temps de développement et influence négativement leur croissance. De plus, le déséquilibre du rapport entre les protéines et les glucides du substrat a affecté la croissance, l'ingestion alimentaire et le développement prolongé des larves (**Nation, 2008**).

L'état du substrat semble aussi être un paramètre limitant de la croissance des larves, son déshydratation sous l'effet d'augmentation de la température (de 27 à 31 °C) provoque une diminution de l'humidité relative et qui a atteint 35%. Durant cette étude, nous avons constaté que la déshydratation (par séchage) des substrats obstruait la locomotion des larves à travers l'alimentation, et donc, il pourrait réduire la disponibilité des nutriments et la croissance des larves. Raison pour laquelle, des quantités d'eau distillée ont été ajoutées et les récipients secoués quotidiennement pour éviter la déshydratation des substrats. Selon **Gobbi et al. (2013)**, une dessiccation élevée de substrat, causée par l'évaporation, affecte négativement la croissance des larves de BSF.

Ooninx et al. (2015a), Manurung et al. (2016) et Rehman et al. (2017a) ont indiqué que la température et l'humidité relative optimales, pour la croissance des larves BSF, sont respectivement de 27 à 28 °C et de 60 à 70 %.

L'ajout des trois types de lactosérum au marc de café a montré un effet considérable sur la croissance des larves (croissance rapide, poids sec final élevé, un taux de survie et un taux de croissance les plus importants). Ces résultats s'expliquent par la richesse du

lactosérum en nutriments notamment les protéines. Dans leur travaux, **Palma et al. (2019)** ont montré que la supplémentation en azote du régime riche en fibres a considérablement augmenté la croissance larvaire et la consommation de substrat par les larves de BSF. Parmi les régimes à base du lactosérum, cette étude a montré que les larves de BSF nourries avec le marc de café additionné avec le lactosérum fermenté avaient le poids sec final le plus élevé, le taux de croissance le plus élevé et une courte durée de développement. Cela pourrait être affecté par la qualité et la quantité de produits de fermentation de lactosérum doux, tels que l'acide lactique, et la probabilité de formation des nutriments solubles libres après la fermentation, y compris des acides aminés disponibles, des monosaccharides, des minéraux ou même des métabolites bactériens.

Dans leur étude, **Gebiola et al. (2023)** ont montré que les substrats fermentés, obtenus par fermentation anaérobie des déchets organiques, ont un effet positif sur la croissance des larves de BSF. Ils ont utilisé du Bokashi fermenté comme substrat pour l'élevage des larves de BSF. Leurs résultats ont montré que le régime fermenté par le Bokashi augmentait la masse sèche finale, le taux de croissance et réduire le temps de développement des larves.

IV.2. Effet du lactosérum sur la performance des larves BSF :

IV.2.1. Réduction des déchets :

Le taux de réduction des déchets ou de substrat est un indicateur utilisé pour mesurer l'efficacité avec laquelle des déchets sont réduits, traités, ou transformés dans un processus spécifique. Ce paramètre permet d'évaluer dans quelle mesure un système, une technologie, ou une méthode est capable de diminuer la quantité initiale de déchets (**Waldbauer, 1968**).

Cette étude a montré que le taux de réduction du substrat (environ 27%) par les larves BSF, est supérieur à celui obtenu par **Mutafela (2015)** avec une valeur de 16% et inférieur à ceux rapportés par **Miranda et al. (2019)** dont les valeurs sont comprises entre 30 et 48 %. Ces différences s'expliquent par la nature des substrats utilisés.

Plusieurs critères peuvent limiter l'aptitude des larves BSF à réduire efficacement la matière organique. L'évaporation du marc de café peut rendre difficile le passage des larves dans l'alimentation. Selon **Gobbi et al. (2013)**, ce phénomène d'évaporation est observé particulièrement dans des petits récipients contenant une faible quantité de substrats. Par conséquent, l'accès des larves à la nourriture était diminué. **Gligorescu et al. (2018)**, **Myers**

et *al.* (2014) et **Permana et Ramadhani (2018)**, ont affirmé que la diminution de l'humidité pourrait influencer négativement les performances des larves de BSF.

IV.2.2. Digestibilité Approximative (DA)

La digestibilité approximative (DA) est utilisée, généralement en nutrition animale ou humaine, pour quantifier la proportion de nutriments contenus dans un aliment qui sont réellement absorbés et utilisés par un organisme. La digestibilité approximative est calculée en mesurant la quantité de nutriments absorbés et en la comparant à la quantité de nutriments excrétés. En d'autres termes, il s'agit d'une estimation de la quantité de nutriments digérés et absorbés par rapport à la quantité consommée. Cette mesure permet d'évaluer l'efficacité des aliments et des régimes en termes de valeur nutritionnelle et d'utilisation par l'organisme. Une digestibilité approximative élevée signifie que le corps est capable d'absorber une grande partie des nutriments contenus dans les aliments, ce qui est extrêmement important pour optimiser la nutrition et améliorer la croissance, la santé et les performances des animaux (**Waldbauer, 1968 ; McDonald et al., 1981**).

Dans cette étude, la digestibilité approximative (DA) a enregistré une augmentation lorsque les larves de BSF sont nourries avec des régimes de marc de café ajoutés avec différents types de lactosérum, en particulier avec le lactosérum fermenté. Cela peut être dû à la quantité excessive d'acide lactique et d'autres produits de fermentation présents dans le lactosérum doux fermenté, dans lequel davantage de nutriments ont été assimilés par les larves.

IV.2.3. Taux de Conversion de la Biomasse (TCB)

Les valeurs de TCB des larves nourries au régime marc de café dans cette étude étaient supérieures à celles de **Permana et Ramadhani (2018)** pour le même substrat ($11,65 \pm 0,52$ contre 2,71 à 5 %) ou encore aux résultats de **Manurung et al. (2016)** pour la paille de riz (6,11 à 10,85 %). Ce taux est nettement inférieur à celui obtenu avec des produits enrichis en lactosérum ($13,55 \pm 0,11$ à $17,94 \pm 0,47$ %). Cependant, ces résultats étaient inférieurs à ceux trouvés par **Diener et al. (2009)** et **Romano et al. (2021)** en utilisant des aliments pour poulets et des patates douces, du marc de café ou de la pâte comme substrats, respectivement. Dans l'ensemble, les larves de BSF nourries au marc de café avec du lactosérum ont converti davantage d'aliments digérés en biomasse. Par conséquent, on pourrait conclure que la majeure partie du lactose, des protéines et de l'acide lactique offerts

par le lactosérum, passée dans les intestins des larves, a été assimilée et transformée en biomasse. Peut-être qu'un surplus de ces nutriments, logiquement plus approprié que les nutriments du marc de café, se voit conférer plus de quantité à une meilleure qualité.

IV.2.4. Taux de Conversion Alimentaire (TCA)

Malgré les résultats obtenus pour la DA et le TCB, les valeurs de TCA observées chez les larves nourries uniquement avec du marc de café étaient significativement plus élevées que celles des larves recevant un mélange marc de café–lactosérum. Ces valeurs étaient comparables à celles rapportées par **Giannetto et al. (2019)** pour des larves nourries avec des déchets de fruits et légumes (9,29). En revanche, les valeurs de TCA des larves alimentées avec le mélange marc de café–lactosérum concordaient avec celles rapportées par **Rehman et al. (2017b)**, soit entre 5,56 et 7,86.

Ces différences suggèrent que le TCA est fortement influencé par la nature du substrat. Ainsi, lorsque les valeurs de TCB augmentaient, celles du TCA diminuaient, ce qui pourrait être attribué à la faible valeur nutritive du marc de café par rapport aux régimes enrichis de lactosérum. Cela indique que l'ajout de lactosérum contribue à corriger le déséquilibre nutritionnel du marc de café.

De plus, **Giannetto et al. (2019)** ainsi que **Gligorescu et al. (2020)** ont montré que des valeurs élevées de TCA associées à de faibles valeurs de TCB traduisent une digestion rapide du substrat, mais accompagnée d'une excrétion excessive liée à la faible qualité nutritionnelle. Ces observations rejoignent celles de la présente étude pour le régime basé uniquement sur le marc de café et mettent en évidence l'effet positif de la supplémentation en lactosérum sur les performances des larves de BSF.

IV.3. Composition nutritionnelle des larves de BSF :

Les larves nourries avec différents substrats présentaient une teneur en protéines corporelles variant de 37,0 à 62,7 %, ainsi qu'une teneur en matières grasses plus dispersée, comprise entre 6,6 et 39,2 %. Cette variation indique que la concentration des nutriments dans l'alimentation des larves influe sur leur teneur en protéines et en graisses. Pour obtenir des insectes répondant à des critères spécifiques en matière de macronutriments et de micronutriments pour l'alimentation animale, il est essentiel d'étudier comment les

nutriments alimentaires régulent et influencent la composition des larves (**Barragan-Fonseca, 2018**).

Les insectes peuvent jouer un rôle important en remplaçant l'utilisation intensive de farine de soja ou de farine de poisson en tant que source de protéines (**Sánchez-Muros et al., 2014**). Les larves de mouches soldats noires sont riches en lipides qui peuvent être utilisées pour nourrir les animaux (**Makkar et al., 2014, Henry et al., 2015, Spranghers et al., 2017**). **Bondari et Sheppard (1981)**, ont démontré la faisabilité de l'utilisation des larves de BSF pour convertir les déchets de volaille en aliment pour le tilapia et le catfish.

Dans cette étude, les larves de BSF nourries uniquement avec le régime marc de café avaient la teneur en protéines significativement la plus faible par rapport à celles nourries avec du marc de café et du lactosérum. **Permana et Ramadhani (2018)** ont trouvé une teneur en protéines similaire chez les larves de BSF nourries avec le même substrat qui est le marc de café seul. Cependant, l'association du lactosérum avec le régime marc de café a fortement augmenté leur teneur en protéines pour atteindre environ ($40,11 \pm 0,40$ %). Ceci est conforme aux résultats de **Nyakeri et al. (2017)**, **Spranghers et al. (2017)** et **Gold et al. (2020)**. Pour les larves nourries au marc de café seul, ce régime alimentaire était déséquilibré en raison de la proportion de glucides dépassant la fraction protéique, ce qui pourrait empêcher les larves de digérer et de convertir efficacement les nutriments en biomasse protéique. De plus, la supplémentation en lactosérum au régime marc de café a amélioré la teneur en protéines des larves par rapport à celles nourries avec du marc de café brut. Ici, l'amélioration du contenu nutritionnel pourrait être suggérée pour améliorer l'efficacité de la conversion du régime alimentaire en biomasse protéique. La concentration en nutriments (protéines, lactose, acide lactique) dans le lactosérum semble apporter un certain équilibre à l'alimentation des larves BSF. Contrairement à la teneur en protéines, la teneur en graisse des larves nourries uniquement au marc de café était la plus élevée ($37,87 \pm 0,24$ %). Ces valeurs concordent avec celles trouvées par **Fischer et al. (2021)** lorsque les larves sont nourries par le marc de café. En outre, **Barragan-Fonseca et al. (2017)** ont signalé que les lipides larvaires variaient entre 7 et 39 % et variaient selon les régimes alimentaires. Dans cette expérimentation, les valeurs élevées de teneur en matières grasses des larves pourraient être dues à la concentration déséquilibrée en nutriments des régimes marc de café, en particulier à leur teneur élevée en glucides bruts. Par conséquent, cela a conduit les larves à accumuler plus de graisses que de protéines dans leur biomasse. **Gold et al. (2018)** ont suggéré que les glucides

du substrat influencent la teneur en graisses des larves de BSF. De plus, selon **Pimentel et al. (2017)**, les larves convertissaient les glucides en biomasse lipidique et les stockaient sous forme de graisses corporelles.

D'un autre côté, **Barragan-Fonseca et al. (2017)** ont expliqué que la composition corporelle des larves peut être influencée par des facteurs biotiques et abiotiques (température, humidité). Cette étude a été réalisée durant une période de température un peu élevée ($29\pm 02^{\circ}\text{C}$) et une humidité relative faible ($45\pm 11\%$). Ces conditions sont défavorables à la croissance et à la performance des larves de BSF (**Permana & Ramadhani, 2018**). Par conséquent, les larves de BSF nourries avec un régime pauvre en protéines et riche en glucides ont acquis une biomasse grasse plus élevée que celles nourries avec un régime plus équilibré en glucides et en protéines (**Barragan-Fonseca, 2018**).

L'utilisation de la matière grasse de la biomasse des larves BSF ne se limite pas seulement à la nourriture des animaux, mais elle est aussi utilisée pour la production du biodiesel (**Li et al., 2011a, b ; Zheng et al., 2012**).

IV.4. Composition chimique des résidus

L'un des principaux produits, du processus de biodégradation des déchets organiques par les larves BSF, est le résidu dit excrément ou frass. Ce résidu est souvent une source d'azote dont l'utilisation pose moins de dommages environnementaux (**Schmitt & de Vries, 2020 ; Lopes et al., 2022**).

Les résidus d'*Hermetia illucens* sont composés par un mélange de substrats non digérés, de peaux de larves, des excréments et micro-organismes (**Schmitt & de Vries, 2020 ; Yildirim-Aksoy et al., 2020**). Ils ont en outre rapporté que la valorisation des excréments devient plus économique et écologique. Dans leur étude, **Beesigamukama et al. (2020)** et **Gärttling et Schulz (2022)** ont considéré les excréments d'insectes comme un engrais alternatif potentiel aux produits chimiques agricoles qui sont plus polluants. De plus, **Yildirim-Aksoy et al. (2020)** ont démontré que l'utilisation des résidus de BSF comme aliment pour animaux à des niveaux allant jusqu'à 30% améliorerait considérablement la croissance de poisson et que l'intégration de ces excréments dans l'alimentation du tilapia peut s'avérer bénéfique en améliorant les composants immunitaires innés et la résistance du tilapia hybride aux infections bactériennes.

Dans cette recherche, la composition chimique des résidus a été légèrement affectée par l'ajout de lactosérum au régime marc de café digéré par les larves de BSF. Les différents types de lactosérum ont amélioré la qualité et la quantité de leur fraction minérale en augmentant la quantité des cendres et en particulier, le phosphore disponible qui était trois fois supérieur à celui trouvé par **Praeg et Klammsteiner (2023)** ($66,37 \pm 0,24$ contre $20,34 \pm 1,56$ ppm). Les valeurs de carbone organique et d'azote total étaient inférieures à celles trouvées par **Gao et al. (2019)** et **Menino et al. (2021)**. Les macronutriments tels que l'azote (N), le phosphore (P) et le potassium (K) sont essentiels à la croissance des plantes que la lumière du soleil, le CO₂ et le H₂O (**Jose, 2023**). La composition en macronutriments des excréments est fortement influencée par le type de substrat alimentaire fourni aux larves (**Lomonaco et al., 2024**). Ces excréments semblaient être un bio-engrais organique à cause de sa teneur élevée en matière organique (96 %). Cette valeur était supérieure à celle rapportée par **Gao et al. (2019)** et **Liu et al. (2019)**. Cela pourrait être lié à la faible quantité de cendres des substrats et au pourcentage élevé de larves mortes. Les excréments des larves nourries uniquement avec le régime marc de café avaient particulièrement le taux de mortalité des larves le plus élevé et la plus faible teneur en cendres. L'utilisation de matières compostées comme engrais n'est pas seulement une source d'nutriments essentiels aux plantes mais améliore également la qualité du sol. D'après **Beltrán et al. (2002)**, la matière organique compostée contient des nutriments essentiels à la croissance des plantes, en particulier l'azote et le phosphore. Par conséquent, l'augmentation de la matière organique du sol présente l'avantage supplémentaire d'améliorer la qualité des sols et de renforcer la durabilité à long terme de l'agriculture (**Laird et al., 2001**). Il est bien connu que les résidus de BSF peuvent améliorer non seulement les propriétés physiques et chimiques du sol, mais aussi la communauté microbienne du sol (**Yadav et al., 2016 ; Agustiyani et al., 2021**). Le rôle principal des amendements organiques est de rajeunir le sol en créant un environnement sol-plante-microbien favorable et de créer le système de sol vivant-vivant pour une croissance saine des plantes (**Mahanty et al., 2017**). De plus, **Menino et al. (2021)** ont découvert que même après la récolte des plantes, la matière organique, le phosphore et l'azote dans le sol traité par les fertilisants issus des larves BSFL était significativement élevée par rapport à l'utilisation d'engrais synthétiques. Par conséquent, les excréments BSFL peuvent avoir des avantages à long terme pour le sol, ce qui peut avoir des implications importantes pour l'agriculture durable. Comme cet engrais a une forte teneur en matière organique et en peaux des larves qui sont riches en chitine, il peut avoir une activité antifongique contre les moisissures pathogènes. Des études ont montré que l'utilisation d'excréments comme

fertilisant réduisait la mort des plantes due au *Fusarium oxysporum* (Quilliam et al., 2020) et que l'absorption d'exuvies riches en chitine dans le sol a eu des effets encore plus positifs sur la lutte contre les maladies (Arabzadeh et al., 2022).

La matière sèche des excréments dans tous les traitements était supérieure à celle trouvée par Gärttling et Schulz (2022). Elle pourrait être influencée par les facteurs abiotiques de l'expérience, notamment une température élevée (29 ± 2 ° C) et une faible humidité relative (45 ± 11 %), conformément aux conclusions de Permana et Ramadhani (2018) qui ont démontré que le marc de café déshydraté rapidement dans des conditions défavorables. De plus, Gärttling et Schulz (2022) ont montré que la teneur en matière sèche pourrait être affectée par la méthode d'élevage et la qualité du substrat alimentaire. Cheng et al. (2017) ont découvert que même si une teneur plus élevée en humidité des déchets entraîne un taux de croissance larvaire plus rapide, elle complique également la séparation des larves BSF de résidus. En effet, la teneur en humidité du résidu est très importante afin de faciliter la séparation de la biomasse BSF. Une teneur en humidité comprise entre 82 % et 86 % rend la séparation difficile et peut provoquer des agglomérations, ce qui peut entraîner des résultats de tamisage médiocres (Diener et al., 2011a ; Cheng et al., 2017).

Bien que le pH des substrats fût acide dans les environs de 5 et 6, les résidus issus des larves BSF nourris par le marc de café seul ou avec le lactosérum ont eu un pH légèrement alcalin avec une valeur moyenne allant de 7.1 à 7.6. Dans des études antérieures, Green et Popa (2012), Ma et al. (2018) et Meneguz et al. (2018) ont montré que les larves de BSF modifient activement le pH du substrat vers un environnement alcalin. Alors que les larves de BSF peuvent se développer à une large gamme de pH (Ma et al., 2018 ; Meneguz et al., 2018), leur performance semble être meilleure à un pH plus élevé du substrat alimentaire (Meneguz et al. 2018 ; Pang et al., 2020). Les valeurs de pH des excréments sont principalement influencées par les propriétés de la source d'alimentation (Ma et al., 2018 ; Klammsteiner et al., 2020) ou la densité larvaire (Parra Paz et al., 2015 ; Meneguz et al., 2018).

L'utilisation des résidus d'insectes BSF comme engrais organiques est un concept innovant qui pourrait jouer un rôle crucial dans l'agriculture circulaire durable. L'intégration de ces résidus comme engrais dans les systèmes agricoles nécessite une évaluation approfondie de leur impact sur la croissance des cultures, le rendement, l'absorption des nutriments, et leur efficacité comparée aux engrais traditionnels. En améliorant le cycle des

nutriments jusqu'au champ, les excréments de BSF pourraient significativement contribuer à cette agriculture durable. Cependant, une compréhension plus précise des systèmes d'alimentation et de production du BSF, combinée à des analyses détaillées des éléments nutritifs, est nécessaire pour mieux saisir les variations dans la teneur en nutriments des résidus. Notamment, l'ajout de différents types de lactosérum au régime de marc de café a montré une amélioration de la qualité des excréments d'insectes BSF, faisant de ces résidus un substitut potentiel aux engrais organiques traditionnels, avec des effets bénéfiques sur la qualité des sols.

IV.5. Conclusion

A travers cette étude nous avons examiné une voie intéressante de valorisation, d'un sous produit très connu en industrie laitière et qui est souvent responsable de la forte charge polluante générée par cette filière, par son utilisation en tant qu'additif alimentaire avec le marc de café, dans le but de stimuler les performances, la croissance et la valeur nutritionnelle des larves de mouche soldat noire (BSF) (*Hermetia illucens*) et améliorer la composition chimique des excréments (résidus). Les résultats ont confirmé un meilleur développement des larves BSF dans le régime marc de café enrichi en différents types du lactosérum doux, acide et fermenté, ainsi qu'avec une digestion efficace de leurs nutriments. De plus, les larves de BSF nourries avec le marc de café associé avec le lactosérum ont montré un taux élevé de réduction de la matière sèche et un taux de bioconversion du substrat améliorés, ce qui a eu une répercussion favorable directe sur la production de biomasse riche en protéines et en graisses, qui est plus utile pour l'alimentation animale. De plus, les résidus qui en résultent se sont révélés très prometteurs en tant que bio-engrais dans l'agriculture durable. Tout bien considéré, l'utilisation de régimes marc de café supplémentés en lactosérum pour les larves de BSF fournit une solution écologique pour le bio-traitement du lactosérum à faible coût, allégeant ainsi le fardeau de la pollution des décharges et des émissions de gaz à effet de serre associées à la décomposition de ces déchets organiques.

CHAPITRE 6: RESULTATS ET DISCUSSION

(Suite)

**Formulation et suivi du comportement d'une
boisson synbiotique à base de lactosérum
enrichie avec le lait de soja et édulcorée avec le
sirop de datte**

V.1. Résultats

V.1.1. Composition chimique des matières premières

Le tableau 8 illustre la composition chimique des différentes matières premières utilisées pour la formulation des boissons synbiotiques.

Tableau 8. Composition chimique moyenne (\pm Ecart-type) du lactosérum doux, lait de soja et le sirop de datte

	Lactosérum doux	Lait de soja	Sirop de datte
pH	5,83 \pm 0,05	6,55 \pm 0,08	4,87 \pm 0,03
Minéraux %	9,88 \pm 0,59	0,57 \pm 0,03	2,12 \pm 0,04
Densité	1,023 \pm 0,00	1,016 \pm 0,00	1,341 \pm 0,000
TSS (°Brix)	ND	ND	66,33 \pm 0,57
I R	ND	ND	1,454 \pm 0,00
Matière sèche %	6,44 \pm 0,20	10,42 \pm 0,81	68,59 \pm 0,52
Matière grasse %	4,27 \pm 0,38	ND	ND
Lactose %	72,42 \pm 1,00	ND	ND
Protéines %	9,85 \pm 0,86	3,80 \pm 0,40	ND
Acidité titrable %	0,14 \pm 0,00	0,12 \pm 0,00	0,22 \pm 0,00

* ND : Non déterminée

Le lactosérum doux utilisé dans la présente étude s'est caractérisé par un pH acide (5,83) très proche de la limite inférieure du pH d'un lactosérum doux avec une faible acidité titrable de 0,14%. Il est particulièrement riche en minéraux 9,88%. Sa densité est de 1,023, ce qui indique qu'il contient des solides dissous mais reste un liquide relativement léger. La teneur en matière sèche est de 6,44%, ce qui signifie qu'il contient un pourcentage faible de composés solides. Sa teneur en matières grasses est de 4,27%. L'une des caractéristiques les plus importantes du lactosérum doux est sa richesse en lactose avec une teneur de 72,42%, alors que la teneur en protéines est de 9,85%.

Le lait de soja a un pH proche de la neutralité et qui est légèrement élevé à ceux du lactosérum et le sirop de dattes, ce qui fait de ce produit le moins acide des trois produits qui

constituant les boissons fonctionnelles. Ces valeurs concordent avec la faible acidité titrable de 0,12% enregistrée. Ainsi, le lait de soja est l'ingrédient le moins acidulé.

Sa densité (1,016) est similaire à celle du lactosérum doux. La teneur en matière sèche est de 10,42% faisant du lait de soja le constituant plus riche que le lactosérum. Contrairement au lactosérum, le lait de soja ne contient pas de lactose, produit intéressant pour les intolérants au lactose. Sa teneur en protéines est de 3,80%, inférieure à celle du lactosérum mais qui reste intéressante comme une source de protéines végétales. Sa teneur en minéraux (0,57%) est la plus faible parmi les trois matières premières.

Le sirop de date a une teneur en matière sèche de 68,59%, la plus élevée parmi les trois composants des boissons synbiotiques, ce qui indique qu'il s'agit d'un produit dense et riche en sucre. Cette propriété est confirmée par sa teneur en solides solubles totaux (66,33° Brix) et les valeurs de l'indice de réfraction (1,454), qui indiquent tous les deux une teneur élevée en sucre. Le sirop de date a un pH acide de 4,87 avec une acidité titrable de 0,22%. Sa teneur en matière minérale est modérée avec seulement 2,12%. La densité du sirop de date (1,341) est significativement plus élevée que le lactosérum et le lait de soja, reflétant sa nature concentrée.

V.1.2. Composition chimique des trois boissons synbiotiques

Les résultats de la composition des boissons formulées sont indiqués dans le tableau 9.

Tableau 9. Composition chimique moyenne (\pm Ecart-type) des boissons synbiotiques A, B et C

	A	B	C
Minéraux %	9.12 \pm 0.52	8.20 \pm 0.45	7.38 \pm 0.48
Densité g/ml	1.036 \pm 0.00	1.050 \pm 0.02	1.063 \pm 0.01
Matière sèche %	9.19 \pm 0.27	12.15 \pm 0.19	14.92 \pm 0.35
Matière grasse %	4.22 \pm 0.31	4.15 \pm 0.33	4.08 \pm 0.34
Lactose %	65.15 \pm 0.91	61.58 \pm 0.83	57.95 \pm 0.77
Acidité titrable %	0.146 \pm 0.00	0.150 \pm 0.00	0.154 \pm 0.00
pH	5.63 \pm 0.05	5.38 \pm 0.05	5.14 \pm 0.06

Les valeurs du pH enregistrées sont acides et varient entre 5,14 et 5,38. La différence entre le pH des trois boissons reste faible (moins de 0,5 unité de pH) se traduisant par une acidité légèrement supérieure pour la boisson C, la boisson la plus riche en sirop de datte.

La teneur en minéraux varie d'une boisson à une autre et elle est comprise entre 7,38 % et 9,12%. La Boisson A a présenté la teneur la plus élevée et qui est de (9,12%),

La densité des boissons est comprise entre 1,036 et 1,063. La boisson contenant plus de sirop s'est caractérisée par la densité la plus élevée : A (1,036) est la boisson la moins dense, B (1,050) est une boisson modérée et C (1,063) est la boisson la plus dense. La teneur en matière sèche varie de 9,19 à 14,92% et est la plus élevée pour la boisson contenant plus de sirop de dattes.

La variation de la teneur en matières grasses reste relativement faible, avec seulement des écarts mineurs entre les trois boissons (A : 4,22%, B : 4,15%, C : 4,08%).

Les teneurs en lactose sont élevés dans les trois boissons avec une concentration comprise entre 57,95 % et 65,15 %. La boisson A, qui contient moins de sirop a présenté la teneur en lactose la plus élevée (65,15%).

Sur la base de ces résultats, nous déduisons que la boisson C, la plus riche en sirop de dattes (15%), est la plus dense et la plus acide, avec une teneur en matière sèche la plus élevée. Cependant, cette boisson a présenté un pH, une teneur en minéraux et une teneur en lactose les plus faibles. La boisson A, avec seulement 5% de sirop de date, est la moins dense et la moins acide avec des teneurs en minéraux et en lactose les plus élevées. La boisson B, contenant 10% de sirop de date, présente des caractéristiques intermédiaires, équilibrant les propriétés des boissons A et C. Ces différences de composition peuvent influencer directement la valeur nutritionnelle et les propriétés organoleptiques (goût, texture) des boissons formulées.

V.1.3. Suivi du comportement et de la stabilité des boissons durant l'entreposage à froid

V.1.3.1. Paramètres physicochimiques

V.1.3.1.1. pH et acidité titrable

La figure 14 illustre l'évolution du pH pendant la conservation des trois boissons (A, B et C). Le pH, des boissons formulés est acide avec des valeurs comprises entre 5-6, et qui a enregistré une baisse sensible durant les deux premières semaines (de 5.33 jusqu'à 4.2) pour se stabiliser à des valeurs proches de 4. Parallèlement à cette baisse de pH, nous avons enregistré une augmentation de l'acidité titrable, à partir d'environ 0.14-0.17 % pour atteindre des valeurs comprises entre 0.27-0.33 % à la fin de la période de stockage. La relation entre l'évolution du pH et de l'acidité est bien respectée.

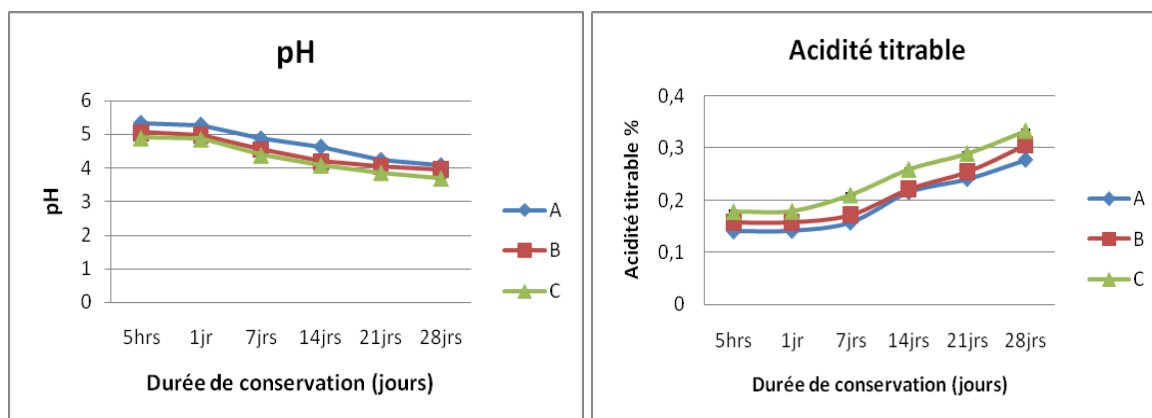


Figure 14. Variation de pH et de l'acidité titrable (moyenne \pm Ecart-type) des trois boissons A, B et C en fonction de la durée de conservation à 4°C

V.1.3.1.2. Taux des solides solubles et indice de réfraction

Parmi les paramètres clés analysés durant les 28 jours de stockage à froid, les taux des solides solubles (TSS) et l'indice de réfraction. Ces paramètres sont utilisés pour évaluer la stabilité et les changements potentiels dans la composition des boissons. Les valeurs TSS indiquent la concentration de solides solubles, constitués principalement par des sucres. Les valeurs TSS des trois boissons sont fonction de la concentration de sirop de dattes : la boisson A (5% de sirop de datte à) a les TSS les plus bas (10,04 ° Brix), la boisson B (10% sirop de datte à) avec un TTS intermédiaire de 13,25 ° Brix et la boisson C (15%sirop de datte) a présentée un TSS le plus élevé (15,75 ° Brix) (figure 15). Une variation faible du taux des TSS a été enregistrée durant la période de conservation.

L'indice de réfraction mesure la densité des solides dissous, principalement des sucres. Il suit une tendance similaire aux TSS. Un indice de 1,357 pour la boisson C, la plus riche en sirop de dattes, a été enregistré. La variation de cet indice reste trop faible synonyme d'une grande stabilité des boissons formulées (figure 15). Il passe de 1,35 à 1,348 pour la boisson A, de 1,353 à 1,352 pour la boisson B et de 1,357 à 1,355 pour la boisson C.

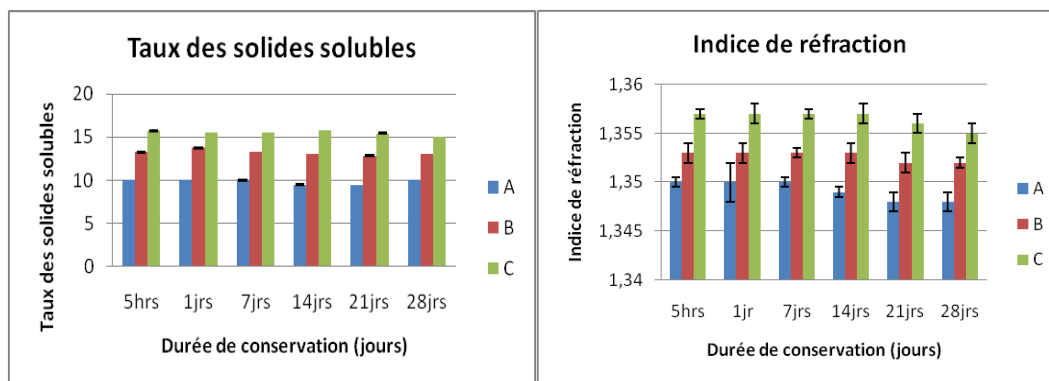


Figure 15. Variation des taux des solides solubles et l'indice de réfraction (moyenne \pm Ecart-type) des trois boissons A, B et C pendant la conservation à 4°C

V.1.3.1.3. Densité

L'analyse du graphique (figure 16) montre que la densité des différentes boissons reste globalement stable après 28 jours de réfrigération, avec des variations très limitées entre les échantillons. L'échantillon A présente une évolution quasi constante, marquée uniquement par de faibles fluctuations. L'échantillon B enregistre une légère augmentation atteignant un maximum au 14^e jour, suivie d'une baisse modérée. Quant à l'échantillon C, bien qu'il affiche les valeurs de densité les plus élevées, il présente également une variation mineure autour du 14^e jour avant de revenir à un niveau proche de sa valeur initiale. Dans l'ensemble, aucune tendance décroissante ou significative n'a été observée, ce qui indique que la durée de stockage au froid a un effet négligeable sur la densité des boissons.

La représentation graphique en barres (figure 16) illustre clairement ces résultats. Les barres correspondant à l'échantillon C demeurent systématiquement les plus élevées, suivies de celles de l'échantillon B, puis de l'échantillon A. Les écarts entre les différents temps de mesure demeurent faibles, ce qui confirme la stabilité de la densité tout au long de la période de conservation.

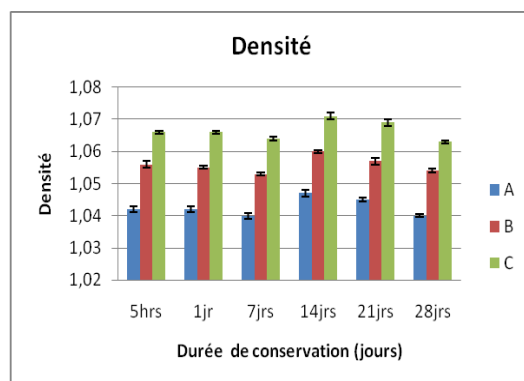


Figure 16. Evolution de la densité (moyenne \pm Ecart-type) des Boissons A, B et C durant la conservation à 04°C

V.1.3.2. Composés bioactifs

V.1.3.2.1. Polyphénols totaux

La figure 17 montre l'effet de la durée de stockage sur les polyphénols totaux des boissons A, B et C. Les résultats révèlent une augmentation progressive de la concentration des polyphénols totaux dans les trois boissons. Cette augmentation a été remarquée après 5 heures de fermentations pour atteindre des valeurs maximales au 7^{ème} jour (36.65 mg EAG /l pour la boisson A, 36.3 mg EAG /l pour la boisson B et de 35.87 mg EAG /l pour la boisson C). Après 14 jours de stockage, les concentrations ont baissé d'une manière significative pour atteindre 33.77 mg EAG/l pour la boisson A, 33.01 mg EAG/l pour la boisson B et 32.89 mg EAG/l pour la boisson C. La boisson A est la boisson qui contient la teneur la plus élevée en polyphénols totaux alors que la boisson C a les faibles teneurs.

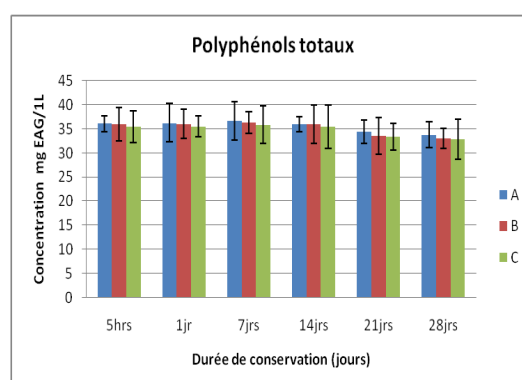


Figure 17. Variation des concentrations des polyphénols totaux (moyenne \pm Ecart-type) des boissons A, B et C durant la conservation à 04°C

V.1.3.2.2. Flavonoïdes

La figure 18 montre des différences significatives ($p < 0.05$) en flavonoïdes pour les trois boissons après 28 jours de stockage à froid. En termes de quantité, la boisson A contient la concentration la plus élevée 104.07 $\mu\text{g EQ/ml}$. La teneur en flavonoïdes des boissons A, B et C a connu une augmentation durant les 7 premiers jours (107.07 $\mu\text{g EQ/ml}$ pour la boisson A, 92.96 $\mu\text{g EQ/ml}$ pour la boisson B et 79.01 $\mu\text{g EQ/ml}$ pour la boisson C) suivi d'une baisse pour atteindre des valeurs comprises entre (25.43 et 26.41 $\mu\text{g EQ/ml}$) après 28 jours de conservation.

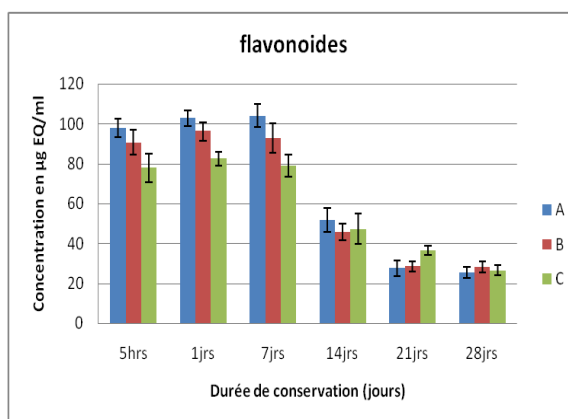


Figure 18. Variation des concentrations des flavonoïdes (moyenne \pm Ecart-type) des boissons A, B et C pendant la conservation à 04°C

V.1.3.2.3. Tannins hydrosolubles

La concentration des tannins hydrosolubles des trois boissons A, B et C, à différents instants, est présentée par la figure 19. Nous constatons, une augmentation de la concentration des tannins hydrosolubles pendant les sept premiers jours de stockage pour atteindre des valeurs comprises entre 121.75 et 140 $\mu\text{g EAT/ml}$ suivi d'une diminution durant les jours restants de stockage. En matière de teneur, la boisson C a eu les proportions les plus élevées en tannins hydrosolubles durant toute la période de conservation.

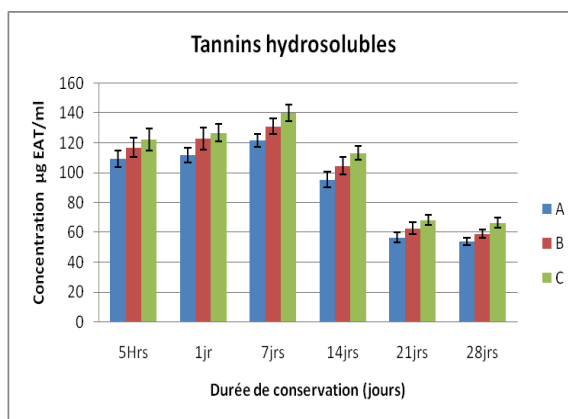


Figure 19. Variation des concentrations des tannins hydrosolubles (moyenne \pm Ecart-type) des boissons A, B et C pendant la conservation à 04 C

V.1.3.3. Activité antioxydante (test DPPH)

L'activité antioxydante des boissons synbiotiques, illustr  e par la figure 20, a été   valu  e par le test de piégeage du radical libre DPPH. Les résultats ont montré une différence significative de la capacité d'inhibition du DPPH entre les boissons fonctionnelles au cours de la période de stockage. Les valeurs de la concentration inhibitrice (IC_{50}) variaient entre 68,15 et 244,95 mg/ml pour la boisson A, entre 55,18 et 162,3 mg/ml pour la boisson B, et entre 61,41 et 128,64 mg/ml pour la boisson C. On observe que l'augmentation de la proportion de sirop de datte entraîne une diminution de l' IC_{50} , ce qui traduit une activité antioxydante plus   lev  e. La boisson C, en particulier, présente la plus forte capacité de piégeage des radicaux libres, ce qui est cohérent avec ses teneurs plus   lev  es en tannins hydrosolubles. Par ailleurs, toutes les boissons ont enregistré leur activité antioxydante maximale au septième jour avec une évolution associ  e à des concentrations   lev  es en polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins hydrosolubles mesur  es à la même période lors du stockage à froid.

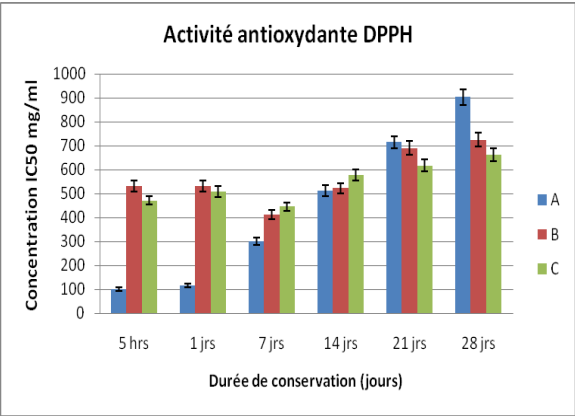


Figure 20. Variation des concentrations de l’activité antioxydante (moyenne ± Ecart-type) des Boissons A, B et C pendant la conservation à 04°C

V.1.2.4. Qualité microbiologique des boissons synbiotiques

Les résultats des analyses microbiologiques, des boissons synbiotiques pendant les 28 jours de stockage à 4 ° C, sont regroupés dans le tableau 10.

Les résultats montrent l’absence, de la flore totale aérobie mésophile, de coliforme fécaux ou totaux, de levures et moisissures, tout au long de la durée du stockage à froid.

Tableau 10. Résultats des analyses microbiologiques (moyenne ± Ecart-type) des trois boissons synbiotiques A, B et C pendant la période de stockage à 4°C

	Durée d’entreposag e	Boisson A (UFC/ml)	Boisson B (UFC/ml)	Boisson C (UFC/ml)	Normes Algériennes (UFC/ml)
Flore Totale Aérobie Mésophile	5 h	Abs	Abs	Abs	< 10 ³
	1 j	Abs	Abs	Abs	
	7 j	Abs	Abs	Abs	
	14 j	Abs	Abs	Abs	
	21 j	Abs	Abs	Abs	
	28 j	Abs	Abs	Abs	
Levures et Moisissures	5 h	Abs	Abs	Abs	
	1 j	Abs	Abs	Abs	

	7 j	Abs	Abs	Abs	< 10 ²
	14 j	Abs	Abs	Abs	
	21 j	Abs	Abs	Abs	
	28 j	Abs	Abs	Abs	
Coliformes Totaux	5 h	Abs	Abs	Abs	< 10 ²
	1 j	Abs	Abs	Abs	
	7 j	Abs	Abs	Abs	
	14 j	Abs	Abs	Abs	
	21 j	Abs	Abs	Abs	
	28 j	Abs	Abs	Abs	
Coliformes Fécaux	5 h	Abs	Abs	Abs	< 10
	1 j	Abs	Abs	Abs	
	7 j	Abs	Abs	Abs	
	14 j	Abs	Abs	Abs	
	21 j	Abs	Abs	Abs	
	28 j	Abs	Abs	Abs	

V.1.2.5. Suivi de la viabilité cellulaire de *Bacillus subtilis*

La figure 21 montre l'évolution de la viabilité cellulaire de *Bacillus subtilis* des boissons fonctionnelles A, B et C. Les bactéries probiotiques dans la boisson C ont enregistré la viabilité la plus élevée et qui est de 07.75 log₁₀ CFU/ml après 28 jours de stockage. Alors que la boisson probiotique A avait le plus faible nombre de *Bacillus subtilis* 07,61 log₁₀ CFU/ml. Le nombre total viable dans toutes les boissons a légèrement diminué pendant la durée stockage tout en restant supérieur à 7.61 log₁₀ CFU/ml.

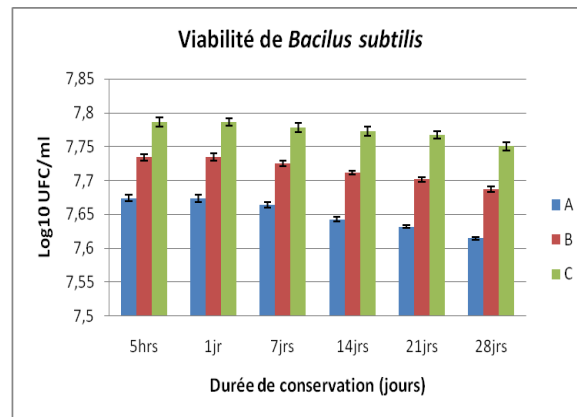


Figure 21. Evolution de la viabilité cellulaire de *Bacillus subtilis* (moyenne \pm Ecart-type) des trois boissons A, B et C durant le stockage à 04°C

V.1.2.5. Évaluation de la qualité organoleptique

La figure 22 montre les résultats de l'évaluation sensorielle des boissons A, B et C. Les tests d'évaluation ont montré des différences significatives dans les préférences des boissons formulées. Le score moyen pour la couleur et l'apparence était plus élevé pour la boisson C que celui des deux autres boissons. La boisson B a obtenu les scores les plus élevés pour le goût, l'arôme et les scores de l'acceptabilité générale. Alors que la boisson C a reçu les scores moyens les plus élevés pour la couleur et la texture. Par contre, la boisson A obtenu le score le plus faible dans tous les paramètres d'évaluation organoleptiques.

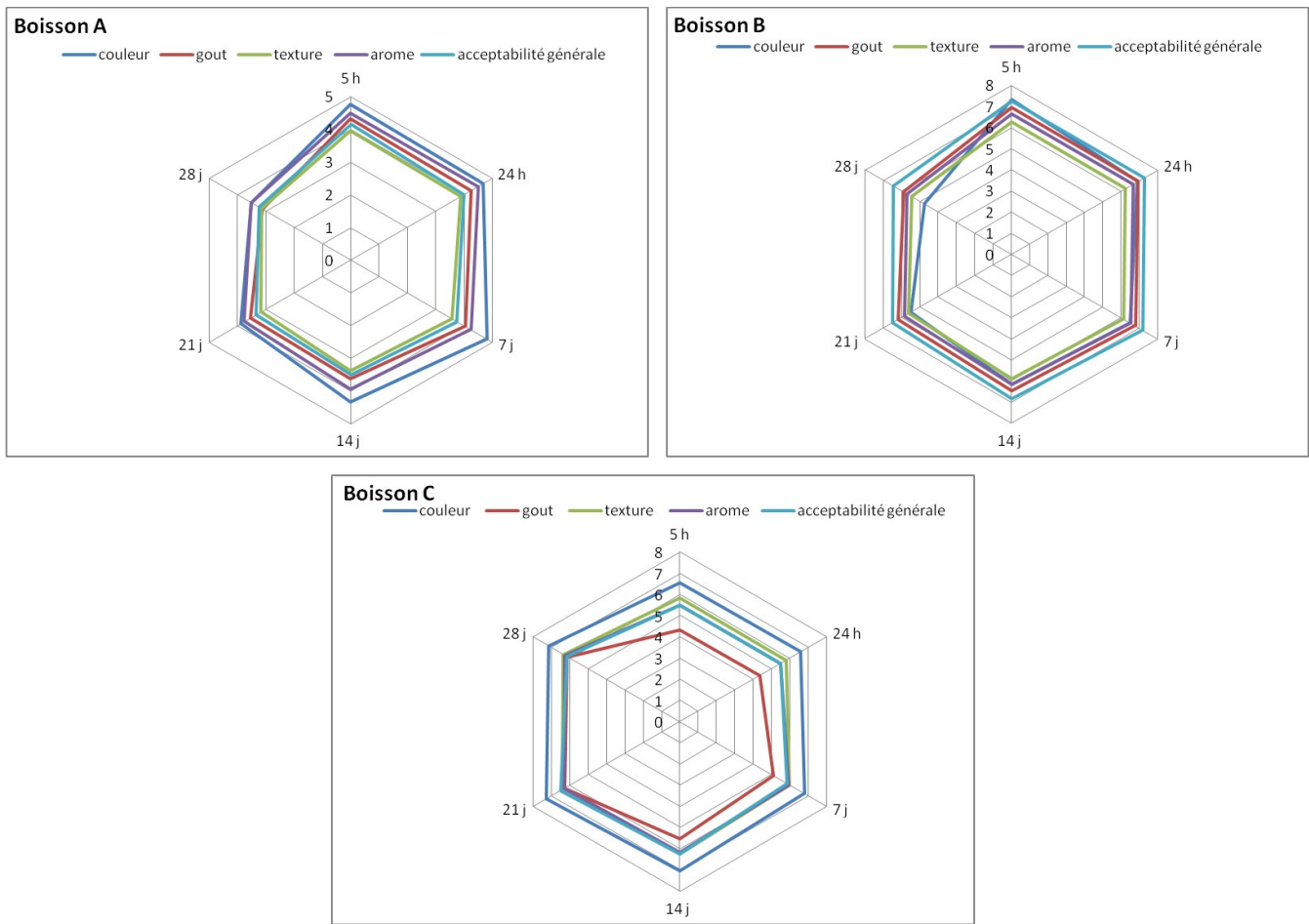


Figure 22. Radars de l’évaluation organoleptique des boissons synbiotiques A, B et C durant quatre semaines de conservation à 04°C.

V.2. Discussion

V.2.1. Composition des matières premières

Le lactosérum doux possède une matière sèche d'environ 6,5% montrant qu'il s'agit d'un produit assez dilué. Comme mentionné précédemment, les solides sont essentiellement composés par le lactose ($72,42 \pm 1,00$ %), les protéines de lactosérum ($9,85 \pm 0,86$ %), les cendres ($9,88 \pm 0,59$ %), l'acide lactique ($0,14 \pm 0,00$ %) et les graisses ($4,27 \pm 0,38$ %). Ces résultats sont similaires à ceux mentionnés par (Mulcahy, 2017; Monnier & Schlienger, 2018 ; Guo & Wang, 2019 ; Buchanan et al., 2023). La composition du lactosérum est fonction de plusieurs facteurs (la source de lait, sa composition chimique, ses méthodes de transformation et son processus de fabrication de fromage).

D'autres facteurs comme les variations saisonnières, l'alimentation et le stade de lactation influencent également la composition du lait et du lactosérum (Božanić et al., 2014 ; Pires et al., 2021 ; Binsis & Papademas, 2023). Il a été considéré comme un déchet laitier majeur pendant des décennies en raison des problèmes d'élimination liés à sa forte demande biologique en oxygène (Ahn et al., 2001). En raison de sa composition nutritionnelle élevée, il est utilisé dans plusieurs applications de produits alimentaires commerciaux (Almeida et al., 2013). Dans cette étude, le lactosérum doux a été utilisé dans la formulation d'une boisson synbiotique en raison des qualités biologiques et nutritionnelles de ses nutriments. Les protéines de lactosérum, qui représentent $9,85 \pm 0,86$ %, sont reconnues comme une source potentielle de nutriments bioactifs (Almeida et al., 2013). Les principaux constituants des protéines de lactosérum comprennent les α -lactalbumines, les β -lactoglobulines, l'albumine sérique bovine, les immunoglobulines, les lactoferrines bovines, les lactoperoxydases bovine et des quantités mineures de glycomacropéptides. Ce groupe ont également des propriétés anticancéreuses, antifongiques, antimicrobiennes et des propriétés de modulation du système immunitaire (Mitra et al., 1995 ; De Wit, 1998 ; Freedman et al., 1998 ; Okhuysen et al., 1998 ; Loimaranta et al., 1999).

Alors que le lactose, constituant majeur et le glucide primaire dans le lactosérum, représente $72,42 \pm 1,00$ % dans cette étude. Il contribue à l'absorption de certains minéraux comme le calcium, le phosphore et le magnésium dans les intestins, ainsi qu'il facilite l'utilisation de la vitamine C. le lactosérum contient également des oligosaccharides comme l'acide sialique, qui ont des propriétés prébiotiques et anti-infectieuses. Ils présentent

particulièrement un rôle bénéfique dans le développement du cerveau précoce des nourrissons (**Anand et al., 2013 ; Macwan et al., 2016**). Généralement, le lactosérum présente une valeur nutritionnelle élevée et se caractérise par sa facilité de digestion et son assimilation efficace (**Papademas & Kotsaki, 2020**).

Le lait de soja est, le deuxième constituant de boissons synbiotiques formulées dans cette étude, utilisé comme ingrédient avec un taux de 05 % pour enrichir la qualité nutritionnelle ainsi que la qualité biologique, est un produit naturel dérivé du soja. Il s'agit de l'un des substituts du lait les plus populaires pour les personnes atteintes d'intolérance au lactose ou celles qui souffrent d'allergie aux protéines du lait de vache (**Sethi et al., 2016**). Le lait de soja, utilisé dans la présente étude, possède une teneur en matière sèche de $10,42 \pm 0,81$ % qui est élevée par rapport à celle du lactosérum avec une teneur en protéines de $3,80 \pm 0,40$ %. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par **Ahsan et al. (2015)**. Ces dernières années, les aliments du soja ont reçu une attention particulière en raison de leurs effets bénéfiques signalés sur les symptômes de la ménopause, les cancers et les maladies métaboliques (**Messina et al., 1994 ; Anderson, 1998 ; Messine & Loprinzi, 2001 ; Kurzer, 2008 ; Larkin et al., 2009**). Cet intérêt au lait de soja est justifié aussi par la variété de nutriments, qui ont manifesté un rôle potentiel dans le métabolisme lipidique, notamment des protéines de haute qualité, des acides gras polyinsaturés, des saponines ainsi que des phytostrols, des lécithins de soja et des isoflavones (**Ramdath et al., 2017**).

Le sirop de date est utilisé comme ingrédient ou édulcorant naturel dans plusieurs préparations de certains aliments traditionnels et industriels tels que les produits de crème glacée, les boissons, la confiserie, les produits de boulangerie (**Mohamed & Ahmed, 1981 ; Barreveld, 1993 ; Rofehgari-Nejad et al., 2010**).

Le sirop de datte, troisième composant, dans les boissons synbiotiques étudiées, est utilisé comme édulcorant naturel à différentes proportions. Les résultats des analyses physicochimiques montrent une teneur élevée en matière sèche avec ($68,59 \pm 0,52$ %), cette teneur est inférieure à celle trouvée (72.1 %) par **Raiesi et al. (2014)**. La teneur faible en humidité du sirop de date est un facteur important pour une longue stabilité de ses propriétés. Selon **Bellaouchi et al. (2017)**, une faible teneur en humidité protège la capacité du sirop à rester frais et à éviter la détérioration par voie fermentaire (levure). La majeure partie de la matière sèche du sirop de date consistait en solides solubles totaux (TSS) avec ($66,33 \pm 0,57$ %). Les TSS correspondent aux sucres totaux présents dans le sirop de datte qui sont dominés

par le fructose et le glucose. Ces sucres ont plus d'avantages par rapport au saccharose sur la santé car ils sont naturels et ont une douceur plus élevée (**Ghafari et al., 2013**). Le pH du sirop de datte ($4,87 \pm 0,03$ %) et son acidité titrable ($0,22 \pm 0,00\%$) font de cet ingrédient, le plus acide parmi les composants de boissons synbiotiques formulées. Ces caractéristiques sont liées aux acides organiques présents naturellement dans les fruits de datte ou dans les produits pendant l'extraction du sirop de datte.

V.2.2. Suivi de la stabilité des boissons synbiotiques pendant la conservation à 4°C

V.2.2.1. Paramètres physicochimiques

V.2.2.1.1. pH et acidité titrable

Le pH est l'un des paramètres les plus importants, de la qualité et de la stabilité, qui peut influencer la durée du stockage des produits alimentaires (**Andrés-Bello et al., 2013**). Les valeurs de pH des boissons étudiées, après 28 jours de conservation à froid, sont acides et ont subi des variations qui diffèrent d'une boisson à une autre (de 5,33 à 4,08 pour la boisson A ; de 5,06 à 3,95 pour la boisson B et de 4,9 à 3,69 pour la boisson C). Ces résultats sont conformes à ceux rapportés par **Drgalić et al. (2005)**, **Hariri et al. (2017)** et **Skryplonek et al. (2019)**. L'abaissement du pH des boissons est proportionnel à la quantité de sirop. Il peut être dû à la présence d'acides organiques dans le sirop de datte ou autres acides produits pendant le stockage. Selon **Ahmed et al. (2023)**, la diminution du pH peut être causée par la génération d'acides aminés et d'acides organiques pendant le stockage à partir des protéines et du lactose. D'un autre côté, cette baisse du pH suggère une augmentation de l'acidité, probablement en raison de l'activité microbienne, de la fermentation ou des changements chimiques qui se produisent pendant le stockage. La baisse progressive du pH peut être considérée comme variation bénéfique au produit. Cette propriété du pH bas peut interagir avec des facteurs tels que l'activité de l'eau et des conservateurs comme les polyphénols qui ont été démontrés pour inhiber la croissance des micro-organismes pathogènes et prolonger ainsi la durée de conservation des boissons (**Hamad, 2012 ; Mishra & Sangma, 2017**).

L'acidité titrable, mesurée comme la teneur en acide lactique, était nettement plus élevée dans la boisson C, contenant 15% de sirop de datte, que dans les deux autres boissons A et B contenant 5% et 10% de sirop de datte, respectivement. En comparant l'acidité initiale

et finale, nous constatons une hausse de cette dernière en passant de 0.14 à 0.27%, de 0.15 à 0.30% et de 0.17 à 0.33% pour les boissons A, B et C, respectivement.

Les valeurs d'acidité obtenue au cours de cette étude sont nettement inférieures à celles trouvées par **Ahmed et al. (2023)** et qui ont trouvé une acidité titrable finale entre 0.44 et 0.66%. La fluctuation des valeurs de l'acidité titrable des boissons peut être liée principalement aux acides lactiques et autres acides organiques produits lors la fermentation durant le stockage à froid. Selon **Antunes et al. (2005)** et **Ramirez-Santiago et al. (2010)**, le phénomène de postacidification des boissons probiotiques ou fermentées pendant l'entreposage à froid est typiquement provoqué par l'activité des bactéries lactiques, qui peut entraîner la production de l'acide lactique par fermentation même aux températures réfrigérées.

V.2.2.1.2. Densité

La densité est un paramètre important dans l'évaluation de la qualité des boissons. La boisson C a la densité la plus élevée parmi les trois boissons et s'explique par la quantité de sirop de datte ajoutée. Durant la conservation des boissons, une légère baisse de la densité a été noté (de 1,042 à 1,040 pour la boisson A, de 1,056 à 1,054 pour la boisson B et de 1,066 à 1,063 pour la boisson C). Cet abaissement peut être expliqué par plusieurs mécanismes biochimiques et physicochimiques tels que la conversion des sucres résiduels, en plus d'autres nutriments, par les bactéries probiotiques présents dans les boissons, produisant des substances volatiles tels que les acides organiques et le gaz carbonique. Cela entraîne une perte de poids initial des boissons pour le même volume, aboutissant alors à une diminution de la densité et une perte de masse. Selon **Granato et al. (2010)**, la fermentation résiduelle peut subsister même à une température basse (4 °C), en raison de l'activité métabolique ralentie mais persistante de certaines bactéries probiotiques.

V.2.2.1.3. Solides solubles totaux et indice de réfraction

Les solides solubles totaux (TSS) dans une boisson représentent l'ensemble des substances dissoutes dans le liquide, principalement des sucres, mais aussi des acides aminés, des protéines solubles, des acides organiques, des minéraux, et certains composés bioactifs issus des ingrédients ajoutés comme le lait de soja et le sirop de datte. Les TSS sont généralement mesurés en degré Brix avec un réfractomètre, ce qui reflète majoritairement la concentration en sucres dans les boissons sucrées ou fruitées.

La faible diminution du TSS au fil du temps, en particulier pour les boissons A et B, pourrait être due aux précipitations de sucre, à l'activité microbienne ou aux interactions avec les protéines présentes dans le lactosérum et le lait de soja. Le fait que la boisson C reste stable suggère qu'une concentration plus élevée de sirop aide à maintenir la solubilité du sucre, probablement en raison de son effet comme conservateur naturel. La diminution de TSS peut être attribuée à la dégradation des sucres solubles par les micro-organismes probiotiques même à basse température. Certaines souches de bactéries conservent une activité métabolique réduite, permettant la fermentation résiduelle des sucres simples présents dans le sirop de datte, riche en glucose et fructose (**Prado et al., 2008 ; Granato et al., 2010**). Cette consommation entraîne une diminution des TSS. De plus, une partie des composants solubles, tels que des protéines ou des minéraux, peut précipiter ou s'agréger au fil du temps, surtout en l'absence de stabilisants efficaces, contribuant également à la baisse apparente des TSS (**Arslan, 2015**).

De même, les résultats de l'indice de réfraction, renforcent l'idée que la boisson C avec 15% de sirop de datte est la boisson la plus stable. La baisse minimale des boissons A et B pourrait également confirmer qu'il peut exister des instabilités dans les compositions à plus faible concentration de sirop de datte, des interactions entre les sucres et protéines qui auraient progressivement un impact sur la solubilité. Alors que la boisson C avec 15% de sirop montre des valeurs préservées, il semblait être la meilleure composition pour un stockage plus long. Les modèles de boissons A et B démontrent des valeurs plus faibles de TSS et d'indice de réfraction, ce qui suggère que ces deux boissons sont moins stables. L'analyse des données de solides solubles totaux et d'indice de réfraction permet de suggérer que la stabilité des boissons augmente pour une concentration plus élevée de sirop de date.

Par ailleurs, une séparation de phases peut survenir durant le stockage, avec la sédimentation progressive de particules telles que les protéines ou les cellules bactériennes mortes, réduisant la concentration de matière en suspension dans la phase supérieure du liquide (**Shah, 2007 ; Champagne et al., 2018**). À cela s'ajoute l'action potentielle d'enzymes extracellulaires protéolytiques ou lipolytiques d'origine bactérienne, qui dégradent les macromolécules en composés de plus faible masse moléculaire, influençant également la densité globale du système (**Arslan, 2015**).

En outre, *Bacillus subtilis* est connu pour produire de nombreuses enzymes telles que les protéases, les lipases et les cellulases (Lesuisse et al., 1993 ; Mawadza et al., 1993 ; Mawadza et al., 2000 ; Yang et al., 2000 ; Zhu et al., 2008).

Pour une stabilité optimale des boissons, l'utilisation d'au moins 10 à 15% de sirop de datte est recommandée car elle améliore à la fois la rétention de douceur et la stabilité structurelle.

V.2.2.2. Composés bioactifs

V.2.2.2.1. Polyphénols totaux

En raison de leurs bienfaits pour la santé, les boissons fonctionnelles à base de produits laitiers attirent de plus en plus l'attention des chercheurs ainsi que les consommateurs, particulièrement lorsqu'ils sont combinés avec des composés bioactifs tels que les polyphénols. Les polyphénols, une classe de composés bioactifs trouvés dans les plantes, sont connus pour leurs propriétés antioxydantes, antimutagènes, antiartériosclérotiques, antimicrobiennes, anti-ulcères, antitumoraux et anti-inflammatoires (Bravo, 1998 ; Daglia, 2012 ; Landete, 2013). Lorsqu'ils sont incorporés dans les boissons probiotiques, ils peuvent améliorer les propriétés fonctionnelles de ces produits, offrant un effet synergique sur la santé humaine (Tesfaye et al., 2019 ; Valero-Cases et al., 2020 ; Jafari et al., 2022).

A partir des premiers cinq heures de fermentation, nous avons noté des augmentations des concentrations en polyphénols des boissons probiotiques formulées (A, B, C) pour atteindre des maximums de $36,65 \pm 3,9$, $36,3 \pm 2,29$ et $35,87 \pm 3,8$ mg EAG/l, respectivement. Au-delà du septième jour, leurs teneurs baissent pour atteindre les valeurs de $33,77 \pm 2,67$, $33,01 \pm 2$ et $32,89 \pm 4,15$ mg EAG/l, respectivement.

Ces résultats concordent à ceux trouvés dans une boisson à base de soja fermentée par *Bacillus subtilis* (Moktan et al., 2008 ; Juan et al., 2010 ; Yao et al., 2010). Cependant, les teneurs en polyphénols sont inférieures à ceux trouvés par Islam et al. (2021) où les teneurs en polyphénols, d'une boisson probiotique à base de lactosérum et d'ananas, étaient plus importantes et comprises entre 75.11 et 99.00 mg EAG/100g.

L'accroissement des concentrations des polyphénols totaux des boissons probiotiques après fermentation jusqu'au septième jour peut être dû à l'activité des bactéries présentes dans ces boissons ou par l'effet de leurs enzymes. Au cours du processus de fermentation, les composés phénoliques sont synthétisés par des micro-organismes par voie métabolique secondaire, libérés de la matrice du substrat par action enzymatique extracellulaire ou une rupture structurelle de la paroi cellulaire (Lesuisse *et al.*, 1993 ; Mawadza *et al.*, 2000 ; Zhu *et al.*, 2008 ; Dey *et al.*, 2016). Selon les composés phénoliques, sous leurs formes naturelles, sont associés ou liés à des sucres, et lors du processus de fermentation, les enzymes produites par *Bacillus subtilis* hydrolysent ces complexes phénoliques en phénols libres et solubles. L'augmentation de la teneur en composés phénoliques totaux après la fermentation est probablement due à la libération d'enzymes produite par *Bacillus subtilis* qui hydrolyse les complexes phénoliques, qui sont combinés ou liés avec des sucres, en phénols libres et solubles (Adetuyi & Ibrahim, 2014 ; Santos *et al.*, 2018).

La diminution des quantités en polyphénols peut être due à leur interaction avec d'autres molécules présentes dans les boissons formulées ou par l'effet des enzymes. Les interactions entre les composés polyphénoliques et les protéines sont principalement considérées comme non covalentes et les polyphénols sont simplement adsorbés superficiellement sur les protéines (Thongkaew *et al.*, 2014). De plus, la liaison des composés phénoliques aux protéines s'est avérée avoir un effet stabilisant, protégeant potentiellement les composés phénoliques de la dégradation (Anson *et al.*, 2009 ; Bhanja *et al.*, 2009; Martins *et al.*, 2013).

V.2.2.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes, un groupe de substances naturelles avec des structures phénoliques variables, se trouvent dans les fruits, les légumes, les céréales, l'écorce, les racines, les tiges, les fleurs, le thé et le vin. Les flavonoïdes sont désormais considérés comme un composant indispensable dans une variété d'applications nutraceutiques, médicinales et cosmétiques (Burak & Imen, 1999 ; Lee *et al.*, 2009 ; Ovando *et al.*, 2009 ; Panche *et al.*, 2016). Ceci est attribué à leurs propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-mutagènes et anti-carcinogènes couplées à leur capacité à moduler la fonction enzymatique cellulaire clé (Setchell *et al.*, 2011 ; Taku *et al.*, 2011 ; Abernathy *et al.*, 2015).

La teneur en flavonoïdes des boissons probiotiques formulées, dans cette expérimentation, a augmenté dans les trois échantillons jusqu'à la première semaine de conservation. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par **Takahashi et al. (2005)**, **Xu et Chang (2008)** et **Karovičová et al. (2020)** qui ont confirmé l'accroissement des teneurs en flavonoïdes après fermentation d'extraits de soja. L'augmentation de la teneur en flavonoïdes après la fermentation est probablement due à la synthèse d'enzymes par *Bacillus subtilis* qui hydrolyse les composés phénoliques qui sont combinés ou liés avec d'autres molécules (**Santos et al., 2018**). En plus, la fermentation des boissons contenant du lait de soja par *Bacillus subtilis* améliore la quantité des flavonoïdes ainsi que l'activité antioxydante (**Juan et al., 2010**). De plus, le lait de soja est un extrait aqueux de soja qui est riche en flavonoïdes tels que les isoflavones ainsi que les acides phénoliques (**Cederroth & Nef, 2009**).

La baisse des concentrations en flavonoïdes après la première semaine peut être due à leurs interactions avec d'autres molécules comme les protéines où ces composés bioactifs peuvent être dégradés par l'acidité, la lumière ou les conditions de stockage. Plusieurs facteurs peuvent influencer la stabilité et la biodisponibilité des flavonoïdes dans les boissons probiotiques. Ces facteurs peuvent être largement classés en aspects liés à l'activité enzymatique tel que la β -glucosidase, aux interactions microbiennes par certaines souches probiotiques qui peuvent dégrader ou transformer les flavonoïdes en métabolites bioactifs, aux conditions de fermentation et de stockage tels que le pH, la température et l'oxygène qui influencent fortement la dégradation ou la préservation des flavonoïdes (**Hervet-Hernández & Goñi, 2011 ; Cardona et al., 2013 ; Etxeberria et al., 2013 ; Duda-Chodak et al., 2015 ; Santos et al., 2018**).

V.2.2.2.3. Tannins hydrosolubles

Les tanins sont un groupe diversifié dans les composés phénoliques largement répartis dans la nature. Ce sont des métabolites secondaires des plantes généralement produites à la suite d'un stress et exercent un rôle protecteur, y compris la photoprotection contre les rayons ultraviolets et les radicaux libres ou la défense contre d'autres organismes et conditions environnementales, telle que la sécheresse (**Barbehenn & Constabel, 2011 ; Shirmohammadli et al., 2018 ; de Hoyos-Martínez et al., 2019**).

Ces tanins, qui peuvent représenter jusqu'à 30% du poids sec des algues, se sont révélés exercer des activités antimicrobiennes, photoprotectrices ou antioxydantes (**Salminen & Karonen, 2011 ; Erpel et al., 2020**). En raison de leurs propriétés intéressantes (pouvoir antioxydant, antimicrobien ou anti-inflammatoire, photoprotecteur), les tannins sont très utilisés dans l'industrie alimentaire, nutraceutique et pharmaceutique (**Barbehenn & Constabel, 2011; Huang et al., 2019**). En particulier, ils ont été proposés comme des additifs alimentaires naturels capables d'améliorer la sécurité et la durée de conservation des produits et également comme des agents de clarification dans les boissons (**Sharma et al., 2020**).

Les résultats de cette étude montrent une élévation considérable, des teneurs des tannins hydrosolubles des boissons formulées, dès les cinq heures après fermentation jusqu'à la première semaine de stockage à 04° C. Les tanins présentent la capacité de récupérer divers radicaux libres et d'inhiber la peroxydation lipidique. En fait, leur contenu augmente dans des conditions stressantes dans les états prooxydants cellulaires. Cette activité est liée à la présence d'anneaux phénoliques dans la structure chimique du composé et aussi au degré de polymérisation (**Sieniawska, 2015 ; de Hoyos-Martínez et al., 2019**).

L'abaissement des valeurs des tannins dans les boissons étudiées peut être dû à plusieurs facteurs. La première possibilité est la capacité de certains micro-organismes à utiliser des polyphénols comme substrats. Les bactéries lactiques sont capables de dégrader l'acide tannique et d'obtenir de l'énergie. Certains lactobacilles, tels que les souches de *Lactobacillus plantarum*, sont capables de dégrader des esters complexes de l'acide gallique et du glucose, contenant des groupes de galoyllos. Le mécanisme proposé est que l'acide tannique est hydrolysé en acide gallique et en glucose, et l'acide gallique formé est encore décarboxylé au pyrogallol par l'action des enzymes tannase et décarboxylase (**Osawa et al., 2000 ; Vaquero et al., 2004 ; Rodríguez et al., 2008**). D'autres champignons filamenteux du genre *Aspergillus* et les bactéries du genre *Bacillus* ont été largement utilisés pour la production de tannase (**Mondal & Pati 2000 ; Mondal et al., 2001a, b ; Pinto et al., 2001**). Des mécanismes alternatifs impliquant des interactions avec les enzymes cellulaires ont également été signalés. Certaines enzymes et protéines fonctionnelles métaboliques peuvent être impliquées dans l'effet inhibiteur des composés phénoliques par une interaction tannin-protéine. L'inhibition des espèces bactériennes spécifiques peut également s'expliquer par la forte capacité de liaison des tannins au fer, affectant principalement les micro-organismes aérobies (**Chung et al., 1998**).

V.2.3.3. Activité antioxydante

L'activité antioxydante, est un paramètre de qualité souvent déterminé dans les produits et les boissons, est principalement lié à la présence de vitamines et de polyphénols et autres composés bioactifs (**Landete, 2013**).

Dans les trois préparations de cette étude, une diminution progressive des valeurs d'IC₅₀ est observée dès les premiers cinq heures jusqu'au septième jour de stockage à froid. Cette tendance indique une augmentation de l'activité antioxydante pendant les premières heures après fermentation et durant la première semaine de stockage à froid. L'activité antioxydante des boissons montre une tendance croissante claire au fil du temps, atteignant des pics au septième jour avant de rechuter durant les semaines qui suivent et ce parallèlement au comportement des polyphénols, des flavonoïdes et des tannins. Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Devi et al. (2009)**, **Ma et Huang (2014)** et **Sabokbar et Khodaiyan (2016)** qui ont montré de bonnes corrélations entre l'activité antioxydante mesurée par le test de piégeage du radical DPPH et les teneurs en flavonoïdes et en polyphénols totaux en étudiant les phénols totaux, les flavonoïdes et l'activité antioxydante de différents cultivares de soja et une boisson à base de lactosérum et de jus de grenade.

Cela est peut-être dû au fait que les composés phénoliques et les flavonoïdes acceptent facilement les électrons ou les radicaux hydrogène deviennent par conséquent des molécules diamagnétiques stables (**Prakash et al., 2007**).

Le septième jour indique la meilleure activité antioxydante dans les trois formulations. À partir du jour 7, tous les échantillons présentent une augmentation notable des valeurs IC₅₀, avec l'élévation la plus prononcée observée dans la formulation A (sirop de datte de 5%). La boisson C a les meilleures capacités de piégeage des radicaux libres durant la conservation à froid qui s'explique par les teneurs élevées en tannins hydrosolubles. Les tanins sont connus pour leur capacité d'inhiber la peroxydation lipidique in vitro et ont la capacité de rattraper les radicaux libres importants dans les états prooxydants cellulaires. La plupart des activités des tanins, y compris leur capacité de piégeage des radicaux libres, dépendent en grande partie de leur structure et de leur degré de polymérisation (**Okuda, 2005 ; Jerez et al., 2007**). De plus, de nouveaux composés, avec un potentiel modulant la santé, peuvent être également synthétisés par la fermentation des aliments et des boissons. Parmi ces produits l'acide lactique qu'est l'un de ces métabolites synthétisés en quantités atteignant

souvent plus de 1% dans les fermentations de laboratoire. Les lactates modifient également le statut redox en réduisant la charge réactive des espèces d'oxygène dans les entérocytes intestinaux. Il a été démontré que les lactates réduisent la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires de macrophages et de cellules dendritiques dérivées de la moelle osseuse (Iraporda et al., 2015 ; Kahlert et al., 2016).

De plus, certaines protéines sécrétées et exopolysaccharides produites pendant les fermentations des aliments ou boissons pourraient servir d'antioxydants (Li et al., 2014 ; Hong et al., 2015). Fondamentalement, les peptides biologiquement actifs peuvent être produits à partir de protéines de lait de la manière suivante : l'hydrolyse enzymatique par des enzymes digestives, la fermentation du lait avec des cultures de démarrage protéolytique ou la protéolyse par des enzymes dérivées de micro-organismes ou de plantes. Il est considéré que la β -lactoglobuline, la α -lactalbumine, l'albumine sérique bovine, les immunoglobulines et la lactoferrine dans le lactosérum sont les principaux facteurs responsables de l'activité antioxydante (García-Casas et al., 2022). D'autre part, la protéolyse des protéines de lactosérum et du lait de soja, libérant des peptides bioactifs avec un potentiel antioxydant établi (Korhonen & Pihlanto, 2003 ; Gibbs et al., 2004).

L'activité antioxydante des trois formulations a diminuée de manière significative après le septième jour parallèlement à la diminution des teneurs en composés actifs. Des auteurs comme de Morais et al. (2020) et Rodrigues et al. (2020) ont montré que la fonction antioxydante est étroitement liée à la teneur en composés phénoliques, responsables de la fixation des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote. De plus, ils pourraient interagir avec des protéines générant des complexes solubles ou insolubles qui pourraient modifier la capacité antioxydante des composants. L'addition de caroténoïdes et de polyphénols altère la digestibilité des protéines de lactosérum, réduisant la libération de peptides antioxydants et d'acides aminés qui, à leur tour, diminuent l'activité antioxydante de la formulation (Arranz et al., 2023 ; He et al., 2023). D'autres facteurs peuvent influencer l'activité antioxydante comme la durée de stockage à froid. Dinkçi et al. (2023) ont rapporté que la période de stockage a également affecté les teneurs en polyphénols totaux et les capacités antioxydantes des boissons produites à partir de concentrés de protéines du lactosérum du lait de vache et de chèvre et la poudre de kiwi. Les fluctuations observées peuvent résulter de la décomposition de phénols polymères en présence de bactéries lactiques pendant le stockage.

V.2.2.3. Qualité microbiologique des boissons synbiotiques

La qualité microbiologique des boissons formulées a été examinée afin d'évaluer leur stabilité durant une période de conservation de quatre semaines à une température comprise entre 4 et 6 °C. Les analyses ont porté sur le dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux, des coliformes totaux et fécaux, ainsi que des levures et moisissures.

Le dénombrement du nombre total des germes aérobies totaux dans les boissons à base de produits laitiers joue un rôle clé dans l'amélioration de la sécurité et la préservation de la qualité du produit final (**De Paula et al., 2021**). Le dénombrement microbiologique montre l'absence totale des germes aérobies totaux dans toutes les formulations.

Les levures et les moisissures sont des indicateurs de l'hygiène générale pendant le processus de production des boissons fonctionnelles, qu'elles soient fraîches ou stockées, ce qui peut entraîner des problèmes de santé à l'avenir (**Guiraud, 1998 ; Ouattara et al., 2018 ; Mwanzia, 2022**).

Les coliformes fécaux et totaux, les levures et les moisissures n'ont pas été détectés dans les boissons A, B et C, synonyme d'une excellente qualité microbiologique conséquence du respect des bonnes pratiques de fabrication et de conservation. Ces résultats, sont similaires à ceux de trouvés par **Atallah (2015)** et **Thakur et Sharma (2017)** qui ont constaté l'absence des coliformes, des levures et les moisissures, dans des boissons à base de lait et les pulpes de fruits, durant les traitements et le stockage à froid.

L'innocuité microbiologique des boissons formulées peut être corrélée à l'efficacité des traitements thermiques, des bonnes pratiques de production et les bonnes conditions de stockage (**Benchabane et al., 2012 ; Atallah, 2015 ; Graça et al., 2017**). D'autre part, (**Guiraud., 1998 ; Huang et al., 2007 ; Ouattara et al., 2018 ; Jantapaso & Mittraparp-Arthorn, 2022**) ont indiqué que les composés bioactifs, basés sur des composés phénoliques (flavonoïde, phénols), sont responsable de l'activité antimicrobienne sur la viabilité de certains microorganismes. Notons aussi que les boissons formulées ont été préparées à partir de matières premières (lactosérum, lait de soja et sirop de dattes) contenant des composés bioactifs (polyphénols, flavonoides, tannins) ayant potentiellement des activités antibactériennes et antifongiques (**Hati et al., 2007 ; Al-zoreky et al., 2015 ; Yang et al., 2018 ; Mishra et al., 2019 ; Olaimat et al., 2023 ;**).

En plus de l'effet positif des composés bioactifs des boissons sur les germes pathogènes, les levures et les moisissures, *Bacillus subtilis* est un probiotique largement reconnu pour ses propriétés antimicrobiennes puissantes, abondamment attribuées à sa capacité à produire un large éventail de composés bioactifs, y compris des antibiotiques, des lipopeptides et des enzymes. Ces agents antimicrobiens permettent à *Bacillus subtilis* d'inhiber la croissance d'un certain nombre de bactéries pathogènes et de champignons, ce qui en fait un candidat prometteur pour des applications en préservation des aliments, en agriculture et en biotechnologie médicale (Stein, 2005 ; Koumoutsis et al., 2008 ; Ongena & Jacques, 2008).

V.2.2.4. Suivi de la viabilité cellulaire de *Bacillus subtilis*

Ces dernières années, il a été constaté que les chercheurs accordent de plus en plus un intérêt à la formulation de nouvelles boissons probiotiques bénéfiques pour la santé des consommateurs. *Bacillus subtilis* est particulièrement attrayant en tant que probiotique en raison de sa capacité à former des spores stables et résistantes à des circonstances difficiles (température élevée, acidité, dessiccation, UV et rayonnement γ) et qui prête à diverses applications dans le système alimentaire (Nicholson et al., 2000 ; Setlow, 2006). De plus, la stabilité de ses spores a été confirmée lors de leur conservation prolongée, que ce soit à basse température ou à température ambiante, sans perte significative de viabilité (Cano & Borucki, 1995 ; Sorokulova et al., 2008). Ainsi, la sporulation confère à *B. subtilis* un avantage majeur par rapport aux probiotiques non sporulés, en garantissant une meilleure survie durant la transformation, le stockage et le passage à travers l'environnement gastrique, ce qui en fait une souche prometteuse pour diverses applications dans l'industrie alimentaire (Hong et al., 2005 ; Cutting, 2011). Aussi, son mode de respiration est facultative qui permet la flexibilité métabolique dans des conditions aérobies et anaérobies. Dans un environnement aérobie, *B. subtilis* utilise l'oxygène comme accepteur d'électrons. Cependant, dans les conditions privées d'oxygène, il peut utiliser des voies métaboliques anaérobies en exprimant les gènes de nitrate réductase, qui permettent l'utilisation du nitrate au lieu de l'oxygène comme accepteur d'électrons final (Folmsbee et al., 2004 ; Olmos et al., 2011 ; Huang et al., 2013 ; Kordowski et al., 2022).

Bacillus subtilis a longtemps été étudiée par des scientifiques depuis plus de 100 ans (Rudrappa et al., 2007 ; Errington & Wu, 2017 ; Hashem et al., 2019 ; Elenga-Wilson et al., 2021). Elle est généralement considérée comme un probiotique sûr ou (GRAS) Generally

Regarded As Safe. Elle est couramment utilisée dans la production de Natto, un aliment fermenté japonais traditionnel à base de soja (Ohno et al., 1996 ; Olmos et al., 2011 ; Olmos & Paniagua-Michel, 2014).

En outre, *Bacillus subtilis* est connu pour sa tendance de synthétiser des antioxydants et de nombreuses enzymes extracellulaires telles que les cellulases, les protéases et les lipases qui aideraient à décomposer la cellulose pour augmenter la digestibilité des nutriments ainsi que des protéines et lipides en acides aminés et acides gras. Il secrète également des exopolysaccharides qui évoquent des propriétés probiotiques pour prévenir les maladies et l'inflammation par les agents pathogènes entériques (Lesuisse et al., 1993 ; Mawadza et al., 2000 ; Yang et al., 2000 ; Zhu et al., 2008 ; Jones et al., 2014 ;). *Bacillus subtilis* a été évalué pour être potentiellement bénéfique pour les humains et biothérapeutiques (Elshaghabe et al., 2017 ; Permpoonpattana et al. 2017)

C'est pour ces raisons, *Bacillus subtilis* a été choisi comme probiotique dans cette étude. Il est inoculé à raison 1.5% dans les trois boissons probiotiques formulées.

Dans les boissons et les aliments probiotiques, il est important que les micro-organismes restent viables après une période de conservation prolongée (Mok et al., 2020).

Dans cette étude, la survie de la souche *Bacillus subtilis* ATCC 6633, utilisée comme probiotique, a été surveillée après une fermentation de 5 heures, suivie d'un stockage à 4–6 °C pendant quatre semaines. La culture probiotique présente dans la boisson C a préservé une bonne viabilité durant la conservation à froid, malgré une légère diminution observée chaque semaine. Les nombres initiaux de bactéries probiotiques viables des boissons A, B et C passaient de 7.67 à 7.61 log₁₀ UFC/ml, de 7.73 à 7.68 log₁₀ UFC/ml et de 7.78 à 7.75 log₁₀ UFC/ml, respectivement au dernier jour d'entreposage, tout en restant au-dessus du nombre minimum recommandé (6 log₁₀ UFC/ml) pour les probiotiques au moment de la consommation (Bansal et al., 2016). Ces résultats sont supérieurs à ceux trouvés par Chen et al. (2018) qui ont formulé une boisson fermentée à base de produit laitier avec un nombre final de probiotique ne dépassant pas 7,40 log₁₀ CFU/ml.

Cette légère diminution observée après le septième jour pourrait être due à la formation d'endospores par les espèces de *Bacillus*, qui se sont révélées être des formes de vie dormantes métaboliquement et extrêmement résistantes à diverses conditions externes

difficiles telles que le pH bas, l'acidité et la température (Casula & Cutting, 2002 ; Coleman *et al.*, 2007 ; Olajide & LaPoint, 2021).

D'autre part, cette régression du nombre de cellules vivantes de *Bacillus subtilis* pourrait être due à la présence de certaines bactéries lactiques qui ont un effet antagoniste sur de nombreux micro-organismes (Bahnas *et al.*, 2019).

V.2.2.5. Évaluation de la qualité organoleptique

L'évaluation de la qualité sensorielle est une méthode scientifique permettant d'analyser la qualité des boissons et des aliments à travers les cinq sens. Elle a pour but de mesurer l'acceptabilité des produits formulés, guider et suivre leur développement, et assurer le contrôle de la qualité. Grâce à cette approche, les acteurs de l'agroalimentaire peuvent améliorer les caractéristiques organoleptiques de leurs produits selon les préférences des clients. Elle permet également de comparer différentes formulations ou produits concurrents. Ainsi, l'appréciation de la qualité organoleptique est essentielle pour garantir la satisfaction et l'acceptabilité des consommateurs ainsi que la réussite commerciale (Stone *et al.*, 2012).

Les résultats d'évaluation organoleptique des boissons formulées montrent que plus la durée de stockage est longue, les scores de la couleur, du goût, de la consistance, de l'arôme et de l'acceptabilité générale des deux boissons A et B diminuent significativement. Inversement aux scores des boissons A et B, la boisson C a montré une augmentation des scores de ces propriétés organoleptiques. En fait, les panelistes appréciaient davantage le goût, l'arôme et l'acceptabilité générale de la boisson B édulcorée par 10% du sirop de datte. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Raiesi *et al.* (2014) qui ont formulé des boissons probiotiques à base du lait édulcorées par 10% de sirop de datte.

Des différences notables observées entre les analyses organoleptiques des trois boissons formulées. Ces différences remarquables peuvent être attribuées aux changements des paramètres physicochimiques durant la période de stockage à froid ainsi que l'effet potentiel du *Bacillus subtilis*.

Ce qui a été observé dans cette étude, l'abaissement du pH, la densité, les solides solubles totaux et une augmentation de l'acidité titrable. Nilugin et Mahendran (2011) et Sasi Kumar *et al.* (2013) ont indiqué dans leurs études une baisse de qualités sensorielles des boissons formulées durant le stockage et qui sont en relation avec les variations des

caractéristiques physicochimiques. Aussi, **de Castro et al. (2009)** ont indiqué que la postacidification affecte les caractéristiques sensorielles des produits.

Les boissons laitières fermentées renferment dans leur composition des composés responsables de l'aromatisation telle que l'acétaldéhyde. Sa concentration contribue à la qualité sensorielle du produit (**Beshkova et al., 1998**). Ce composé d'arôme est synthétisé à partir du lactose ou de l'acide aminé thréonine. Ces deux composants sont présents dans le lactosérum, et comme indiqué par **Magalhães et al. (2011)**, la production d'acétaldéhyde dans le lactosérum peut être aussi intensive que dans le lait. Pendant le stockage à froid, la teneur en acétaldéhyde diminue et ceci est typique des produits laitiers fermentés et est dû à la forte volatilité de ce composant (**Beshkova et al., 1998 ; Guven et al., 2005**).

On peut conclure qu'il est possible de préparer une boisson à base de lactosérum enrichie avec le lait de soja en utilisant 10-15 % du sirop de datte avec une acceptabilité la plus élevée des panelistes par rapport aux autres traitements.

V.3. Conclusion

Les résultats de cette étude montrent que le lactosérum doux peut être utilisé comme matière première pour produire des boissons fermentées probiotiques contenant des souches couramment utilisées *Bacillus subtilis*. Les boissons à base du lactosérum doux, lait de soja et édulcorées avec le sirop de datte sont un milieu approprié pour la croissance et la survie des souches de bactéries probiotiques examinées. Tout au long des quatre semaines de stockage, le nombre final des cellules viables de *Bacillus subtilis* a légèrement baissé pour atteindre 7.75 log₁₀ UFC/ml. Ce niveau est supérieur au niveau minimal de bactéries probiotiques requis pour le produit fonctionnel fixé par FAO / OMS et qui est de 6 log₁₀ UFC/ml.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Ce travail est une contribution à l'étude d'une problématique environnementale, liée à la gestion des effluents laitiers, en particulier le lactosérum, en examinant deux voies de valorisation, en premier l'utilisation des larves de mouche soldat noir *Hermetia illucens* Black Soldier Fly (BSF) comme une nouvelle approche biologique pour la bioconversion du lactosérum. En deuxième lieu, la formulation d'une boisson probiotique à base de lactosérum, lait de soja et le sirop de dattes.

Les deux études abordent des stratégies innovantes et durables visant à valoriser des sous-produits alimentaires, en particulier le lactosérum, et à promouvoir des solutions écologiques pour contribuer à la lever des défis environnementaux et économiques.

La première étude se concentre sur l'utilisation du lactosérum en tant qu'additif au marc de café pour améliorer, les performances des larves de mouche soldat noir (BSF) en matière de croissance, et ses aptitudes à bioconvertir le substrat. Les résultats trouvés montrent que ce mélange stimule la croissance des larves, améliore la réduction de la matière sèche et optimise la bioconversion des nutriments. En conséquence, les larves produisent une biomasse riche en protéines et en graisses, utile pour l'alimentation animale. De plus, les résidus qui en résultent, à composition très riches, peuvent être utilisés comme bio-engrais dans l'agriculture durable. Cette approche semble être une bonne voie de valorisation du lactosérum et qui est respectueuse de l'environnement sans éventuels effets néfastes pour l'environnement.

La deuxième étude, quant à elle, explore la production d'une boisson probiotique à base de lactosérum combiné au lait de soja, édulcorée par un édulcorant naturel qui est le sirop de dattes et inoculée par une souche probiotique *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Cette boisson présente des propriétés fonctionnelles et nutritives intéressantes, grâce à sa richesse en antioxydants, en polyphénols, en flavonoïdes et en tannins. Elle affiche également une bonne stabilité microbiologique et une viabilité des probiotiques durant la conservation au froid, malgré une légère diminution des composés bioactifs. Ce produit présente ainsi un potentiel pour une production de nouveaux produits et une éventuelle commercialisation locale, bien que des recherches supplémentaires soient nécessaires pour approfondir ses bienfaits sur la santé humaine.

En résumé, ces deux études démontrent comment la valorisation des sous-produits laitiers, en particulier le lactosérum, peut non seulement offrir des solutions écologiques pour le traitement des déchets, mais aussi contribuer à la production de nouveaux produits nutritifs et durables, adaptés à une consommation humaine ou animale. Ces travaux ouvrent des perspectives intéressantes pour l'industrie agroalimentaire et pour l'agriculture, en favorisant une approche circulaire et durable dans la gestion des ressources alimentaires.

En perspective, des expériences complémentaires sont nécessaires pour la mise en place d'une technique biologique, utilisant la mouche soldat noir BSF, pour le traitement des effluents laitiers. D'autre part, avant d'envisager la commercialisation potentielle au marché industriel et l'exploitation complète de ce type de breuvage, il est nécessaire d'aller vers une compréhension approfondie des bienfaits de ces boissons probiotiques sur la santé humaine et de travailler pour améliorer ses qualités nutritionnelles, technologiques et organoleptiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

References bibliographiques

Abernathy, L. M., Fountain, M. D., Rothstein, S. E., David, J. M., Yunker, C. K., Rakowski, J., ...&Hillman, G. G. (2015). Soy isoflavones promote radioprotection of normal lung tissue by inhibition of radiation-induced activation of macrophages and neutrophils. *Journal of Thoracic Oncology*, 10(12), 1703-1712.

Acem, K., Saadi, T., & Benali, N. (2019). Influence of biological removal of lactose on the physical and chemical parameters of crude sweet whey. *Acta ScientificaNaturalis*, 6(2), 123-129. <http://doi.org/10.2478/asn-2019-0023>.

Adetuyi, F. O., & Ibrahim, T. A. (2014). Effect of fermentation time on the phenolic, flavonoid and vitamin C contents and antioxidant activities of okra (*Abelmoschus esculentus*) seeds. *Nigerian Food Journal*, 32(2), 128-137.

AFNOR, (1985). ISO NF U44-160 - Amendements organiques et supports de culture - Détermination de la matière organique totale - Méthode par calcination.

AFNOR, (1993). *Contrôle de la qualité des produits alimentaires : lait et produits laitiers : analyses physicochimiques*. Paris La Défense :AFNOR, 4e éd., 581 p. <https://search.worldcat.org/fr/title/Contrôle-de-la-qualité-des-produits-alimentaires--lait-et-produits-laitiers--analyses-physico-chimiques/oclc/28058677>.

AFNOR, (1994). NF EN 27888 - Qualité de l'eau - Détermination de la conductivité électrique. <https://www.boutique.afnor.org/fr-fr/norme/nf-en-27888/qualite-de-leau-determination-de-la-conductivite-electrique/fa026625/13530>.

AFNOR, (2001). Lait - Détermination de la teneur en matière grasse - Méthode gravimétrique (méthode de référence). NF EN ISO 1211, 21 p. <https://www.boutique.afnor.org/fr-fr/norme/nf-en-iso-1211/lait-determination-de-la-teneur-en-matiere-grasse-methode-gravimetrique-met/fa050223/60175>.

AFNOR, (2005). NF ISO 10390 - Qualité du sol - Détermination du pH. <https://www.boutique.afnor.org/fr-fr/norme/nf-iso-10390/qualite-du-sol-determination-du-ph/fa117123/25226>.

AFNOR., (1994). Qualité du sol - Détermination de la teneur pondérale en matière sèche et en eau, NF X 31-102, p 12. <https://www.boutique.afnor.org/fr-fr/norme/nf-u44160/amendements-organiques-et-supports-de-culture-determination-de-la-matiere-o/fa017116/13722>.

Agustiyan, D., Agandi, R., Arinafril, Nugroho, A. A., & Antonius, S. (2021, May). The effect of application of compost and frass from Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens* L.) on growth of Pakchoi (*Brassica rapa* L.). In *IOP conference series: earth and environmental science* (Vol. 762, No. 1, p. 012036). IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/762/1/012036>.

Ahmed, T., Sabuz, A. A., Mohaldar, A., Fardows, H. S., Inbaraj, B. S., Sharma, M., ...& Sridhar, K. (2023). Development of novel whey-mango based mixed beverage: effect of storage on physicochemical, microbiological, and sensory analysis. *Foods*, 12(2), 237.

Ahn, W. S., Park, S. J., & Lee, S. Y. (2001). Production of poly (3-hydroxybutyrate) from whey by cell recycle fed-batch culture of recombinant *Escherichia coli*. *Biotechnology letters*, 23, 235-240.

Ahsan, S., Zahoor, T., Hussain, M., Khalid, N., Khaliq, A., & Umar, M. (2015). Preparation and quality characterization of soy milk based non-dairy ice cream. *International Journal of Food and Allied Sciences*, 1(1), 25-31.

Akhoundi, A., & Nazif, S. (2020). Life-cycle assessment of tertiary treatment technologies to treat secondary municipal wastewater for reuse in agricultural irrigation, artificial recharge of groundwater, and industrial usages. *Journal of Environmental Engineering*, 146(6), 04020031.

Akhoundi, A., & Nazif, S. (2020). Life-cycle assessment of tertiary treatment technologies to treat secondary municipal wastewater for reuse in agricultural irrigation, artificial recharge of groundwater, and industrial usages. *Journal of Environmental Engineering*, 146(6), 04020031. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0001690](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0001690)

AlJahani, A., & Cheikhousman, R. (2017). Nutritional and sensory evaluation of pumpkin-based (*Cucurbita maxima*) functional juice. *Nutrition & Food Science*, 47(3), 346-356.

Almeida, G., Magalhães, R., Carneiro, L., Santos, I., Silva, J., Ferreira, V., ... & Teixeira, P. (2013). Foci of contamination of *Listeria monocytogenes* in different cheese processing plants. *International Journal of Food Microbiology*, 167(3), 303-309.

Al-zoreky, N. S., & Al-Taher, A. Y. (2015). Antibacterial activity of spathe from *Phoenix dactylifera* L. against some food-borne pathogens. *Industrial crops and products*, 65, 241-246.

Amina, D. B., Ismail, M., & Abdelkader, D. B. (2018). Whey powder in the preparation of special bread. *Academic Perspective Procedia*, 1(1), 148-157.

Anand, S., Som Nath, K., & Chenchiah, M. (2013). Whey and whey products. *Milk and dairy products in human nutrition: Production, composition and health*, 477-497.

Anderson, J. W., Blake, J. E., Turner, J., & Smith, B. M. (1998). Effects of soy protein on renal function and proteinuria in patients with type 2 diabetes. *The American journal of clinical nutrition*, 68(6), 1347S-1353S.

Andrés-Bello, A., Barreto-Palacios, V. I. V. I. A. N., García-Segovia, P., Mir-Bel, J., & Martínez-Monzó, J. (2013). Effect of pH on color and texture of food products. *Food Engineering Reviews*, 5, 158-170. <https://doi.org/10.1007/s12393-013-9067-2>.

Anne P., (1945). Sur le dosage rapide du carbone organique dans les sols. *Ann.Agron* , Avril, Mai ,1945,5ème année, n°2,pp.161-172.

Anson, N. M., Selinheimo, E., Havenaar, R., Aura, A. M., Mattila, I., Lehtinen, P., ... & Haenen, G. R. (2009). Bioprocessing of wheat bran improves in vitro bioaccessibility and colonic metabolism of phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(14), 6148-6155.

Antunes, A. E., Cazetto, T. F., & Bolini, H. M. (2005). Viability of probiotic micro-organisms during storage, postacidification and sensory analysis of fat-free yogurts with added whey protein concentrate. *International Journal of Dairy Technology*, 58(3), 169-173. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2005.00203.x>.

Arabzadeh, G., Delisle-Houde, M., Tweddell, R. J., Deschamps, M. H., Dorais, M., Lebeuf, Y., ...& Vandenberg, G. (2022). Diet composition influences growth performance, bioconversion of black soldier fly larvae: agronomic value and in vitro biofungicidal activity of derived frass. *Agronomy*, 12(8), 1765. <https://doi.org/10.3390/agronomy12081765>.

Arranz, E., Corrochano, A. R., Shanahan, C., Villalva, M., Jaime, L., Santoyo, S., ...& Giblin, L. (2019). Antioxidant activity and characterization of whey protein-based beverages: Effect of shelf life and gastrointestinal transit on bioactivity. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 57, 102209.

Arslan, S. (2015). A review: chemical, microbiological and nutritional characteristics of kefir. *CyTA-Journal of Food*, 13(3), 340-345.

Atallah, A. A. (2015). Development of new functional beverages from milk permeate using some probiotic bacteria and fruits pulp. *Egyptian Journal of Dairy Science*, 43(1), 25-39.

Bahnas, W. M., Abbas, K. A., Metry, W. A., & H Elewa, N. A. (2019). A Novel Bio-Fermented Beverages from Dairy By-Products Based with Papaya Pulp and Stevia Leaves. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 10(12), 467-472.

Ballesteros, L. F., Teixeira, J. A., & Mussatto, S. I. (2014). Chemical, functional, and structural properties of spent coffee grounds and coffee silverskin. *Food and bioprocess technology*, 7, 3493-3503. <https://doi.org/10.3390/ani14040609>.

Bandyopadhyay, B., & Mandal, N. C. (2014). Probiotics, prebiotics and synbiotics-in health improvement by modulating gut microbiota: the concept revisited. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(3), 410-420.

- Banks, I. J., Gibson, W. T., & Cameron, M. M. (2014). Growth rates of black soldier fly larvae fed on fresh human faeces and their implication for improving sanitation. *Tropical Medicine & International Health*, 19(1), 14-22. <http://doi.org/10.1111/tmi.12228>.
- Bansal, S., Mangal, M., Sharma, S. K., & Gupta, R. K. (2016). Non-dairy based probiotics: A healthy treat for intestine. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56(11), 1856-1867.
- Barba, F. J. (2021). An integrated approach for the valorization of cheese whey. *Foods*, 10(3), 564. <http://doi.org/10.3390/foods10030564>.
- Barbehenn, R. V., & Constabel, C. P. (2011). Tannins in plant–herbivore interactions. *Phytochemistry*, 72(13), 1551-1565.
- Barragan-Fonseca, K. B. (2018). *Flies are what they eat: Tailoring nutrition of Black Soldier Fly (Hermetia illucens L.) for larval biomass production and fitness* [Doctoral dissertation, Wageningen University and Research], the Netherlands. <https://doi.org/10.18174/449739>.
- Barragan-Fonseca, K. B., Dicke, M., & van Loon, J. J. (2017). Nutritional value of the black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) and its suitability as animal feed—a review. *Journal of Insects as Food and Feed*, 3(2), 105-120. <http://doi.org/10.3920/JIFF2016.0055>.
- Barreveld, W. H. (1993). *Date palm products*. Numéro Agricole 101 de bulletin de services de la FAO.
- Barry T, Evaluation of the economic, social, and biological feasibility of bioconverting food wastes with the black soldier fly (*Hermetia illucens*). PhD Dissertation, University of Texas, 176 pp. (2004). https://digital.library.unt.edu/ark:/67531/metadc4639/m2/1/high_res_d/dissertation.pdf.
- Baschali, A., Tsakalidou, E., Kyriacou, A., Karavasiloglou, N., & Matalas, A. L. (2017). Traditional low-alcoholic and non-alcoholic fermented beverages consumed in European countries: a neglected food group. *Nutrition Research Review*, 30(1), 1–24. [S0954579416000202](https://doi.org/10.1017/S0954579416000202).
- Becerra-Castro, C., Lopes, A. R., Vaz-Moreira, I., Silva, E. F., Manaia, C. M., & Nunes, O. C. (2015). Wastewater reuse in irrigation: A microbiological perspective on implications in soil fertility and human and environmental health. *Environment international*, 75, 117-135.
- Becerra-Castro, C., Lopes, A. R., Vaz-Moreira, I., Silva, E. F., Manaia, C. M., & Nunes, O. C. (2015). Wastewater reuse in irrigation: A microbiological perspective on implications in soil fertility and human and environmental health. *Environment International*, 75, 117-135. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.11.001>
- Beesigamukama, D., Mochoge, B., Korir, N., Musyoka, M. W., Fiaboe, K. K., Nakimbugwe, D., ...& Tanga, C. M. (2020). Nitrogen fertilizer equivalence of black soldier fly frass

fertilizer and synchrony of nitrogen mineralization for maize production. *Agronomy*, 10(9), 1395. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091395>.

Beltrán, E. M., Miralles de Imperial, R., Porcel, M. A., Delgado, M. M., Beringola, M. L., Martín, J. V., & Biegeriego, M. (2002, May). Effect of sewage sludge compost application on ammonium-nitrogen and nitrate-nitrogen contents of an olive grove soil. In *12th ISCO Conference, Beijing*.
<https://topsoil.nserl.purdue.edu/isco/isco12/VolumeIII/EffectofSewageSludgeCompost.pdf>.

Beshkova, D., Simova, E., Frengova, G., & Simov, Z. (1998). Production of flavour compounds by yogurt starter cultures. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 20(3-4), 180-186. 20:180–186. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.2900504>.

Bhanja, T., Kumari, A., & Banerjee, R. (2009). Enrichment of phenolics and free radical scavenging property of wheat koji prepared with two filamentous fungi. *Bioresource Technology*, 100(11), 2861-2866.

Bintsis, T., & Papademas, P. (2023). Sustainable approaches in whey cheese production: A review. *Dairy*, 4(2), 249-270.

Boaru, A., Vig, A., Ladoși, D., Struți, D., Păpuc, T., & Georgescu, B. (2018). Studies regarding the fertilizing capacity of poultry manure biocomposted by fly larvae (Diptera: Stratiomyidae). *Advances in Agriculture & Botany*, 10(3), 114-121.
<http://www.aab.bioflux.com.ro/docs/2018.114-121.pdf>.

Bondari K, Sheppard DC (1981) Soldier fly larvae as feed in commercial fish production. *Aquaculture* 24:103–109. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(81\)90047-8](https://doi.org/10.1016/0044-8486(81)90047-8).

Bosco, F., Riccardo, C., & Marmo, L. (2018). An integrated cheese whey valorization process. *Chemical Engineering Transactions*, 64, 379-384.
<https://doi.org/10.3303/CET1864064>.

Boudjema, K., Fazouane-Naimi, F., Hellal, A., & Mechakra, A. (2009). Optimisation et modèle de production d'acide lactique par *Streptococcus thermophilus* sur lactosérum. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 80-90. <https://revue.umc.edu.dz/c/article/view/360>.

Bouras, A. D., Meziane, M., Bouras, A. D., & MEGATLI, S. (2021). Fortifying wheat bread with whey proteins: impact on nutritional value and technological properties. *South Asian Journal of Experimental Biology*, 11(6), 700-709.

Božanić, R., Barukčić, I., & Lisak, K. (2014). Possibilities of whey utilisation. *Austin Journal of Nutrition and Food Sciences*, 2(7), 7. <https://austinpublishinggroup.com/nutrition-food-sciences/fulltext/ajnfs-v2-id1036.pdf>.

- Brandelli, A., Daroit, D. J., & Corrêa, A. P. F. (2015). Whey as a source of peptides with remarkable biological activities. *Food Research International*, 73, 149-161.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*, 56(11), 317-333.
- Britz, T. J., van Schalkwyk, C., & Hung, Y. T. (2004). Treatment of dairy processing wastewaters. In *Handbook of industrial and hazardous wastes treatment* (pp. 673-705). CRC Press.
- Burak, M & Imen, Y (1999) Flavonoids and their antioxidant properties. *Turkiye Klin Tip Bil Derg* 19, 296–304.
- Cano, R. J., & Borucki, M. K. (1995). Revival and identification of bacterial spores in 25-to 40-million-year-old Dominican amber. *Science*, 268(5213), 1060-1064.
- Cardona, F., Andrés-Lacueva, C., Tulipani, S., Tinahones, F. J., & Queipo-Ortuño, M. I. (2013). Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. *The Journal of nutritional biochemistry*, 24(8), 1415-1422.
- Casula, G., & Cutting, S. M. (2002). *Bacillus* probiotics: spore germination in the gastrointestinal tract. *Applied and environmental microbiology*, 68(5), 2344-2352.
- Cederroth, C. R., & Nef, S. (2009). Soy, phytoestrogens and metabolism: A review. *Molecular and cellular endocrinology*, 304(1-2), 30-42.
- Cencic, A., & Chingwaru, W. (2010). The role of functional foods, nutraceuticals, and food supplements in intestinal health. *Nutrients*, 2(6), 611-625.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3).
- Cheng, J. Y., Chiu, S. L., & Lo, I. M. (2017). Effects of moisture content of food waste on residue separation, larval growth and larval survival in black soldier fly bioconversion. *Waste management*, 67, 315-323. <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2017.05.046>
- Christou, A., Agüera, A., Bayona, J. M., Cytryn, E., Fotopoulos, V., Lambropoulou, D., Schröder, P. (2017). The potential implications of reclaimed wastewater reuse for irrigation on the agricultural environment: the knowns and unknowns of the fate of antibiotics and antibiotic resistant bacteria and resistance genes—a review. *Water Research*, 123, 448-467. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.07.004>

Chung, K. T., Lu, Z., & Chou, M. W. (1998). Mechanism of inhibition of tannic acid and related compounds on the growth of intestinal bacteria. *Food and Chemical Toxicology*, 36(12), 1053-1060.

Čičková, H., Newton, G. L., Lacy, R. C., & Kozánek, M. (2015). The use of fly larvae for organic waste treatment. *Waste management*, 35, 68-80. <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2014.09.026>.

Coleman, W. H., Chen, D., Li, Y. Q., Cowan, A. E., & Setlow, P. (2007). How moist heat kills spores of *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*, 189(23), 8458-8466.

Cruz, R., Cardoso, M. M., Fernandes, L., Oliveira, M., Mendes, E., Baptista, P., ...& Casal, S. (2012). Espresso coffee residues: a valuable source of unextracted compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(32), 7777-7784. <https://doi.org/10.1021/jf3018854>.

Cutting, S. M. (2011). *Bacillus* probiotics. *Food microbiology*, 28(2), 214-220.

Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, 23(2), 174-181.

de Albuquerque, J. N., Paulinetti, A. P., Lovato, G., Albanez, R., Ratusznei, S. M., & Rodrigues, J. A. D. (2020). Anaerobic sequencing batch reactors co-digesting whey and glycerin as a possible solution for small and mid-size dairy industries: Environmental compliance and methane production. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 192, 979-998. <https://doi.org/10.1007/s12010-020-03372-0>.

de Castro, F. P., Cunha, T. M., Ogliari, P. J., Teofilo, R. F., Ferreira, M. M., & Prudêncio, E. S. (2009). Influence of different content of cheese whey and oligofructose on the properties of fermented lactic beverages: Study using response surface methodology. *LWT-Food Science and Technology*, 42(5), 993-997.

de Hoyos-Martínez, P. L., Merle, J., Labidi, J., & Charrier-El Bouhtoury, F. (2019). Tannins extraction: A key point for their valorization and cleaner production. *Journal of Cleaner Production*, 206, 1138-1155.

de Moraes, F. P., Pessato, T. B., Rodrigues, E., Mallmann, L. P., Mariutti, L. R., & Netto, F. M. (2020). Whey protein and phenolic compound complexation: Effects on antioxidant capacity before and after in vitro digestion. *Food Research International*, 133, 109104.

De Paula, A. C. L., Medeiros, J. D., Fernandes, G. D. R., Da Silva, V. L., & Diniz, C. G. (2021). Microbiome of industrialized Minas Frescal Cheese reveals high prevalence of putative bacteria: A concern in the One Health context. *LWT*, 139, 110791.

De Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., et al. (2009). *Bergey's manual of systematic bacteriology*. New Delhi: Springer-Verlag (1450 PP.).

De Vrese, M., & Schrezenmeir, A. J. (2008). Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Food biotechnology*, 1-66.

De Wit, J. N. (1998). Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products. *Journal of dairy science*, 81(3), 597-608.

Deeth, H. C., & Bansal, N. (Eds.). (2018). *Whey proteins: From milk to medicine*. Academic Press.

Dehliz, A., Fethallah, R., Benyahia, I., Hammi, H., Bachir, H., & Lakhdari, W. (2023). Exploring the capability of *Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Stratiomyidae) to recycle organic waste Algeria. *Revue des Bio Ressources*, 13(2), 66-80. <https://journals.univ-ouargla.dz/index.php/RBR/article/view/2155>.

Delmi, A. B., Ismail, M., & Abdelkader, D. B. (2018). Whey powder in the preparation of special bread. *Academic Perspective Procedia*, 1(1), 148-157.

Delmi B.Amina, D. B., & Ismail, M. (2018). Whey powder in the preparation of pastry creams. *Academic Perspective Procedia*, 1(1), 158-167.

Demirel, B., & Yenigun, O. (2004). Anaerobic acidogenesis of dairy wastewater: the effects of variations in hydraulic retention time with no pH control. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 79(7), 755-760.

Devi, M. A., Gondi, M., Sakthivelu, G., Giridhar, P., Rajasekaran, T., & Ravishankar, G. A. (2009). Functional attributes of soybean seeds and products, with reference to isoflavone content and antioxidant activity. *Food chemistry*, 114(3), 771-776.

Dey, T. B., Chakraborty, S., Jain, K. K., Sharma, A., & Kuhad, R. C. (2016). Antioxidant phenolics and their microbial production by submerged and solid state fermentation process: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 53, 60-74.

Diener, S., Studt Solano, N. M., Roa Gutiérrez, F., Zurbrügg, C., & Tockner, K. (2011b). Biological treatment of municipal organic waste using black soldier fly larvae. *Waste and Biomass Valorization*, 2, 357-363. <https://doi.org/10.1007/s12649-011-9079-1>.

Diener, S., Zurbrügg, C., & Tockner, K. (2009). Conversion of organic material by black soldier fly larvae: establishing optimal feeding rates. *Waste Management & Research*, 27(6), 603-610. <https://doi.org/10.1177/0734242X09103838>.

Diener, S., Zurbrügg, C., Gutiérrez, F. R., Nguyen, D. H., Morel, A., Koottatep, T., & Tockner, K. (2011a). Black soldier fly larvae for organic waste treatment-prospects and constraints. *Proceedings of the WasteSafe*, 2, 13-15. <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=2083393>.

Dinkçi, N., Akdeniz, V., & Akalın, A. S. (2023). Probiotic whey-based beverages from cow, sheep and goat milk: Antioxidant activity, culture viability, amino acid contents. *Foods*, 12(3), 610.

Djemil, W., Hannouche, M., & Belksier, M. S. (2018, May). Reuse of treated wastewater in agriculture: physicochemical quality and environmental risks. Case of wastewater treatment plant of Baraki and Beni Messous. Algeria. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 1968, No. 1, p. 020011). AIP Publishing LLC.

Djurić, M., Carić, M., Milanović, S., Tekić, M., & Panić, M. (2004). Development of whey-based beverages. *European Food Research and Technology*, 219, 321-328.

Domingos, J. M., Martinez, G. A., Scoma, A., Fraraccio, S., Kerckhof, F. M., Boon, N., ... & Bertin, L. (2017). Effect of operational parameters in the continuous anaerobic fermentation of cheese whey on titers, yields, productivities, and microbial community structures. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5(2), 1400-1407. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b01901>.

Domingos, J. M., Puccio, S., Martinez, G. A., Amaral, N., Reis, M. A., Bandini, S., ... & Bertin, L. (2018). Cheese whey integrated valorisation: Production, concentration and exploitation of carboxylic acids for the production of polyhydroxyalkanoates by a fed-batch culture. *Chemical Engineering Journal*, 336, 47-53. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.11.024>.

Dortmans B.M.A., Egger J., S., & Zurbrugg C. (2021). *Black Soldier Fly Biowaste Processing: A Step-by-Step Guide*, (2nd Ed). Eawag-Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology. <https://www.maktaba.org/book/783/black-soldier-fly-biowaste-processing-a-step-by-step-guide>.

Drgalic, I., Tratnik, L., & Bozanic, R. (2005). Growth and survival of probiotic bacteria in reconstituted whey. *Le Lait*, 85(3), 171-179. <https://doi.org/10.1051/lait:2005009>.

Duda-Chodak, A., Tarko, T., Satora, P., & Sroka, P. (2015). Interaction of dietary compounds, especially polyphenols, with the intestinal microbiota: a review. *European journal of nutrition*, 54, 325-341.

Elenga-Wilson, P. S., Kayath, C. A., Mokemiabeka, N. S., Nzaou, S. A. E., Nguimbi, E., & Ahombo, G. (2021). Profiling of indigenous biosurfactant-producing bacillus isolates in the bioremediation of soil contaminated by petroleum products and olive oil. *International Journal of Microbiology*, 2021(1), 9565930.

Elkot, W. F., Elmahdy, A., Talaat, H., Alghamdia, O. A., Alhag, S. K., Al-Shahari, E. A., ... & Ismail, H. A. (2024). Development and characterization of a novel flavored functional fermented whey-based sports beverage fortified with *Spirulina platensis*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 258, 128999.

Elshaghabee, F. M., Rokana, N., Gulhane, R. D., Sharma, C., & Panwar, H. (2017). *Bacillus* as potential probiotics: status, concerns, and future perspectives. *Frontiers in microbiology*, 8, 1490.

Erpel, F., Mateos, R., Pérez-Jiménez, J., & Pérez-Correa, J. R. (2020). Phlorotannins: From isolation and structural characterization, to the evaluation of their antidiabetic and anticancer potential. *Food Research International*, 137, 109589.

Errington, J., & Wu, L. J. (2017). Cell cycle machinery in *Bacillus subtilis*. *Prokaryotic cytoskeletons: filamentous protein polymers active in the cytoplasm of bacterial and archaeal cells*, 67-101.

Etxeberria, U., Fernández-Quintela, A., Milagro, F. I., Aguirre, L., Martínez, J. A., & Portillo, M. P. (2013). Impact of polyphenols and polyphenol-rich dietary sources on gut microbiota composition. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(40), 9517-9533.

Ewald, N., Vidakovic, A., Langeland, M., Kiessling, A., Sampels, S., Lalander, C., 2020. Fatty acid composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) – Possibilities and limitations for modification through diet. *Waste Manage.* 102, 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.10.014>.

Ferdousi, R., Rouhi, M., Mohammadi, R., Mortazavian, A. M., Khosravi-Darani, K., & Rad, A. H. (2013). Evaluation of probiotic survivability in yogurt exposed to cold chain interruption. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 12(Suppl), 139.

Finley, J. W. (1996). Designer Foods: Is There a Role for Supplementation/Fortification? In *Dietary phytochemicals in cancer prevention and treatment* (pp. 213-220). Boston, MA: Springer US.

Fischer, H., Romano, N., & Sinha, A. K. (2021). Conversion of spent coffee and donuts by black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae into potential resources for animal and plant farming. *Insects*, 12(4), 332. <https://doi.org/10.3390/insects12040332>.

Folmsbee, M. J., McInerney, M. J., & Nagle, D. P. (2004). Anaerobic growth of *Bacillus mojavensis* and *Bacillus subtilis* requires deoxyribonucleosides or DNA. *Applied and environmental microbiology*, 70(9), 5252-5257.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), (2007). Report on Functional Foods, Food Quality and Standards Service (AGNS). Available online: http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/Functional_Foods_Report_Nov2007.pdf

Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. (2017). *Fundamentals of cheese science* (Vol. 1, p. 271). Boston, MA, USA:: Springer.

- Fraga, F. A., García, H. A., Hooijmans, C. M., Míguez, D., & Brdjanovic, D. (2017). Evaluation of a membrane bioreactor on dairy wastewater treatment and reuse in Uruguay. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 119, 552-564. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.11.025>
- Freedman, D. J., Tacket, C. O., Delehanty, A., Maneval, D. R., Nataro, J., & Crabb, J. H. (1998). Milk immunoglobulin with specific activity against purified colonization factor antigens can protect against oral challenge with enterotoxigenic *Escherichia coli*. *The Journal of infectious diseases*, 177(3), 662-667.
- Gao, Z., Wang, W., Lu, X., Zhu, F., Liu, W., Wang, X., & Lei, C. (2019). Bioconversion performance and life table of black soldier fly (*Hermetia illucens*) on fermented maize straw. *Journal of Cleaner Production*, 230, 974-980. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.05.074>.
- García-Burgos, M., Moreno-Fernández, J., Alférez, M. J., Díaz-Castro, J., & López-Aliaga, I. (2020). New perspectives in fermented dairy products and their health relevance. *Journal of Functional Foods*, 72, 104059.
- García-Casas, V. E., Seiquer, I., Pardo, Z., Haro, A., Recio, I., & Olías, R. (2022). Antioxidant potential of the sweet whey-based beverage colada after the digestive process and relationships with the lipid and protein fractions. *Antioxidants*, 11(9), 1827.
- Gärttling, D., & Schulz, H. (2022). Compilation of black soldier fly frass analyses. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 1-7. <https://doi.org/10.1007/s42729-021-00703-w>.
- Gebiola, M., Garnica, A., Pagliaccia, D., Tomberlin, J. K., & Mauck, K. E. (2023). Impact of bokashi fermentation on life-history traits of black soldier fly *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larvae at an industrial scale. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1-6. <https://doi.org/10.3920/JIFF2022.0173>.
- Gheraout, D., & Ibn-Elkhattab, R. O. (2020). On the treatment trains for municipal wastewater reuse for irrigation. *Open Access Library Journal*, 7(02), 1.
- Gheraout, D., & Ibn-Elkhattab, R. O. (2020). On the treatment trains for municipal wastewater reuse for irrigation. *Open Access Library Journal*, 7(02), 1. doi: 10.4236/oalib.1106088.
- Giannetto, A., Oliva, S., Lanes, C. F. C., de Araújo Pedron, F., Savastano, D., Baviera, C., ... & Fasulo, S. (2020). *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larvae and prepupae: Biomass production, fatty acid profile and expression of key genes involved in lipid metabolism. *Journal of Biotechnology*, 307, 44-54. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.10.015>.

Gibbs, B. F., Zougman, A., Masse, R., & Mulligan, C. (2004). Production and characterization of bioactive peptides from soy hydrolysate and soy-fermented food. *Food research international*, 37(2), 123-131.

Gibson, G. R., & Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of nutrition*, 125(6), 1401-1412.

Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., ... & Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 14(8), 491-502.

Gibson, G. R., Probert, H. M., Van Loo, J., Rastall, R. A., & Roberfroid, M. B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition research reviews*, 17(2), 259-275.

Gibson, G. R., Scott, K. P., Rastall, R. A., Tuohy, K. M., Hotchkiss, A., Dubert-Ferrandon, A., ... & Buddington, R. (2010). Dietary prebiotics: current status and new definition. *Food Sci. Technol. Bull. Funct. Foods*, 7(1), 1-19.

Gligorescu, A., Fischer, C. H., Larsen, P. F., Nørgaard, J. V., & Heckman, L. H. L. (2020). Production and optimization of *Hermetia illucens* (L.) larvae reared on food waste and utilized as feed ingredient. *Sustainability*, 12(23), 9864. <https://doi.org/10.3390/su12239864>.

Gligorescu, A., Toft, S., Hauggaard-Nielsen, H., Axelsen, J. A., & Nielsen, S. A. (2018). Development, metabolism and nutrient composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*; Diptera: Stratiomyidae) in relation to temperature and diet. *Journal of Insects as Food and Feed*, 4(2), 123-133. <https://doi.org/10.3920/JIFF2017.0080>.

Gobbi, P., Martinez-Sanchez, A., & Rojo, S. (2013). The effects of larval diet on adult life-history traits of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *European Journal of Entomology*, 110(3), 461. <https://doi.org/10.14411/eje.2013.061>.

Gogineni, V. K., Morrow, L. E., Gregory, P. J., & Malesker, M. A. (2013). Probiotics: history and evolution. *J Anc Dis Prev Rem*, 1(2), 1-7.

Gold, M., Cassar, C. M., Zurbrugg, C., Kreuzer, M., Boulos, S., Diener, S., & Mathys, A. (2020). Biowaste treatment with black soldier fly larvae: Increasing performance through the formulation of biowastes based on protein and carbohydrates. *Waste Management*, 102, 319-329. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.10.036>.

Gold, M., Tomberlin, J. K., Diener, S., Zurbrugg, C., & Mathys, A. (2018). Decomposition of biowaste macronutrients, microbes, and chemicals in black soldier fly larval treatment: A review. *Waste Management*, 82, 302-318. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.10.022>.

Gorsuch, J. P., Jones, Z., Le Saint, D., & Kitts, C. L. (2019). Enumeration of industrial *Bacillus* assemblages in commercial products with customized plate-counting assays. *Journal of microbiological methods*, 164, 105682.

Graça, A., Esteves, E., Nunes, C., Abadias, M., & Quintas, C. (2017). Microbiological quality and safety of minimally processed fruits in the marketplace of southern Portugal. *Food control*, 73, 775-783. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.09.046>.

Granato, D., Barba, F. J., Bursać Kovačević, D., Lorenzo, J. M., Cruz, A. G., & Putnik, P. (2020). Functional foods: Product development, technological trends, efficacy testing, and safety. *Annual review of food science and technology*, 11(1), 93-118. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032519-051708>.

Granato, D., Branco, G. F., Cruz, A. G., Faria, J. A. F., & Shah, N. P. (2010). Probiotic dairy foods as functional foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(5), 455-470. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00120.x>.

Granato, D., Branco, G. F., Nazzaro, F., Cruz, A. G., & Faria, J. A. (2010). Functional foods and nondairy probiotic food development: trends, concepts, and products. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 9(3), 292-302.

Granato, D., Nunes, D. S., & Barba, F. J. (2017). An integrated strategy between food chemistry, biology, nutrition, pharmacology, and statistics in the development of functional foods: A proposal. *Trends in Food Science & Technology*, 62, 13-22. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.12.010>.

Green TR, Popa R (2012). Enhanced ammonia content in compost leachate processed by black soldier fly larvae. *Appl Biochem Biotechnol* 166:1381–1387. <https://doi.org/10.1007/s12010-011-9530-6>.

Guiné, R., Lima, M. J., & Barroca, M. J. (2009). Role and health benefits of different functional food components. *Millenium*, (37), 2.

Guiraud, J. P. (1998). Microbiologie alimentaire, microbiologie des principaux produits laitiers. *Edition DUNOD, Paris*, 65.

Guo, M., & Wang, G. (2019). History of whey production and whey protein manufacturing. *Whey protein production, chemistry, functionality, and applications*, 1-12.

Gürakan, C., Cebeci, A., & Özer, B. H. (2010). Probiotic beverages: Microbiology and technology. In F. Yıldız (Ed.). *Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products* (pp. 159–189). Boca Raton: CRC Press.

Güven, M., Yasar, K., Karaca, O. B., & Hayaloglu, A. A. (2005). The effect of inulin as a fat replacer on the quality of set-type low-fat yogurt manufacture. *International journal of dairy Technology*, 58(3), 180-184. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2005.00210.x>.

Hadj Saadoun, J., Montevecchi, G., Zanasi, L., Bortolini, S., Macavei, L. I., Masino, F., ... & Antonelli, A. (2020). Lipid profile and growth of black soldier flies (*Hermetia illucens*, Stratiomyidae) reared on by-products from different food chains. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(9), 3648-3657. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10397>.

Hamad, S. H. (2012). Factors affecting the growth of microorganisms in food. *Progress in food preservation*, 405-427.

Hariri, A., Ouis, N., Bouhadi, D., & Yerou, K. O. (2017). Evaluation of the quality of the date syrups enriched by cheese whey during the period of storage. *Banat's Journal of Biotechnology*, 8(16), 75-82.

Hashem, A., Tabassum, B., & Abd_Allah, E. F. (2019). *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. *Saudi journal of biological sciences*, 26(6), 1291-1297.

Hati, S., Patel, N., & Mandal, S. (2018). Comparative growth behaviour and biofunctionality of lactic acid bacteria during fermentation of soy milk and bovine milk. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 10, 277-283.

HDuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>.

He, X., Luan, F., Yang, Y., Wang, Z., Zhao, Z., Fang, J., ...& Li, Y. (2020). *Passiflora edulis*: an insight into current researches on phytochemistry and pharmacology. *Frontiers in pharmacology*, 11, 617.

Henry M, Gasco L, Piccolo G, Fountoulaki E (2015) Review on the use of insects in the diet of farmed fish: past and future. *Anim Feed Sci Technol* 203:1–22. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.03.001>.

Hervet-Hernández, D., & Goñi, I. (2011). Dietary polyphenols and human gut microbiota: a review. *Food reviews international*, 27(2), 154-169.

Holzappel, W. H., & Schillinger, U. (2002). Introduction to pre-and probiotics. *Food research international*, 35(2-3), 109-116.

Hong, H. A., Duc, L. H., & Cutting, S. M. (2005). The use of bacterial spore formers as probiotics. *FEMS microbiology reviews*, 29(4), 813-835.

Hong, Y. F., young Lee, H., Jung, B. J., Jang, S., Chung, D. K., & Kim, H. (2015). Lipoteichoic acid isolated from *Lactobacillus plantarum* down-regulates UV-induced MMP-1 expression and up-regulates type I procollagen through the inhibition of reactive oxygen

species generation. *Molecular Immunology*, 67(2), 248-255.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15112600>.

Huang, Q., Liu, X., Zhao, G., Hu, T., & Wang, Y. (2018). Potential and challenges of tannins as an alternative to in-feed antibiotics for farm animal production. *Animal nutrition*, 4(2), 137-150.

Huang, Q., Xu, X., Mao, Y. L., Huang, Y., Rajput, I. R., & Li, W. F. (2013). Effects of *Bacillus subtilis* B 10 spores on viability and biological functions of murine macrophages. *Animal Science Journal*, 84(3), 247-252.

Huang, W. Y., Cai, Y. Z., Hyde, K. D., Corke, H., & Sun, M. (2007). Endophytic fungi from *Nerium oleander* L (Apocynaceae): main constituents and antioxidant activity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23, 1253-1263. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9357-z>

Igoud, S., Souahi, F., & Chitour, C. E. (2017). Solar wastewater treatment (SOWAT) and reuse for agricultural irrigation. *Irrigation and Drainage*, 66(5), 750-757.

Iraporda, C., Errea, A., Romanin, D. E., Cayet, D., Pereyra, E., Pignataro, O., ...& Rumbo, M. (2015). Lactate and short chain fatty acids produced by microbial fermentation downregulate proinflammatory responses in intestinal epithelial cells and myeloid cells. *Immunobiology*, 220(10), 1161-1169.

IS 1166: 1986 (Reaffirmed year 2018). Specifications for condensed milk, partly skimmed condensed milk (Second Revision). Bureau of Indian Standards, New Delhi. <https://archive.org/details/gov.in.is.1166.1986>.

IS 4333, (2002) (Part II). Methods of Analysis of food grains part II moisture. Determination of Moisture Content. Bureau of Indian Standards, New Delhi. <https://archive.org/details/gov.in.is.4333.2.2002/page/n7/mode/2up>.

Islam, M. Z., Tabassum, S., Harun-ur-Rashid, M., Vegarud, G. E., Alam, M. S., & Islam, M. A. (2021). Development of probiotic beverage using whey and pineapple (*Ananas comosus*) juice: Sensory and physico-chemical properties and probiotic survivability during in-vitro gastrointestinal digestion. *Journal of Agriculture and Food Research*, 4, 100144.

ISO. (2018). ISO 19662: Milk — Determination of fat content —Acido-butyrometric (Gerber method). Internationale Standardization Organization (ISO), Geneva, Switzerland, 15 p.

Jafari, S., Thongmat, K., Kijpatanasilp, I., Kerdsup, P., Naknaen, P., Taweechotipatr, M., & Assatarakul, K. (2022). Phenolic compound profile of probiotic (*Lactobacillus rhamnosus* LR5) fortified vegetable tablet and probiotic survival in the simulated gastrointestinal tract. *Scientific Reports*, 12(1), 1014.

Janssen, R. H., Vincken, J. P., van den Broek, L. A., Fogliano, V., & Lakemond, C. M. (2017). Nitrogen-to-protein conversion factors for three edible insects: *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, and *Hermetia illucens*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(11), 2275-2278. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00471>.

Jantapaso, H., & Mittraparp-Arthorn, P. (2022). Phytochemical composition and bioactivities of aqueous extract of rambutan (*Nephelium lappaceum* L. cv. Rong Rian) peel. *Antioxidants*, 11(5), 956.

Jerez, M., Touriño, S., Sineiro, J., Torres, J. L., & Núñez, M. J. (2007). Procyanidins from pine bark: Relationships between structure, composition and antiradical activity. *Food Chemistry*, 104(2), 518-527.

Jones, S. E., Paynich, M. L., Kearns, D. B., & Knight, K. L. (2014). Protection from intestinal inflammation by bacterial exopolysaccharides. *The journal of immunology*, 192(10), 4813-4820.

Joret, G., & Hébert, J. (1955). Contribution à la détermination du besoin des sols en acide phosphorique. *Ann. Agron*, 2, 233-299.

Jose, J. V. (2023). Physiological and molecular aspects of macronutrient uptake by higher plants. In *Sustainable plant nutrition* (pp.1-21). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18675-2.00010-9>.

Juan, M. Y., Wu, C. H., & Chou, C. C. (2010). Fermentation with *Bacillus* spp. as a bioprocess to enhance anthocyanin content, the angiotensin converting enzyme inhibitory effect, and the reducing activity of black soybeans. *Food microbiology*, 27(7), 918-923.

Kahlert, S., Junnikkala, S., Renner, L., Hynönen, U., Hartig, R., Nossol, C., ...& Kluess, J. (2016). Physiological concentration of exogenous lactate reduces antimycin A triggered oxidative stress in intestinal epithelial cell line IPEC-1 and IPEC-J2 in vitro. *PLoS One*, 11(4), e0153135. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0153135>.

Karovičová, J., Kohajdová, Z., Minarovičová, L., Lauková, M., Greifová, M., Greif, G., & Hojerová, J. (2020). Utilisation of quinoa for development of fermented beverages. *Slovak Journal of Food Sciences*, 14.

Kataria, J., Li, N., Wynn, J. L., & Neu, J. (2009). Probiotic microbes: do they need to be alive to be beneficial?. *Nutrition reviews*, 67(9), 546-550.

Kaur, A. P., Bhardwaj, S., Dhanjal, D. S., Nepovimova, E., Cruz-Martins, N., Kuča, K., ...& Kumar, D. (2021). Plant prebiotics and their role in the amelioration of diseases. *Biomolecules*, 11(3), 440.

- Kebli, H., & Sinaj, S. (2017). Agronomic potential of a natural fertiliser based on fly larvae frass. *Agrar Forschung Schweiz* 8: 88-95.
<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20183121450>.
- Khablenko, A., Danylenko, S., Yalovenko, O., Duhan, O., & Potemskaya, O. (2022). Potential of using *Saccharomyces boulardii* to produce fermented milk products. *Food Science & Technology* (2073-8684), 16(1).
- Kim, C. H., Ryu, J., Lee, J., Ko, K., Lee, J. Y., Park, K. Y., & Chung, H. (2021). Use of black soldier fly larvae for food waste treatment and energy production in Asian countries: a review. *Processes*, 9(1), 161.
- Kirk, S., & Sawyer, R. (1991). *Pearson's composition and analysis of foods* (No. Ed. 9, pp. x+-708).
<https://search.worldcat.org/fr/title/Pearson's-composition-and-analysis-of-foods/oclc/476173425>.
- Klammsteiner, T., Turan, V., Fernández-Delgado Juárez, M., Oberegger, S., & Insam, H. (2020). Suitability of black soldier fly frass as soil amendment and implication for organic waste hygienization. *Agronomy*, 10(10), 1578. <https://doi.org/10.3390/agronomy10101578>.
- Konstantinov, S. R., Kuipers, E. J., & Peppelenbosch, M. P. (2013). Functional genomic analyses of the gut microbiota for CRC screening. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 10(12), 741-745.
- Kordowski, A., Tetzlaff-Lelleck, V. V., Speckmann, B., Loh, G., Künstner, A., Schulz, F., ...& Dieck, H. (2022). A nutritional supplement based on a synbiotic combination of *Bacillus subtilis* DSM 32315 and L-alanyl-L-glutamine improves glucose metabolism in healthy prediabetic subjects—A real-life post-marketing study. *Frontiers in nutrition*, 9, 1001419.
- Korhonen, H., & Pihlanto, A. (2006). Bioactive peptides: production and functionality. *International dairy journal*, 16(9), 945-960.
- Koumoutsis, A., Chen, X. H., Henne, A., Liesegang, H., Hitzeroth, G., Franke, P., ...& Borriss, R. (2004). Structural and functional characterization of gene clusters directing nonribosomal synthesis of bioactive cyclic lipopeptides in *Bacillus amyloliquefaciens* strain FZB42.
- Krunić, T. Ž., & Rakin, M. B. (2022). Enriching alginate matrix used for probiotic encapsulation with whey protein concentrate or its trypsin-derived hydrolysate: Impact on antioxidant capacity and stability of fermented whey-based beverages. *Food Chemistry*, 370, 130931.
- Kumar Mishra, B., Hati, S., Das, S., & Prajapati, J. B. (2019). Biofunctional attributes and storage study of soy milk fermented by *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus helveticus*. *Food technology and biotechnology*, 57(3), 399-407.

- Kumar, M. N. R. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and functional polymers*, 46(1), 1-27. <https://doi.org/10.4236/ojpchem.2015.53004>.
- Kurmann, J. A., & Rasic, J. L. (1991). The health potential of products containing bifidobacteria. In R. K. Robinson (Ed.), *Therapeutic properties of fermented milks* (pp. 117–157). London, UK: Elsevier Applied Science Publishers.
- Kurzer, M. S. (2008). Soy consumption for reduction of menopausal symptoms. *Inflammopharmacology*, 16, 227-229.
- Laird, D. A., Martens, D. A., & Kingery, W. L. (2001). Nature of clay-humic complexes in an agricultural soil: I. Chemical, biochemical, and spectroscopic analyses. *Soil Science Society of America Journal*, 65(5), 1413-1418. <https://acsess.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2136/sssaj2001.6551413x>.
- Lal, K., Yadav, R. K., Kaur, R., Bundela, D. S., Khan, M. I., Chaudhary, M., ...& Singh, G. (2013). Productivity, essential oil yield, and heavy metal accumulation in lemon grass (*Cymbopogon flexuosus*) under varied wastewater–groundwater irrigation regimes. *Industrial Crops and Products*, 45, 270-278. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.01.004>.
- Lalander, C. D. S. Z., Diener, S., Zurbrügg, C., & Vinnerås, B. (2019). Effects of feedstock on larval development and process efficiency in waste treatment with black soldier fly (*Hermetia illucens*). *Journal of cleaner production*, 208, 211-219. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.10.017>.
- Landete, J. M. (2013). Dietary intake of natural antioxidants: vitamins and polyphenols. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(7), 706-721.
- Lappa, I. K., Papadaki, A., Kachrimanidou, V., Terpou, A., Koulougliotis, D., Eriotou, E., & Kopsahelis, N. (2019). Cheese whey processing: integrated biorefinery concepts and emerging food applications. *Foods*, 8(8), 347. <https://doi.org/10.3390/foods8080347>.
- Larkin, T. A., Astheimer, L. B., & Price, W. E. (2009). Dietary combination of soy with a probiotic or prebiotic food significantly reduces total and LDL cholesterol in mildly hypercholesterolaemic subjects. *European journal of clinical nutrition*, 63(2), 238-245.
- Larouche, J., Deschamps, M. H., Saucier, L., Lebeuf, Y., Doyen, A., & Vandenberg, G. W. (2019). Effects of killing methods on lipid oxidation, colour and microbial load of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *Animals*, 9(4), 182.
- Lazarova, V., Asano, T., Bahri, A., & Anderson, J. (2013). Milestones in water reuse: IWA publishing.

Lee, K. H., Kim, S. H., Woo, K. S., Kim, H. J., Choi, H. S., Kim, Y. H., & Song, J. (2016). Functional beverage from fermented soymilk with improved amino nitrogen, β -glucosidase activity and aglycone content using *Bacillus subtilis* starter. *Food science and biotechnology*, 25, 1399-1405.

Lee, Y., Yuk, D., Lee, J., et al. (2009) Epigallocatechin-3-gallate prevents lipopolysaccharide-induced elevation of β -amyloid generation and memory deficiency. *Brain Res* 1250, 164–174.

Lesuisse, E., Schanck, K., & Colson, C. (1993). Purification and preliminary characterization of the extracellular lipase of *Bacillus subtilis* 168, an extremely basic pH-tolerant enzyme. *European Journal of Biochemistry*, 216(1), 155-160. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1993.tb18127.x>

Li W, Li Q, Zheng L, Wang Y, Zhang J, Yu Z, & Zhang Y. (2015). Potential biodiesel and biogas production from corncob by anaerobic fermentation and black soldier fly. *Bioresources of Technology*. 194: 276e282. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.112>.

Li, Q., Zheng, L., Cai, H., Garza, E., Yu, Z., & Zhou, S. (2011a). From organic waste to biodiesel: Black soldier fly, *Hermetia illucens*, makes it feasible. *Fuel*, 90(4), 1545-1548. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2010.11.016>.

Li, Q., Zheng, L., Qiu, N., Cai, H., Tomberlin, J. K., & Yu, Z. (2011b). Bioconversion of dairy manure by black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) for biodiesel and sugar production. *Waste management*, 31(6), 1316-1320. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.01.005>.

Li, W., Ji, J., Chen, X., Jiang, M., Rui, X., & Dong, M. (2014). Structural elucidation and antioxidant activities of exopolysaccharides from *Lactobacillus helveticus* MB2-1. *Carbohydrate Polymers*, 102, 351-359.

Libutti, A., Gatta, G., Gagliardi, A., Vergine, P., Pollice, A., Beneduce, L., ... & Tarantino, E. (2018). Agro-industrial wastewater reuse for irrigation of a vegetable crop succession under Mediterranean conditions. *Agricultural Water Management*, 196, 1-14.

Libutti, A., Gatta, G., Gagliardi, A., Vergine, P., Pollice, A., Beneduce, L., Disciglio, G & Tarantino, E. (2018). Agro-industrial wastewater reuse for irrigation of a vegetable crop succession under Mediterranean conditions. *Agricultural water management*, 196, 1-14.

Lilly, D. M., & Stillwell, R. H. (1965). Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 147(3659), 747-748.

Liu, T., Awasthi, M. K., Chen, H., Duan, Y., Awasthi, S. K., & Zhang, Z. (2019). Performance of black soldier fly larvae (Diptera: Stratiomyidae) for manure composting and

production of cleaner compost. *Journal of Environmental Management*, 251, 109593. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109593>.

Loimaranta, V., Laine, M., Soëderling, E., Vasara, E., Rokka, S., Marnila, P., ...& Tenovuo, J. (1999). Effects of bovine immune and non-immune whey preparations on the composition and pH response of human dental plaque. *European journal of oral sciences*, 107(4), 244-250.

Lomonaco, G., Franco, A., De Smet, J., Scieuzo, C., Salvia, R., & Falabella, P. (2024). Larval Frass of *Hermetia illucens* as Organic Fertilizer: Composition and Beneficial Effects on Different Crops. *Insects*, 15(4), 293. <https://doi.org/10.3390/insects15040293>.

Lopes, I. G., Yong, J. W., & Lalander, C. (2022). Frass derived from black soldier fly larvae treatment of biodegradable wastes. A critical review and future perspectives. *Waste Management*, 142, 65–76. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2022.02.007>.

Lopes, S. A., Roque-Borda, C. A., Duarte, J. L., Di Filippo, L. D., Borges Cardoso, V. M., Pavan, F. R., ... & Meneguim, A. B. (2023). Delivery Strategies of Probiotics from Nano-and Microparticles: Trends in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease—An Overview. *Pharmaceutics*, 15(11), 2600.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265-275. https://journalsp.com/wp-content/uploads/2022/10/Word-Template_Sample.pdf.

Lustrato, G., Salimei, E., Alfano, G., Belli, C., Fantuz, F., Grazia, L., & Ranalli, G. (2013). Cheese whey recycling in traditional dairy food chain: effects of vinegar from whey in dairy cow nutrition. *Acetic Acid Bacteria*, 2(1), e8.

Lv, L., Fu, C., Zhang, F., & Wang, S. (2019). Thermally-induced whey protein isolate-daidzein co-assemblies: Protein-based nanocomplexes as an inhibitor of precipitation/crystallization for hydrophobic drug. *Food Chemistry*, 275, 273-281.

Ma J, Lei Y, Rehman K, ur, Yu Z, Zhang J, Li W, Li Q, Tomberlin JK, Zheng L, (2018). Dynamic effects of initial pH of substrate on biological growth and metamorphosis of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae). *Environ Entomol* 47:159–165. <https://doi.org/10.1093/ee/nvx186>.

Ma, Y., & Huang, H. (2014). Characterisation and comparison of phenols, flavonoids and isoflavones of soymilk and their correlations with antioxidant activity. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(10), 2290-2298.

Macwan, S. R., Dabhi, B. K., Parmar, S. C., & Aparnathi, K. D. (2016). Whey and its utilization. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(8), 134-155.

Madureira, A. R., Pereira, C. I., Gomes, A. M., Pintado, M. E., & Malcata, F. X. (2007). Bovine whey proteins–Overview on their main biological properties. *Food Research International*, 40(10), 1197-1211.

Maftai, N. M., Raileanu, C. R., Balta, A. A., Ambrose, L., Boev, M., Marin, D. B., & Lisa, E. L. (2024). The Potential Impact of Probiotics on Human Health: An Update on Their Health-Promoting Properties. *Microorganisms*, 12(2), 234. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12020234>.

Magalhães, K. T., Dragone, G., de Melo Pereira, G. V., Oliveira, J. M., Domingues, L., Teixeira, J. A., ... & Schwan, R. F. (2011). Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. *Food Chemistry*, 126(1), 249-253. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.012>.

Magee, K.; Halstead, J.; Small, R.; & Young, I. (2021) Valorisation of Organic Waste By-Products Using Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as a Bio-Converter. *Sustainability*, 13, 8345. <https://doi.org/10.3390/su13158345>.

Mahalak, K. K., Firman, J., Bobokalonov, J., Narrowe, A. B., Bittinger, K., Daniel, S., ... & Liu, L. (2022). Persistence of the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* strain GG (LGG) in an in vitro model of the gut microbiome. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(21), 12973.

Mahanty, T., Bhattacharjee, S., Goswami, M., Bhattacharyya, P., Das, B., Ghosh, A., & Tribedi, P. (2017). Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 3315-3335. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-016-8104-0>.

Makkar HPS, Tran G, Heuzé V, Ankers P (2014) State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Anim Feed Sci Technol* 197:1–33. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008>.

Manigandan, T., Mangaiyarkarasi, S. P., Hemalatha, R., Hemalatha, V. T., & Murali, N. P. (2012). Probiotics, prebiotics and synbiotics-a review. *Biomedical & Pharmacology Journal*, 5(2), 295.

Manurung, R., Supriatna, A., Esyanthi, R. R., & Putra, R. E. (2016). Bioconversion of rice straw waste by black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.): optimal feed rate for biomass production. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4(4), 1036-1041. <https://www.entomoljournal.com/archives/2016/vol4issue4/PartK/4-3-163-796.pdf>.

Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., Foligné, B., ... & Hutkins, R. (2017). Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Current opinion in biotechnology*, 44, 94-102.

Mark-Herbert, C. (2004). Innovation of a new product category—functional foods. *Technovation*, 24(9), 713-719.

Martins, S., Mussatto, S. I., Martínez-Avila, G., Montañez-Saenz, J., Aguilar, C. N., & Teixeira, J. A. (2011). Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotechnology advances*, 29(3), 365-373.

Maryam, B., & Büyükgüngör, H. (2019). Wastewater reclamation and reuse trends in Turkey: Opportunities and challenges. *Journal of Water Process Engineering*, 30, 100501. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2017.10.001>

Mathieu J. (1998). *Initiation to milk physicochemistry*. Lavoisier <https://www.lavoisier.fr/livre/agro-alimentaire/initiation-a-la-physicochimie-du-lait-collection-guides-technologiques-des-iaa/mathieu/descriptif-9782743002336>.

May BM. 1961. The occurrence in New Zealand and the life-history of the soldier fly *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae). *New Zealand Journal Science* 4: 55-65. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19621000377>.

McDonald, P.; Edwards, R. A.; Greenhalgh J. F. D., (1981). *Nutrición Animal*, 3rd ed.; Acribia: Zaragoza, Spain, p 497. <https://eliasnutri.wordpress.com/wp-content/uploads/2020/07/animal-nutrition-7th-edition.pdf>.

Meneguz, M., Gasco, L., & Tomberlin, J. K. (2018). Impact of pH and feeding system on black soldier fly (*Hermetia illucens*, L; Diptera: Stratiomyidae) larval development. *PloS one*, 13(8), e0202591. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202591>.

Menino, R., Felizes, F., Castelo-Branco, M. A., Fareleira, P., Moreira, O., Nunes, R., & Murta, D. (2021). Agricultural value of Black Soldier Fly larvae frass as organic fertilizer on ryegrass. *Heliyon*, 7(1). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05855>.

Mertenat, A., Diener, S., & Zurbrügg, C. (2019). Black Soldier Fly biowaste treatment—Assessment of global warming potential. *Waste management*, 84, 173-181. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.11.040>.

Messina, M. J., & Loprinzi, C. L. (2001). Soy for breast cancer survivors: a critical review of the literature. *The Journal of nutrition*, 131(11), 3095S-3108S.

Messina, M. J., Persky, V., Setchell, K. D., & Barnes, S. (1994). Soy intake and cancer risk: a review of the in vitro and in vivo data. *Nutrition and cancer*, 21(2), 113-131.

Mimouni, Y., & Siboubkeur, O. (2011). Etude des propriétés nutritives et diététiques des sirops de dattes extraits par diffusion, en comparaison avec les sirops à haute teneur en fructose (isoglucoses), issus de l'industrie de l'amidon. *Ann. Sci. Tech.* Pp 3(1), 1-11.

- Miranda, C. D., Cammack, J. A., & Tomberlin, J. K. (2019). Life-history traits of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (L.)(Diptera: Stratiomyidae), reared on three manure types. *Animals*, 9(5), 281.<http://doi.org/10.3390/ani9050281>.
- Mishra, L. K., & Sangma, D. (2017). Quality attributes, phytochemical profile and storage stability studies of functional ready to serve (RTS) drink made from blend of Aloe vera, sweet lime, amla and ginger. *Journal of Food Science and Technology*, 54, 761-769.
- Mitra, A. K., Mahalanabis, D., Ashraf, H., Unicomb, L., Eeckels, R., & Tzipori, S. (1995). Hyperimmune cow colostrum reduces diarrhoea due to rotavirus: a double-blind, controlled clinical trial. *Acta paediatrica*, 84(9), 996-1001.
- MOHAMED, M. A., & AHMED, A. A. (1981). Libyan Date Syrup (Rub Al-Tamr). *Journal of food science*, 46(4), 1162-1174.
- Mok, W. K., Tan, Y. X., Lyu, X. M., & Chen, W. N. (2020). Effects of submerged liquid fermentation of *Bacillus subtilis* WX-17 using okara as sole nutrient source on the composition of a potential probiotic beverage. *Food science & nutrition*, 8(7), 3119-3127.
- Moktan, B., Saha, J., & Sarkar, P. K. (2008). Antioxidant activities of soybean as affected by *Bacillus*-fermentation to kinema. *Food Research International*, 41(6), 586-593.
- Mollea, C., Marmo, L., & Bosco, F. (2013). Valorisation of cheese whey, a by-product from the dairy industry. In *Food industry*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/53159>
- Mondal, K. C., & Pati, B. R. (2000). Studies on the extracellular tannase from newly isolated *Bacillus licheniformis* KBR 6. *Journal of Basic Microbiology: An International Journal on Biochemistry, Physiology, Genetics, Morphology, and Ecology of Microorganisms*, 40(4), 223-232.
- Mondal, K. C., Banerjee, D., Banerjee, R., & Pati, B. R. (2001). Production and characterization of tannase from *Bacillus cereus* KBR9. *The Journal of general and applied microbiology*, 47(5), 263-267.
- Mondal, K. C., Samanta, S. A. P. T. A. D. I. P., Giri, S. U. B. R. A. T. A., & Pati, B. R. (2001). Distribution of tannic acid degrading microorganisms in the soil and comparative study of tannase from two fungal strains. *Acta Microbiologica Polonica*, 50(1), 75-82.
- Mulcahy, E. M. (2017). Preparation, characterisation and functional applications of whey protein-carbohydrate conjugates as food ingredients.<https://hdl.handle.net/10468/4007>
- Mutafela, R. N. (2015). High value organic waste treatment via black soldier fly bioconversion: onsite pilot study.

- Mwadza, C., Hatti-Kaul, R., Zvauya, R., & Mattiasson, B. (2000). Purification and characterization of cellulases produced by two *Bacillus* species. *Journal of Biotechnology*, 83(3), 177-187. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(00\)00305-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(00)00305-9)
- Mwanzia, M. M. (2022). *Formulation of Probiotic Mango Juice and Assessment of Physicochemical Characteristics, Nutritive Quality, Culture Viability and Storage Stability* (Doctoral dissertation, SCHOOL OF PUBLIC HEALTH AND APPLIED HUMAN SCIENCES, KENYATTA UNIVERSITY).
- Myers, H. M., Tomberlin, J. K., Lambert, B. D., & Kattes, D. (2014). Development of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae fed dairy manure. *Environmental Entomology*, 37(1), 11-15. [http://refhub.elsevier.com/S0301-4797\(17\)30262-1/sref28](http://refhub.elsevier.com/S0301-4797(17)30262-1/sref28).
- Nagpal, R., Yadav, H., Kumar, M., Jain, S., Yamashiro, Y., & Marotta, F. (2013). Probiotics, prebiotics and synbiotics: An introduction. *Probiotics and Prebiotics in Food, Nutrition and Health*, 9-32.
- Nation, J.L., (2008). *Insects physiology and biochemistry* (2nd Ed.). Taylor and Francis Group. <https://doi.org/10.1201/9781420061789>.
- Nelson, D. W., & Sommers, L. E. (1982). Total carbon, organic carbon, and organic matter. In Miller, R.H. & Keeney, D.R. (Ed). *Methods of soil analysis: Part 2 Chemical and microbiological properties* (vol. 9, p. 539-579). A.L. Page. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.2.2ed.c29>.
- Nguyen, T. T., Tomberlin, J. K., & Vanlaerhoven, S. (2015). Ability of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae to recycle food waste. *Environmental entomology*, 44(2), 406-410. <https://doi.org/10.1093/ee/nvv002>.
- Nicholson, W. L., Munakata, N., Horneck, G., Melosh, H. J., & Setlow, P. (2000). Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. *Microbiology and molecular biology reviews*, 64(3), 548-572.
- Nielsen, S. Suzanne. "Introduction to food analysis" *Food Analysis* (2017): 3-16. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1478-1>.
- Nilugin, S. E., & Mahendran, T. (2010). Preparation of ready-to-serve (RTS) beverage from palmyrah (*Borassus flabellifer* L.) fruit pulp. *J. Agri Sci. Sri Lanka*. 5(2):80-88.
- Nyakeri, E. M., Ogola, H. J., Ayieko, M. A., & Amimo, F. A. (2017). An open system for farming black soldier fly larvae as a source of proteins for smallscale poultry and fish production. *Journal of Insects as Food and Feed*, 3(1), 51-56. <http://doi.org/10.3920/JIFF2016.0030>.

Nystrand, B. T., & Olsen, S. O. (2021). Relationships between functional food consumption and individual traits and values: A segmentation approach. *Journal of Functional Foods*, 86, 104736.

Obradović, N., Volić, M., Nedović, V., Rakin, M., & Bugarski, B. (2022). Microencapsulation of probiotic starter culture in protein–carbohydrate carriers using spray and freeze-drying processes: Implementation in whey-based beverages. *Journal of Food Engineering*, 321, 110948.

Official Method of analysis (2005) 18th Ed., AOAC (Association of Official Analytical Chemist) International, Gaithersburg, MD, Method 978.10. <https://search.worldcat.org/fr/title/Official-methods-of-analysis-of-AOAC-International/oclc/62751475>.

Official Method of analysis (2005) 18th Ed., AOAC (Association of Official Analytical Chemist) International, Gaithersburg, MD, Method 2003.05. <https://search.worldcat.org/fr/title/Official-methods-of-analysis-of-AOAC-International/oclc/62751475>.

Official Methods of Analysis (2005) 18th Ed., AOAC (Association of Official Analytical Chemist) International, Gaithersburg, MD, Method 930.15. <https://search.worldcat.org/fr/title/Official-methods-of-analysis-of-AOAC-International/oclc/62751475>.

Official Methods of Analysis (2005) 18th Ed., AOAC (Association of Official Analytical Chemist) International, Gaithersburg, MD, Method 942.05. <https://www.hestia.earth/term/aoacOfficialMethod94205>.

Official Methods of Analysis (2012) 19th Ed., AOAC (Association of Official Analytical Chemist) International, Gaithersburg, MD, Method 2001.11. <https://search.worldcat.org/fr/title/Official-methods-of-analysis-of-AOAC-International/oclc/817542290>.

Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International (18th ed.). Arlington, VA, USA, 2012; pp. 1–48. AOAC International. <https://search.worldcat.org/fr/title/official-methods-of-analysis-of-aoac-international/oclc/793133650>

Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists International; 18th; AOAC Press: Arlington, VA, USA, 2012;

Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International (16th ed.). Arlington, VA, USA, 1995; AOAC International. <https://search.worldcat.org/fr/title/Official-methods-of-analysis-of-AOAC-international/oclc/421897987>.

Ohno, A., Ano, T., & Shoda, M. (1996). Use of soybean curd residue, okara, for the solid state substrate in the production of a lipopeptide antibiotic, iturin A, by *Bacillus subtilis* NB22. *Process Biochemistry*, 31(8), 801-806.

OJDPAR (Official Journal of the Democratic and Popular Algerian Republic) No 77, (2001). Law No. 01-19 signed on Ramadan 27 -1422 corresponding to December 12, 2001, related to management, control and disposal of waste. P7. <https://www.joradp.dz/FTP/Jo-Francais/2001/F2001077.pdf>.

Okhuysen, P. C., Chappell, C. L., Crabb, J., Valdez, L. M., Douglass, E. T., & DuPont, H. L. (1998). Prophylactic effect of bovine anti-Cryptosporidium hyperimmune colostrum immunoglobulin in healthy volunteers challenged with *Cryptosporidium parvum*. *Clinical Infectious Diseases*, 26(6), 1324-1329.

Okuda, T. (2005). Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry*, 66(17), 2012-2031.

Olaimat, A. N., Al-Holy, M. A., Abughoush, M. H., Daseh, L., Al-Nabulsi, A. A., Osaili, T. M., ... & Holley, R. A. (2023). Survival of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in date palm paste and syrup at different storage temperatures. *Journal of Food Science*, 88(7), 2950-2959.

Olajide, M.A.; LaPoint, G. Microorganisms associated with raw milk. In *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 3rd ed.; McSweeney, P.L.H., McNamara, J.P., Eds.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2021; pp. 319–328.

Olmos, J., & Paniagua-Michel, J. (2014). *Bacillus subtilis* a potential probiotic bacterium to formulate functional feeds for aquaculture. *J. Microb. Biochem. Technol*, 6(7), 361-365.

Olmos, J., Ochoa, L., Paniagua-Michel, J., & Contreras, R. (2011). Functional feed assessment on *Litopenaeus vannamei* using 100% fish meal replacement by soybean meal, high levels of complex carbohydrates and *Bacillus* probiotic strains. *Marine drugs*, 9(6), 1119-1132.

Ongena, M., & Jacques, P. (2008). *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends in microbiology*, 16(3), 115-125.

Oonincx, D. G., Van Broekhoven, S., Van Huis, A., & van Loon, J. J. (2015b). Feed conversion, survival and development, and composition of four insect species on diets composed of food by-products. *PloS one*, 10(12), e0144601. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0144601>.

Oonincx, D., van Huis, A., & van Loon, J.J.A., (2015a). Nutrient utilisation by black soldier flies fed with chicken, pig, or cow manure. *Journal of Insects as Food and Feed* 1, 131–139. <http://dx.doi.org/10.3920/jiff2014.0023>.

- Osawa, R. O., Kuroiso, K., Goto, S., & Shimizu, A. (2000). Isolation of tannin-degrading lactobacilli from humans and fermented foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(7), 3093-3097.
- Ouattara, Y., Lassana, B.T. and Mouhamadou, A. (2018) Contrôle de la qualité microbiologique des boissons de fabrication artisanale dans la commune V du District de Bamako. *Symposium Malien sur les Sciences Appliquées*, 7, 228-231.
- Ovando, C, Hernandez, D, Hernandez, E, et al. (2009) Chemical studies of anthocyanins: a review. *Food Chem* 113, 859–871.
- Ozen, M., & Dinleyici, E. C. (2015). The history of probiotics: the untold story. *Beneficial microbes*, 6(2), 159-165.
- Özer, B. H., & Kirmaci, H. A. (2010). Functional milks and dairy beverages. *International Journal of Dairy Technology*, 63(1), 1-15. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.200900547.x>.
- Pagliaccia, D., Bodaghi, S., Chen, X., Stevenson, D., Deyett, E., De Francesco, A., ... & Vidalakis, G. (2020). Two food waste by-products selectively stimulate beneficial resident citrus host-associated microbes in a zero-runoff indoor plant production system. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 593568. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.593568>.
- Palela, M., Ifrim, G., Barbu, M., Bahrim, G., & Caraman, S. (2010). Strategies for the aerobic biological treatment of the dairy wastewaters in controlled conditions. *Environmental Engineering and Management Journal*, 9(3), 399-405.
- Palma, L., Fernandez-Bayo, J., Niemeier, D., Pitesky, M., & VanderGheynst, J. S. (2019). Managing high fiber food waste for the cultivation of black soldier fly larvae. *NPJ Science of Food*, 3(1), 15. <https://doi.org/10.1038/s41538-019-0047-7>.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>.
- Pandey, K. R., Naik, S. R., & Vakil, B. V. (2015). Probiotics, prebiotics and synbiotics-a review. *Journal of food science and technology*, 52, 7577-7587.
- Pang, W., Hou, D., Chen, J., Nowar, E. E., Li, Z., Hu, R., ... & Wang, S. (2020). Reducing greenhouse gas emissions and enhancing carbon and nitrogen conversion in food wastes by the black soldier fly. *Journal of environmental management*, 260, 110066. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.11>.
- Pansu M., & Gautheyrou J. (2006). *Handbook of soil analysis: mineralogical, organic and inorganic methods*. Springer. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-540-31211-6>.
- Papademas, P., & Kotsaki, P. (2019). Technological utilization of whey towards sustainable exploitation. *J. Adv. Dairy Res*, 7(4), 231.

Papargyropoulou, E., Lozano, R., Steinberger, J. K., Wright, N., & bin Ujang, Z. (2014). The food waste hierarchy as a framework for the management of food surplus and food waste. *Journal of Cleaner Production*, 76, 106-115. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.04.020>.

Parker, M. N., Lopetcharat, K., & Drake, M. A. (2018). Consumer acceptance of natural sweeteners in protein beverages. *Journal of Dairy Science*, 101(10), 8875-8889. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14707>.

Parker, R. B. (1974). Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Anim Nutr Health* 29, 4-8.

Parra Paz, A. S., Carrejo, N. S., & Gómez Rodríguez, C. H. (2015). Effects of larval density and feeding rates on the bioconversion of vegetable waste using black soldier fly larvae *Hermetia illucens* (L.), (Diptera: Stratiomyidae). *Waste and Biomass Valorization*, 6, 1059-1065. <http://doi.org/10.1007/s12649-015-9418-8>.

Pathomrungsyounggul, P., Lewis, M. J., & Grandison, A. S. (2010). Effects of calcium-chelating agents and pasteurisation on certain properties of calcium-fortified soy milk. *Food Chemistry*, 118(3), 808-814.

Pękal, A., & Pyrzyńska, K. (2014). Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*, 7, 1776-1782.

Peña, A. S. (2007). Intestinal flora, probiotics, prebiotics, synbiotics and novel foods. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 99(11), 653.

Perles C. (1977). Le strategie alimentari nell'epreistoria In: Flandrin J-L, Montanari M (eds) *Storiadell'alimentazione*. Ed. Laterza, Roma-Bari:12-25.

Permana, A. D., & Ramadhani Eka Putra, J. E. N. (2018). Growth of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae fed on spent coffee ground. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 187(012070), 1-7. <http://doi.org/10.1088/1755-1315/187/1/012070>.

Permpoonpattana, P., Hong, H. A., Khaneja, R., & Cutting, S. M. (2012). Evaluation of *Bacillus subtilis* strains as probiotics and their potential as a food ingredient. *Beneficial microbes*, 3(2), 127-136.

Pescuma, M., de Valdez, G. F., & Mozzi, F. (2015). Whey-derived valuable products obtained by microbial fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99, 6183-6196. <http://doi.org/10.1007/s00253-015-6766-z>.

Pesta, G., Meyer-Pittroff, R., & Russ, W. (2007). Utilization of whey. In *Utilization of by-products and treatment of waste in the food industry* (pp. 193-207). Boston, MA: Springer US.

Petracco, M. (2005). *In Espresso Coffee: The Science of Quality*; Illy, A., Viani, R., Eds.; Elsevier Academic Press, London, UK, pp 290–313. <https://shop.elsevier.com/books/espresso-coffee/illy/978-0-12-370371-2>.

Picardo, S., Altuwaijri, M., Devlin, S. M., & Seow, C. H. (2020). Complementary and alternative medications in the management of inflammatory bowel disease. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 13, 1756284820927550. <https://doi.org/10.1177/1756284820927550>.

Pimentel, A. C., Montali, A., Bruno, D., & Tettamanti, G. (2017). Metabolic adjustment of the larval fat body in *Hermetia illucens* to dietary conditions. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 20(4), 1307-1313. <http://doi.org/10.1016/j.aspen.2017.09.017>.

Pinto, G. A., Leite, S. G., Terzi, S. C., & Couri, S. (2001). Selection of tannase-producing *Aspergillus niger* strains. *Brazilian Journal of Microbiology*, 32, 24-26.

Pires, A. F., Marnotes, N. G., Rubio, O. D., Garcia, A. C., & Pereira, C. D. (2021). Dairy by-products: A review on the valorization of whey and second cheese whey. *Foods*, 10(5), 1067. <https://doi.org/10.3390/dairy4020018>.

Playne, M. J., Bennett, L. E., & Smithers, G. W. (2003). Functional dairy foods and ingredients. *Australian Journal of Dairy Technology*, 58(3), 242-264.

Poillot, M. (2010). *Transformer les produits laitiers frais à la ferme (deuxième édition)*. Educagri éditions, 160. <https://www.quae.com/produit/1692/9791027501410/transformer-les-produits-laitiers-frais-a-la-ferme>.

Pokusaeva, K., Fitzgerald, G. F., & van Sinderen, D. (2011). Carbohydrate metabolism in *Bifidobacteria*. *Genes & nutrition*, 6, 285-306. doi:10.1007/s12263-010-0206-6

Prado, F. C., Parada, J. L., Pandey, A., & Soccol, C. R. (2008). Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Research International*, 41(2), 111-123.

Praeg, N., & Klammersteiner, T. (2023). Frass fertilizers from mass-reared insects: species variation, heat treatment effects, and implications for soil application. *bioRxiv*, 2023-09. <https://doi.org/10.1101/2023.09.28.559882>.

Prakash, D., Upadhyay, G., Singh, B. N., & Singh, H. B. (2007). Antioxidant and free radical-scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean (*Glycine max*). *Food chemistry*, 104(2), 783-790.

Prazeres, A. R., Carvalho, F., & Rivas, J. (2012). Cheese whey management: A review. *Journal of environmental management*, 110, 48-68.

Prazeres, A. R., Rivas, J., Almeida, M. A., Patanita, M., Dôres, J., & Carvalho, F. (2016). Agricultural reuse of cheese whey wastewater treated by NaOH precipitation for tomato

production under several saline conditions and sludge management. *Agricultural water management*, 167, 62-74.

Quilliam, R. S., Nuku-Adeku, C., Maquart, P., Little, D., Newton, R., & Murray, F. (2020). Integrating insect frass biofertilisers into sustainable peri-urban agro-food systems. *Journal of Insects as Food and Feed*, 6(3), 315-322. <https://doi.org/10.3920/JIFF2019.0049>.

Raiesi Ardali, F., Rahimi, E., Tahery, S., & Shariati, M. (2014). Production of a new drink by using date syrup and milk. *Journal of Food Biosciences and Technology*, 4, 67-72.

Rajeshwari, K. V., Balakrishnan, M., Kansal, A., Lata, K., & Kishore, V. V. N. (2000). State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. *Renewable and sustainable energy reviews*, 4(2), 135-156.

Ramdath, D. D., Padhi, E. M., Sarfaraz, S., Renwick, S., & Duncan, A. M. (2017). Beyond the cholesterol-lowering effect of soy protein: a review of the effects of dietary soy and its constituents on risk factors for cardiovascular disease. *Nutrients*, 9(4), 324.

Ramirez-Santiago, C., Ramos-Solis, L., Lobato-Calleros, C., Peña-Valdivia, C., Vernon-Carter, E. J., & Alvarez-Ramírez, J. (2010). Enrichment of stirred yogurt with soluble dietary fiber from *Pachyrhizuserosus* L. Urban: Effect on syneresis, microstructure and rheological properties. *Journal of Food Engineering*, 101(3), 229-235.

Rawski, M., Mazurkiewicz, J., Kierończyk, B., & Józefiak, D. (2021). Black soldier fly full-fat larvae meal is more profitable than fish meal and fish oil in Siberian sturgeon farming: the effects on aquaculture sustainability, economy and fish GIT development. *Animals*, 11(3), 604. <https://doi.org/10.3390/ani11030604>.

Rehman, K. ur., Cai, M., Xiao, X., Zheng, L., Wang, H., Soomro, A. A., ... & Zhang, J. (2017b). Cellulose decomposition and larval biomass production from the co-digestion of dairy manure and chicken manure by mini-livestock (*Hermetia illucens* L.). *Journal of Environmental Management*, 196, 458-465. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.03.047>.

Rehman, K. ur., Rehman, A., Cai, M., Zheng, L., Xiao, X., Somroo, A. A., ... & Zhang, J. (2017a). Conversion of mixtures of dairy manure and soybean curd residue by black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.). *Journal of Cleaner Production*, 154, 366-373. <http://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.04.019>.

Rivas, J., Prazeres, A. R., Carvalho, F., & Beltrán, F. (2010). Treatment of cheese whey wastewater: combined coagulation–flocculation and aerobic biodegradation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(13), 7871-7877.

Roberfroid, M. B. (2000). Prebiotics and probiotics: are they functional foods?. *The American journal of clinical nutrition*, 71(6), 1682S-1687S.

Rodrigues, E., Mariutti, L. R., & Mercadante, A. Z. (2013). Carotenoids and phenolic compounds from *Solanum sessiliflorum*, an unexploited Amazonian fruit, and their scavenging capacities against reactive oxygen and nitrogen species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(12), 3022-3029.

Rodríguez, H., De Las Rivas, B., Gómez-Cordovés, C., & Muñoz, R. (2008). Degradation of tannic acid by cell-free extracts of *Lactobacillus plantarum*. *Food Chemistry*, 107(2), 664-670.

Rofehgari-Nejad, L., Piroozifard, M., Asefi, N., Tabibi-Azar, M., & Ashrafi, R. (2010). Comparative Study of Date Syrup Decolourization Efficiency with Ion Exchange Resins and Bone Char. *Asian Journal of Chemistry*, 22(1), 16.

Romano, N., Fischer, H., Kumar, V., Francis, S. A., & Sinha, A. K. (2021). Productivity, conversion ability, and biochemical composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae fed with sweet potato, spent coffee or dough. *International Journal of Tropical Insect Science*, 1-8. <https://doi.org/10.1007/s42690-021-00532-5>.

Rudrappa, T., Quinn, W. J., Stanley-Wall, N. R., & Bais, H. P. (2007). A degradation product of the salicylic acid pathway triggers oxidative stress resulting in down-regulation of *Bacillus subtilis* biofilm formation on *Arabidopsis thaliana* roots. *Planta*, 226(2), 283-297.

Rumpold, B. A., & Schlüter, O. K. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(5), 802-823. <http://doi.org/10.1002/mnfr.201200735>.

Sabokbar, N., & Khodaiyan, F. (2016). Total phenolic content and antioxidant activities of pomegranate juice and whey based novel beverage fermented by kefir grains. *Journal of Food Science and Technology*, 53, 739-747.

Sahi, W., Megateli. 2023. Evaluation of *Lemna minor* phytoremediation performance for the treatment of dairy wastewater. *Water and Practice and Technology* (18):5,1138.<http://doi.org/10.2166/wpt.2023.074>

Salgot, M., & Folch, M. (2018). Wastewater treatment and water reuse. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 2, 64-74.

Salgot, M., & Folch, M. (2018). Wastewater treatment and water reuse. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 2, 64-74. <http://doi.org/10.1016/j.coesh.2018.03.005>

Salminen, J. P., & Karonen, M. (2011). Chemical ecology of tannins and other phenolics: we need a change in approach. *Functional ecology*, 25(2), 325-338.

Salomone, R., Saija, G., Mondello, G., Giannetto, A., Fasulo, S., & Savastano, D. (2017). Environmental impact of food waste bioconversion by insects: Application of Life Cycle

Assessment to process using *Hermetia illucens*. *Journal of Cleaner Production*, 140, 890-905. <http://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.06.154>.

Sánchez-Muros MJ, Barroso FG, Manzano-Agugliaro F (2014) Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. *J Clean Prod* 65:16–27. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.11.068>.

Santos, V. A. Q., Nascimento, C. G., Schmidt, C. A., Mantovani, D., Dekker, R. F., & da Cunha, M. A. A. (2018). Solid-state fermentation of soybean okara: Isoflavones biotransformation, antioxidant activity and enhancement of nutritional quality. *Lwt*, 92, 509-515. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.067> <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.067>

Sarita, B., Samadhan, D., Hassan, M. Z., & Kovaleva, E. G. (2025). A comprehensive review of probiotics and human health-current prospective and applications. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1487641.

Sasi Kumar, R., Ray, R. C., Paul, P. K., & Suresh, C. P. (2013). Development and storage studies of therapeutic ready to serve (RTS) made from blend of Aloe vera, aonla and ginger juice. *J Food Process Technol*, 4(232), 2.

Schmitt, E., & de Vries, W. (2020). Potential benefits of using *Hermetia illucens* frass as a soil amendment on food production and for environmental impact reduction. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 25, 100335. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2020.03.005>.

Sdiri, W., Dabbou, S., Chehab, H., Selvaggini, R., Servili, M., Di Bella, G., & Mansour, H. B. (2020). Quality characteristics and chemical evaluation of Chemlali olive oil produced under dairy wastewater irrigation. *Agricultural water management*, 236, 106124. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106124>

Setchell, K. D., Brown, N. M., Zhao, X., Lindley, S. L., Heubi, J. E., King, E. C., & Messina, M. J. (2011). Soy isoflavone phase II metabolism differs between rodents and humans: implications for the effect on breast cancer risk. *The American journal of clinical nutrition*, 94(5), 1284-1294.

Sethi, S., Tyagi, S. K., & Anurag, R. K. (2016). Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review. *Journal of food science and technology*, 53, 3408-3423. Setlow, P. (2006). Spores of *Bacillus subtilis*: their resistance to and killing by radiation, heat and chemicals. *Journal of applied microbiology*, 101(3), 514-525.

Shah, N. P. (2004). Probiotics and prebiotics. *AgroFood Industry HiTech*, 15, 13–16.

Shah, N. P. (2006a). Health benefits of yogurt and fermented milks. In R. C. Chandan (Ed.), *Manufacturing yogurt and fermented milks* (pp. 327–340). Iowa, USA: Blackwell Publishing Professional.

Shah, N. P. (2006b). Microorganisms and health attributes (probiotics). In R. C. Chandan (Ed.), *Manufacturing yogurt and fermented milks* (pp. 341–354). Iowa, USA: Blackwell Publishing Professional.

Shah, N. P. (2007). Functional cultures and health benefits. *International dairy journal*, 17(11), 1262-1277.

Shah, N. P. (2013). Health benefits of yogurt and fermented milks. *Manufacturing yogurt and fermented milks*, 433-450.

Sharma, K., Kumar, V., Kaur, J., Tanwar, B., Goyal, A., Sharma, R., ...& Kumar, A. (2021). Health effects, sources, utilization and safety of tannins: A critical review. *Toxin Reviews*, 40(4), 432-444.

Shenderov B. (2013) Metabiotics: novel idea or natural development of probiotic conception. *MicrobEcol Health Dis* 24: 20399.

Sheppard, D. C., Newton, G. L., Thompson, S. A., & Savage, S. (1994). A value added manure management system using the black soldier fly. *Bioresource technology*, 50(3), 275-279. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(94\)90102-3](https://doi.org/10.1016/0960-8524(94)90102-3).

Shirmohammadli, Y., Efhamisizi, D., & Pizzi, A. (2018). Tannins as a sustainable raw material for green chemistry: A review. *Industrial crops and products*, 126, 316-332.

Shori, A. B. (2016). Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages. *Food bioscience*, 13, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2015.11.001>.

Sicard, D., & Legras, J. L. (2011). Bread, beer and wine: yeast domestication in the *Saccharomyces sensu stricto* complex. *Comptes Rendus. Biologies*, 334(3), 229-236.

Sieniawska, E. (2015). Activities of tannins—from in vitro studies to clinical trials. *Natural Product Communications*, 10(11), 1934578X1501001118.

Singh, A., & Kumari, K. (2019). An inclusive approach for organic waste treatment and valorisation using Black Soldier Fly larvae: A review. *Journal of environmental management*, 251, 109569. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109569>.

Singh, R., & Geetanjali. (2016). Whey Proteins and Their Value-Added Applications. *Protein Byproducts: Transformation from Environmental Burden Into Value-Added Products*, 303–313. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802391-4.00016-1>

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.

Skryplonek, K., Dmytrów, I., & Mituniewicz-Małek, A. (2019). Probiotic fermented beverages based on acid whey. *Journal of dairy science*, 102(9), 7773-7780.

Slorach, P. C., Jeswani, H. K., Cuéllar-Franca, R., & Azapagic, A. (2019). Environmental and economic implications of recovering resources from food waste in a circular economy. *Science of the Total Environment*, 693, 133516. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.322>.

Smetana, S., Schmitt, E., & Mathys, A. (2019). Sustainable use of *Hermetia illucens* insect biomass for feed and food: Attributional and consequential life cycle assessment. *Resources, Conservation and Recycling*, 144, 285-296. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.01.042>.

Smithers, G. W. (2008). Whey and whey proteins—From ‘gutter-to-gold’. *International dairy journal*, 18(7), 695-704.

Smithers, G. W. (2015). Whey-ing up the options—Yesterday, today and tomorrow. *International Dairy Journal*, 48, 2-14.

Soemarie, Y. B., Milanda, T., & Barliana, M. I. (2021). Fermented foods as probiotics: A review. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 12(4), 335-339.

Sommella, E., Pepe, G., Ventre, G., Pagano, F., Conte, G. M., Ostacolo, C., ... & Campiglia, P. (2016). Detailed peptide profiling of “Scotta”: From a dairy waste to a source of potential health-promoting compounds. *Dairy Science & Technology*, 96, 763-771. <http://doi/10.1007/s13594-016-0297-y>.

Song, S., Ee, A. W. L., Tan, J. K. N., Cheong, J. C., Chiam, Z., Arora, S., ... & Tan, H. T. W. (2021). Upcycling food waste using black soldier fly larvae: Effects of further composting on frass quality, fertilising effect and its global warming potential. *Journal of Cleaner Production*, 288, 125664. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.125664>.

Sorokulova, I. B., Krumnow, A. A., Pathirana, S., Mandell, A. J., & Vodyanoy, V. (2008). Novel methods for storage stability and release of *Bacillus* spores. *Biotechnology Progress*, 24(5), 1147-1153.

Soumati, B., Atmani, M., Benabderrahmane, A., & Benjelloun, M. (2023). Whey valorization—innovative strategies for sustainable development and value-added product creation. *Journal of Ecological Engineering*, 24(10).

Sprangers, T., Ottoboni, M., Klootwijk, C., Oryn, A., Deboosere, S., De Meulenaer, B., ...& De Smet, S. (2017). Nutritional composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on different organic waste substrates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(8), 2594-2600. <http://org/10.1002/jsfa.8081>.

Srivastava, R. K. (2020). Treatment of Dairy Byproducts with the Conversion of Useful Bio-Products. In Inamuddin & A. Asiri (Eds.), *Sustainable Green Chemical Processes and their Allied Applications* (pp. 267-287). Cham: Springer International Publishing.

Stein, T. (2005). *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. *Molecular microbiology*, 56(4), 845-857.

Stone, H., Bleibaum, R. N., & Thomas, H. A. (2012). Sensory evaluation practices. Cambridge, MA: Academic press.

Stringheta, P. C., Oliveira, T. T. D., Gomes, R. C., Amaral, M. D. P. H. D., Carvalho, A. F. D., & Vilela, M. A. P. (2007). Health policies and functional property and health claims for food in Brazil. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 43, 181-194.

Swennen, K., Courtin, C. M., & Delcour, J. A. (2006). Non-digestible oligosaccharides with prebiotic properties. *Critical reviews in food science and nutrition*, 46(6), 459-471.

Takahashi, R., Ohmori, R., Kiyose, C., Momiyama, Y., Ohsuzu, F., & Kondo, K. (2005). Antioxidant activities of black and yellow soybeans against low density lipoprotein oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(11), 4578-4582.

Taku, K., Melby, M. K., Nishi, N., Omori, T., & Kurzer, M. S. (2011). Soy isoflavones for osteoporosis: an evidence-based approach. *Maturitas*, 70(4), 333-338.

Talib, N., Mohamad, N. E., Yeap, S. K., Hussin, Y., Aziz, M. N. M., Masarudin, M. J., ... & Alitheen, N. B. (2019). Isolation and characterization of *Lactobacillus* spp. from kefir samples in Malaysia. *Molecules*, 24(14), 2606.

Tatoulis, T. I., Michailides, M. K., Tekerlekopoulou, A. G., Akratos, C. S., Pavlou, S., & Vayenas, D. V. (2018). Simultaneous treatment of agro-industrial and industrial wastewaters: case studies of Cr (VI)/Second Cheese Whey and Cr (VI)/Winery effluents. *Water*, 10(4), 382. <https://doi.org/103390/w10040382>.

Tekerlekopoulou, A. G., Economou, C. N., Tatoulis, T. I., Akratos, C. S., & Vayenas, D. V. (2020). Wastewater treatment and water reuse in the food industry. In *The Interaction of Food Industry and Environment* (pp. 245-280). Academic Press.

Tesfaye, W., Suarez-Lepe, J. A., Loira, I., Palomero, F., & Morata, A. (2019). Dairy and nondairy-based beverages as a vehicle for probiotics, prebiotics, and symbiotics: alternatives

to health versus disease binomial approach through food. In *Milk-based beverages* (pp. 473-520). Woodhead Publishing.

Thakur, M., & Sharma, R. K. (2017). Development of probiotic pomegranate beverage and its physico-chemical and microbial characterization. *Int. J. Pure App. Biosci*, 5(1), 35-41.

Thiex, N. (2009). Evaluation of analytical methods for the determination of moisture, crude protein, crude fat, and crude fiber in distillers dried grains with solubles. *Journal of AOAC international*, 92(1), 61-73. <https://doi.org/10.1093/jaoac/92.1.61>.

Thongkaew, C., Gibis, M., Hinrichs, J., & Weiss, J. (2014). Polyphenol interactions with whey protein isolate and whey protein isolate-pectin coacervates. *Food Hydrocolloids*, 41, 103-112., <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.02.006>.

Tomar, S. K., Anand, S., Sharma, P., Sangwan, V., & Mandal, S. (2015). Role of probiotics, prebiotics, synbiotics and postbiotics in inhibition of pathogens. *The battle against microbial pathogens: basic science, technological advances and educational programs*, 717-732.

Tong, T., & Elimelech, M. (2016). The global rise of zero liquid discharge for wastewater management: drivers, technologies, and future directions. *Environmental science & technology*, 50(13), 6846-6855. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b01000>.

Tsakali, E., Petrotos, K., D'Allessandro, A., & Goulas, P. (2010). A review on whey composition and the methods used for its utilization for food and pharmaceutical products. In *Proc. 6th Int. Conf. Simul. Modelling Food Bioind* (pp. 195-201). <https://tarjomefa.com/wp-content/uploads/2017/08/7321-English-TarjomeFa.pdf>.

Tsilingiri, K., Barbosa, T., Penna, G., Caprioli, F., Sonzogni, A., Viale, G., & Rescigno, M. (2012). Probiotic and postbiotic activity in health and disease: comparison on a novel polarised ex-vivo organ culture model. *Gut*, 61(7), 1007-1015.

Tsoutsos, T., Chatzakis, M., Sarantopoulos, I., Nikologiannis, A., & Pasadakis, N. (2013). Effect of wastewater irrigation on biodiesel quality and productivity from castor and sunflower oil seeds. *Renewable energy*, 57, 211-215. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2013.01.050>

Tunick, M. H. (2008). Whey protein production and utilization: a brief history. In C. I. 520 Onwulata & P. J. Huth (Eds.), *Whey processing, functionality and health benefits* 521 (1st ed.). Ames, Iowa: Wiley-Blackwell.

Valero-Cases, E., Cerdá-Bernad, D., Pastor, J. J., & Frutos, M. J. (2020). Non-dairy fermented beverages as potential carriers to ensure probiotics, prebiotics, and bioactive compounds arrival to the gut and their health benefits. *Nutrients*, 12(6), 1666.

Vaquero, I., Marcobal, Á., & Muñoz, R. (2004). Tannase activity by lactic acid bacteria isolated from grape must and wine. *International journal of food microbiology*, 96(2), 199-204.

Waldbauer, G. P. (1968). The consumption and utilization of food by insects. In *Advances in insect physiology* (Vol. 5, pp. 229-288). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2806\(08\)60230-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2806(08)60230-1).

Wang, Y. S., & Shelomi, M. (2017). Review of black soldier fly (*Hermetia illucens*) as animal feed and human food. *Foods* 2017, 6(10), 91. <https://doi.org/10.3390/foods6100091>.

Wang, Y., & Serventi, L. (2019). Sustainability of dairy and soy processing: A review on wastewater recycling. *Journal of Cleaner Production*, 237, 117821. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.117821>.

Widyastuti R. A. D., Rahmat A., Warganegara H. A., Ramadhani W. S., Prasetyo B. & Riantini M. (2021). Chemical content of waste composting by black soldier fly (*Hermetia illucens*). *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 739(1), 012003. <http://doi:10.1088/1755-1315/739/1/012003>.

Willis, R., Allen, P.R. (1998). Improved method for measuring hydrolyzable tannins using potassium iodate. *Analyst*, 123(3), 435-439.

Xu, B., & Chang, S. K. (2008). Antioxidant capacity of seed coat, dehulled bean, and whole black soybeans in relation to their distributions of total phenolics, phenolic acids, anthocyanins, and isoflavones. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(18), 8365-8373.

Xu, X., & Zhu, J. (2011). Enhanced phenolic antioxidants production in submerged cultures of *Inonotus obliquus* in a ground corn stover medium. *Biochemical Engineering Journal*, 58, 103-109.

Yadav, J. S. S., Yan, S., Pilli, S., Kumar, L., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y. (2015). Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnology advances*, 33(6), 756-774. <http://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.07.002>.

Yadav, S. K., Khokhar, U. U., Sharma, S. D., & Kumar, P. (2016). Response of strawberry to organic versus inorganic fertilizers. *Journal of Plant Nutrition*, 39(2), 194-203. <http://dx.doi.org/10.1080/01904167.2015.1109115>.

Yang, J. K., Shih, L., Tzeng, Y. M., & Wang, S. L. (2000). Production and purification of protease from a *Bacillus subtilis* that can deproteinize crustacean wastes ☆. *Enzyme and microbial technology*, 26(5-6), 406-413. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(99\)00164-7](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(99)00164-7).

- Yang, S., Li, J., Aweya, J. J., Yuan, Z., Weng, W., Zhang, Y., & Liu, G. M. (2020). Antimicrobial mechanism of Larimichthys crocea whey acidic protein-derived peptide (LCWAP) against Staphylococcus aureus and its application in milk. *International Journal of Food Microbiology*, 335, 108891.
- Yao, Q., Jin, X., & Heui, D.P. (2010). Comparison of Antioxidant Activities in Black Soybean Preparations Fermented with Various Microorganisms. *Agricultural Sciences in China*, 9, 1065-1071.
- Yildirim-Aksoy, M., Eljack, R., & Beck, B. H. (2020). Nutritional value of frass from black soldier fly larvae, *Hermetia illucens*, in a channel catfish, *Ictalurus punctatus*, diet. *Aquaculture nutrition*, 26(3), 812-819. <https://doi.org/10.1111/anu.13040>.
- Zhang, Q., Lan, G., Tian, X., He, L., Li, C., Tao, H., ...& Wang, X. (2022). Effect of adding *Bifidobacterium animalis* BZ25 on the flavor, functional components and biogenic amines of natto by *Bacillus subtilis* GUTU09. *Foods*, 11(17), 2674.
- Zheng, L., Hou, Y., Li, W., Yang, S., Li, Q., & Yu, Z. (2012). Biodiesel production from rice straw and restaurant waste employing black soldier fly assisted by microbes. *Energy*, 47(1), 225-229. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2012.09.006>.
- Zhu, Y. P., Fan, J. F., Cheng, Y. Q., & Li, L. T. (2008). Improvement of the antioxidant activity of Chinese traditional fermented okara (Meitauza) using *Bacillus subtilis* B2. *Food Control*, 19(7), 654-661. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.07.009>
- Zotta, T., Solieri, L., Iacumin, L., Picozzi, C., & Gullo, M. (2020). Valorization of cheese whey using microbial fermentations. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(7), 2749-2764. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10408-2>.

Annexes

Annexe 1 : Quelques photos de la première partie montrant le design expérimental

Un grillage (50 x 70x 90 cm) mis sur une table, couvert par une moustiquaire exposé à une source de lumière



Grillage couvert par une moustiquaire contenant une source d'eau, un attractif et des petites plaques en bois superposées serrées pour la ponte des œufs



Petites plaques en bois superposées serrées pour la ponte des œufs



Larves de cinq jours



Alimentation des larves de cinq jours par le marc de café et le lactosérum (doux, acide et fermenté)



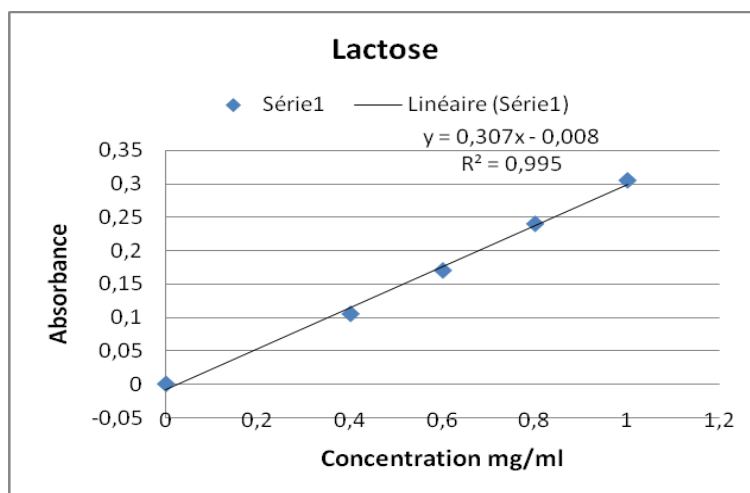
Suivi de la température et de l'humidité par un thermo-hygromètre



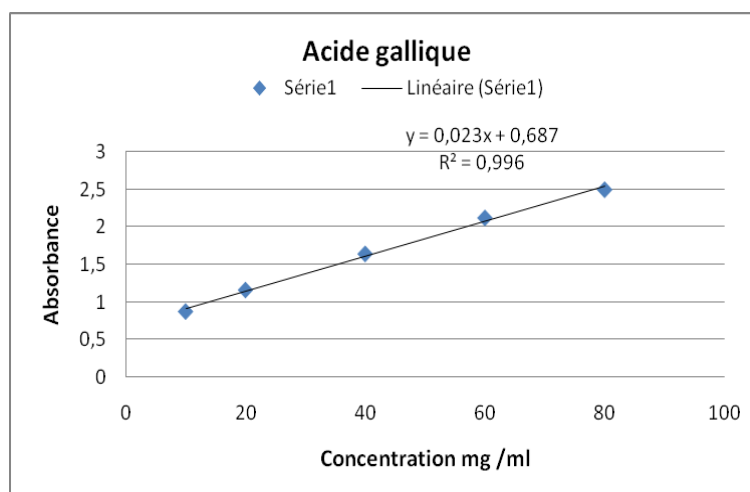
Caisse de nymphose et nymphes



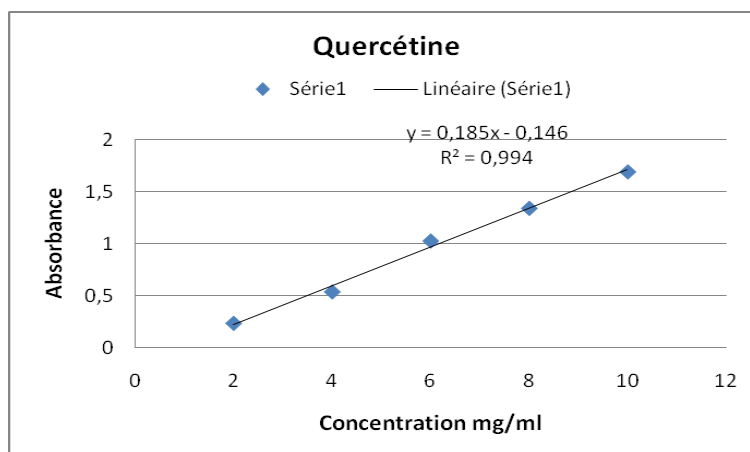
Séparation des larves du résidu



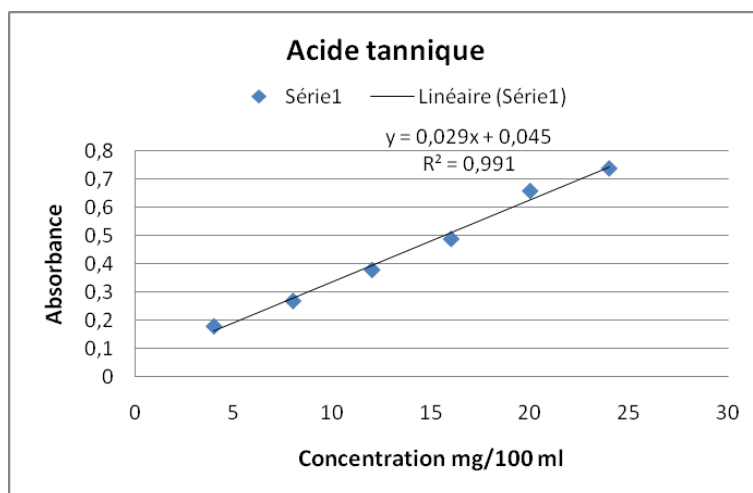
Annexe 2. Courbe d'étalonnage du lactose.



Annexe 3. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour dosage des polyphénols totaux.



Annexe 4. Courbe d'étalonnage de Quercétine pour dosage des flavonoïdes.



Annexe 5. Courbe d'étalonnage d'acide tannique pour dosage des tannins hydrosolubles.

Fiche d'évaluation sensorielle des boissons synbiotiques (A, B et C) à base du lactosérum, enrichies avec le lait de soja, édulcorées avec le sirop de datte et inoculées avec *Bacillus subtilis*

Num : Nom et Prénom : Grade : Date : ... / ... /

I.1. Préférence générale :

➤ Choisissez laquelle vous préférez par rapport à l'ensemble des caractères organoleptiques :

A B C

II.2. Paramètres ayant motivé la préférence générale :

- Trois échantillons de boissons synbiotiques à base du lactosérum codé A, B et C, vous sont présentés, il vous est demandé de les goûter successivement.
- Attribuer une note de préférence de 1 à 9 pour chaque échantillon selon votre appréciation comme présenté dans l'échelle ci-dessous :

Echantillons Descripteurs	A	B	C
Couleur			
Goût			
Texture			
Arome			
Acceptabilité globale			

- 1- Extrêmement dégoûtant
- 2- Très dégoûtant
- 3- dégoûtant
- 4- Assez dégoûtant
- 5- Ni dégoûtant ni plaisant
- 6- Assez plaisant
- 7- plaisant
- 8- Très plaisant
- 9- Extrêmement plaisant

« Merci pour votre participation »

RAPPORTS SCIENTIFIQUES

RAPPORTS SCIENTIFIQUES

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Dans le cadre de la préparation de cette thèse de Doctorat-LMD, une partie des résultats de notre travail a fait l'objet d'une publication scientifique internationale et a été présentée sous forme de communications orales dans trois congrès nationaux et un séminaire international.

PUBLICATIONS INTERNATIONALES

Nous avons publié un article dans une revue internationale catégorie B ; Journal of agriculture and applied biology

2024, Vol. 5, No. 1, 125 - 141

<http://dx.doi.org/10.11594/jaab.05.01.10>

E-ISSN: 2723-5106

L'intitulé ;

Hanafi, T., Meziane, K. Z., Megateli, S., Moussaoui, B., Guemou, L., & Reghioui, B. (2024). Bio-treatment of Cheese Whey by Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens*) reared in Algeria. *Journal of Agriculture and Applied Biology*, 5(1): 125-141. <http://dx.doi.org/10.11594/jaab.05.01.10>

COMMUNICATIONS INTERNATIONALES

Nous avons participé par des communications orales dans un séminaire international et deux congrès nationaux

Tahar HANAFI, Smain MEGATELI, Zoubida MEZIANE, Badreddine MOUSSAOUI, Laid GUEMOU, Bachir REGHIOUI Houari AOUALI, and Ahmed BENHALIMA; had participated in the scientific event **ISABI 2024** with an oral poster communication entitled :

« **Cheese whey bio-treatment with black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae reared in Algeria** »

1st International Seminar of Agri-Food and Industrial Biotechnology (ISABI, June 26-27th 2024) Djilali Bounaâma University of Khemis Meliana.

COMMUNICATIONS NATIONALES

1. HANAFI Tahar, MEGATELI Smain et MEZIANE Zoubida ; ont participé par une communication orale intitulée :

«Le lactosérum de fromage: procédés de valorisation et voies d'utilisation »

3^{ème} édition des Journées Scientifiques nationales sur l'Agro-Alimentaire (**JAGRO. 2021**) le 10 et 11 Décembre 2021. Saad Dahlab University-Blida 1.

2. HANAFI Tahar, MEGATELI Smain, MEZIANE Zoubida, MOUSSAOUI Badreddine, REGHIOUI Bachir, BAGHDAD Wafaa, BELKHADEM Khaoula et MEDJADI Imane; had participated in the scientific event (**JAGRO. 2024**) with an oral poster communication entitled:

«Formulation et suivi d'une boisson probiotique à base de lactosérum et de potiron»

5th edition of the Scientific Congress on Agro-food (JAGRO 5/2024) held on April 19th and 20th 2024, at Saad Dahlab University-Blida 1.

3. T. HANAFI, S. MEGATELI, Z. MEZIANE, B. MOUSSAOUI, L. GUEMOU, B. REGHIOUI, H. AOUALI, A. BENHALIMA et M. KHAN : ont participé par une communication orale intitulée :

«Chemical composition of frass (residue) derived from the treatment of cheese whey by Black Soldier Fly Larvae (BSFL) *Hermetia illucens*»

1^{ère} édition de la Journée Scientifique et Doctorale en Sciences Agrobiotechnologiques, Agroalimentaires et Ecologiques, 03 Juillet 2025, Bibliothèque Centrale, Université de Blida-1.

JOURNAL OF AGRICULTURE AND APPLIED BIOLOGY

2024, Vol. 5, No. 1, 125 - 141

<http://dx.doi.org/10.11594/jaab.05.01.10>

E-ISSN: 2723-5106

Research Article

Bio-treatment of Cheese Whey by Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens*) reared in AlgeriaTahar Hanafi^{1*}, Kaci Zoubida Meziane¹, Smain Megateli¹, Badreddine Moussaoui^{2,3}, Laid Guemou⁴, Bachir Reghioui⁵¹Laboratory of Sciences, Food Technology and Sustainable Development, Faculty of Natural and Life Sciences, Saad Dahlab Blida-1 University, BP 270, 9100 Blida, Algeria²Laboratory of Beneficial Microorganisms, Functional Food and Health, Faculty of Natural and Life Sciences, Abdelhamid Ibn Badis University, 27000 Mostaganem, Algeria³Laboratory of Plant Physiology Applied to Soilless Crops, Faculty of Natural Sciences and Life, Ibn Khaldoun University, 14000 Tiaret, Algeria⁴Laboratory of Improvement and Promotion of Local Animal Productions, Faculty of Natural and Life Sciences, Ibn Khaldoun University, BP 78, 14000 Tiaret, Algeria⁵Faculty of Natural and Life Sciences, Ibn Khaldoun University, BP 78, 14000 Tiaret, Algeria

Article history:

Submitted 07 May 2024

Accepted 15 June 2024

Published 25 June 2024

Keywords:

Bioconversion

Dairy by-product

Insect-based waste management

Spent coffee ground

Sustainable agriculture

*Corresponding author:

E-mail:

hanaafi14@gmail.com

Abstract

Whey, a by-product of cheese industry, poses environmental challenges when discharged untreated. This study aimed to mitigate whey pollution and transform it into value-added products using black soldier fly larvae (BSFL). By investigating whey effects on BSFL growth and performance, an innovative waste management strategy was explored. The five-old-day larvae were fed with four diets; dry spent coffee ground (SCG) as the control diet, while SCG wetted with acid, sweet and fermented whey were the test diets. The results showed that whey types increased significantly ($p < 0.05$) BSFL growth compared to the control, the dry weight (53.83 ± 0.49 Vs 25.10 ± 0.18 mg/larva), growth rate (1.59 ± 0.06 Vs 0.44 ± 0.01 mg/day) and survival rate (78.83 ± 1.25 Vs 68.50 ± 1.5 %) of larvae and reduced their development time (28.00 ± 01 Vs 37.00 ± 01 day). Furthermore, mixing SCG diet with whey enhanced positively their performance by increasing the waste reduction (26.73 ± 0.81 Vs 16.87 ± 0.37 %), waste reduction index (0.85 ± 0.03 Vs 0.45 ± 0.01 %/day), approximate digestibility (36.49 ± 1.52 Vs 20.29 ± 0.53 %) and bioconversion rate (17.94 ± 0.47 Vs 11.65 ± 0.52 %). Adding whey to SCG diet increased protein content of BSFL (40.11 % vs. 34.18 %) and reduced fat (36.06 vs. 37.87 %) in dry mass. Whey also improved the composition of frass by increasing the phosphorus and total nitrogen levels. This approach demonstrates a sustainable solution for dairy industries waste, contributing to the circular economy and offering potential applications in animal feed and fertilizer production.

How to cite:

Hanafi, T., Meziane, K. Z., Megateli, S., Moussaoui, B., Guemou, L., & Reghioui, B. (2024). Bio-treatment of Cheese Whey by Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens*) reared in Algeria. *Journal of Agriculture and Applied Biology*, 5(1): 125 - 141. doi: 10.11594/jaab.05.01.10

1. Introduction

In the world, dairy industries are the main agri-food manufacturing that generates a large amount of wastewater and causes a lot of damage to the environment by generating different kinds of liquid effluents (Domingos et al., 2017). One of the most potential pollutants of them is cheese whey, a by-product of cheese industry, rich in organic matter (lactose, protein and lactic acid), mineral elements and a large amount of microorganisms (Sommella et al., 2016). Whey causes a great environmental impact if it is released untreated in nature and it is considered as an enormous economic lost (Papargyropoulou et al., 2014; Yadav et al., 2015). Furthermore, it is estimated that the production of 1 kg of cheese discharges approximately 10 litres of whey (Pires et al., 2021). Its global annual production reached a massive amount about 200 million tonnes in 2016 with a linear increase of 3 % per year (Domingos et al., 2018).

Algeria like several countries in the world experienced notable development in the dairy sector with the non-existence of an enhancement of whey which poses a problem and become a challenge for the dairy industry to reduce its dangerous impact on the environment (Acem et al., 2019; Pires et al., 2021). The treatment of this bio-waste is necessary in order to respond to a double problem; an environmental issue and an economic loss through developing a new creative way of rehabilitating whey as a value-added product (Papargyropoulou et al., 2014; Salomone et al., 2017). The management of whey became a challenge for dairy industry to reduce its hazardous impact on ecosystems (Barba, 2021; Bosco et al., 2018). Algeria has enacted several laws in order to protect the environment, which is reflected in (Journal officiel de la république algérienne démocratique et populaire n°77, Loi n° 01-19, 2001). It obliges factories and companies to manage their solid and liquid effluent wastes. The recovery and/or disposal of waste must be carried out in conditions that comply with environmental standards, in particular without: put in danger the health of people and animals and without posing a risk to water resources, soil or air, nor to fauna and flora (Journal officiel de la république algérienne démocratique et populaire n°77, Loi n° 01-19, 2001).

There are many techniques for cheese whey recovery but most of them are highly expensive (Papargyropoulou et al., 2014). Current whey management practices often face inefficiencies in disposal, resource use, and environmental impact. These limitations emphasize the urgent need for innovative solutions that can revolutionize whey management and maximize its potential impact. Implementing advanced technologies such as biorefining, anaerobic digestion, and whey valorization can not only mitigate waste but can also generate valuable products such as biofuels, functional ingredients, and bioplastics (de Albuquerque et al., 2020; Yadav et al., 2015). Adopting these innovative approaches holds the promise of transforming whey from a costly by-product into a valuable resource, benefiting both industries and the environment (Lappa et al., 2019; Pescuma et al., 2015; Zotta et al., 2020).

It is estimated that insect-based food waste treatment, particularly black soldier fly larvae (BSFL) *Hermetia illucens* (Linneus 1758) (Diptera: Stratiomyidae), is progressively more recognized as an environmentally friendly and low-cost method of installation and recycling. The treatment of bio-waste by these larvae has received considerable attention in latest years (Magee et al., 2021). According to the literature, BSL larvae have shown promise in managing various organic wastes including by-products (Hadj Saadoun et al., 2020), spent coffee ground (Permana & Ramadhani, 2018; Fisher et al., 2021), animal manures (Oonincx et al., 2015a; Rehman et al., 2017a), human faeces (Banks et al., 2014) and vegetable waste (Sprangers et al., 2017; Parra Paz et al., 2015). Moreover, the rapid breakdown of waste by the larvae and the resulting compost has strong potential as a sustainable alternative to traditional composting methods, with the added benefits such as suppressing plant pathogens present in soil (Dehliz et al., 2023; Widyastuti et al., 2021).

In the light of the above, the study aim was to assess the ability of *Hermetia illucens* to manage and bioconvert whey into useful products with low cost aligns well with the broader goals of environmental protection and economic sustainability. By other words, the effect of supplementing acid, sweet and fermented whey to spent coffee ground (SCG) diet on the growth and performance of BSF larvae as well as their potential in convert them into biomass rich in protein and fat for animal feed, and frass used as fertilizer.

2. Materials and methods

2.1. Animal materials and substrates

Black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L. 1758) were obtained from a colony of a small facility for the rearing of black soldier fly located in the city of Oued souf in south-eastern Algeria.

Four distinct substrates were utilized to feed Black Soldier Fly (BSF) larvae in the experiment. Firstly, chick starter feed was purchased from the FabGrain Company (Tiaret city, Algeria), used to feed the five days old larvae. Secondly, damaged fruits and vegetables were obtained from a local market in Tiaret city, were cut into small pieces of 0.5-1 cm and used for the preliminary preparation of larvae for experimentation. Thirdly, acid whey was obtained from Sidi Saada dairy (Relizane city, west of Algeria) while sweet whey was obtained from El Manbaa dairy (Saida city, west of Algeria). The fermented whey was obtained by incubating sweet whey at 37° C for 24 hours (Boudjema et al., 2009). The samples were transported under 4° C and must be used the day after their arriving to laboratory. Lastly, spent coffee ground was collected from Elbahdja Cafeteria located in Tiaret city, being completely dried at room temperature ($28 \pm 2^\circ \text{C}$) and kept in freezer (-25°C).

2.2. Experimental design

Preliminary preparation of larvae

10-12 days old BSF larvae were placed in a plastic box (60 x 40 x 12 cm) (Length x width x height) and kept in a small room (3 x 2 x 3 m) in laboratory under conditions ($29 \pm 2^\circ \text{C}$, 45 ± 11 % relative humidity and L12:D12 photoperiod). They were provided with damaged fruits and vegetables mixed with chick starter feed. When the majority of larvae transformed into pupa; characterized by a black colour of its cuticle, contrary to the larvae which have a white colour (May, 1960), they were placed in a new box (pupation container) containing carpentrywaste in the obscurity. The box was covered by a dark cage connected to a mesh (70 x 50 x 90 cm) serving as a transition space for pupae after they undergo metamorphosis (transforming of pupae into an adult fly). The mesh was exposed to a light source at a distance of about 60-70 cm and provided with water and an attractive containing fermented fruits and vegetables mixed with poultry feed in order to attract adult fly to lay their eggs in the eggie (this system was designed to facilitate the collection of BSF eggs). At each leg of the table, a container filled with water and drops of detergent was used as ant traps to safeguard BSF boxes and mesh from ant invasion (Dortmans et al., 2021).

Feeding of five-day-old-larvae (5-DOL)

After fly laying, the eggs < 24-hours-old were collected and placed over a strainer with four feet in a box using the method described by Dortmans et al. (2021) under the same previous conditions. After hatching, the new larvae fall directly onto the substrate and feed until they reach five days.

The feeding boxes containing the broiler chick starter feed (30 % dry matter, 70 % moisture) wetted with water as control (SCG), sweet whey (SCG+SW), acid whey (SCG+AW) and fermented sweet whey (SCG+FW).

BSF larvae rearing

The rearing of the black soldier fly (BSF) was done according to the method of [Dortmans et al. \(2021\)](#). Five days old larvae divided into four lots of 200 placed in plastic containers (11.5 x 9 x 4 cm) containing 30 % of dry spent coffee ground damped with 70 % of water as control diet, or sweet whey, acid whey and fermented sweet whey as test. Three replicates were made per treatment. The amount of added food was provided each five days with an average of 200 mg/larva/day ([Manurung et al., 2016](#); [Permana & Ramadhani, 2018](#)).

BSF larvae traits

The BSF larvae were harvested after observing the first pre-pupa. From each container, all harvested larvae were counted and washed under running distilled water to remove residues, and their integuments were dried with paper towels. The dry mass of larvae was dried in an oven at 70° C to constant weight then kept in freezer at -25 °C.

To assess the efficiency of BSF larvae and reduction of substrates, many parameters were calculated:

- Survival rate (SR) was calculated to determine the feed effect following the equation below ([Diener et al., 2009](#)):

$$\text{Survival rate (SR)} = (\text{survival larvae numbers} \times 100) / \text{initial larvae numbers}$$
- Growth rate of larvae (GR) was calculated by Diener's formula ([Diener et al., 2009](#)):

$$\text{Growth Tate (GR)} = (\text{initial dry weight} - \text{final dry weight}) (\text{mg}) / \text{time (days)}$$
- Approximate digestibility was calculated according to [Permana and Ramadhani \(2018\)](#)

$$\text{Approximate digestibility (AD)} = (\text{Substrate-Residue}) (\text{g}) \times 100 / \text{Residue (g)}$$
- Waste Reduction Index (WRI) was measured according to [Diener et al. \(2009\)](#):

$$\text{Waste Reduction Index (WRI)} = \text{Waste Reduction} / \text{Time}$$

$$\text{Waste Reduction (WR)} = (\text{Substrate-Residue}) (\text{g}) \times 100 / \text{Substrate (g)}$$
- The ability of BSF Larvae to convert substrates into their biomass was calculated by Biomass Conversion Rate (BCR) and Feed Conversion Rate (FCR) with the formula below ([Rehman et al., 2017b](#)):

Biomass Conversion Rate (BCR) = [BSF Larvae biomass (g) / substrate consumed (g)] x 100

Feed Conversion Rate (FCR) = substrate consumed (g) /BSF Larvae biomass (g)

2.3. Chemical analysis of substrates, biomass and frass

Sweet, acid, fermented whey, dry spent coffee ground, dry harvested BSF larvae and frass were stored in freezer (-25° C) until their analyses. The biochemical composition of the BSF larvae, dry spent coffee ground and frass was analysed on dry mass basis, however sweet, fermented and acid whey were analysed on liquid basis.

Relative humidity was calculated using method of ([AOAC, 2005, Method 930.15](#)), ash was determined according to [AOAC, 2005, Method 942.05](#) procedure, titratable acidity was found by [Mathieu \(1998\)](#), PH by PH/ORP meter (HI 2211, HANNA Instruments Inc , Woonsocket-USA), electrical conductivity by conductivity meter (EC 214, HANNA Instruments Inc , Woonsocket-USA), crude fat was calculated according to [AOAC, 2005, Method 2003.05](#), crude fibre was determined according to [AOAC, 2005, Method 978.10](#) procedure, lactose by method of ([Dubois et al., 1956](#)), phosphorus by method of ([Pansu & Gauthierou, 2006](#)), Organic carbon was determined by ([Nelson & Sommers, 1983](#)). Total nitrogen was calculated by Kjeldahl Copper ([AOAC, 2012](#),

Hanafi et al., 2024 / Bio-treatment of Cheese Whey by Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens*) reared in Algeria

Method 2001.11), crude protein of BSF larvae was calculated by multiplying total nitrogen to 6.25 (Rumpold & Schlüter, 2013; Janssen et al., 2017). Whey proteins were calculated by method of Lowry et al. (1951).

2.4. Statistical analysis

The statistical analysis of all assays carried out in triplicate was performed with IBM SPSS statistic v 16.0 for Windows. Averages \pm standards deviation were used to present data in this study. One-way ANOVA was used after pre-confirmation of the homogeneity of variance. If significant differences were noticed at $p < 0.05$ (when the results are too far, you go until 0.0001), then a Tukey's post-hoc test was performed to determine differences between the treatments.

3. Results

3.1. Biochemical composition of substrates

The nutritional content of the three types of whey is shown in (Table 1). Sweet whey had higher lactose and protein than acid and fermented whey, making it more nutritionally concentrated compared to acid whey. However fermented whey had the highest levels of lactic acid and therefore the lowest pH values. The differences in nutritional content can be attributed to the type of processing and the specific components removed during the production of each type of cheese (Božanić et al., 2014).

Table 1. Biochemical composition of acid, sweet and fermented whey

Nutritional Content	Acid whey	Sweet whey	Fermented sweet whey
Dry matter (g/l)	64.96 \pm 0.29	68.91 \pm 0.39	ND
Proteins (g/l)	6.21 \pm 0.32	6.92 \pm 0.18	ND
Lactose (g/l)	44.57 \pm 0.35	49.6 \pm 0.43	ND
Fat (g/l)	1.30 \pm 0.22	1.57 \pm 0.36	ND
Lactic acid (g/l)	3.23 \pm 0.16	1.08 \pm 0.08	4.46 \pm 0.15
Ash (g/l)	7.91 \pm 0.35	7.08 \pm 0.26	ND
PH	4.66 \pm 0.12	6.09 \pm 0.16	4.06 \pm 0.1

ND=Not detected.

The Table 2 recapitulates information about the nutritional content of spent coffee ground. The results showed a proteins rate of 14.22 % which expressed a low protein /carbohydrate ratio of 1/4, along with a high crude fibre and crude fat levels. The pH of spent coffee grounds was slightly acidic.

Table 2. Spent coffee ground nutritional content on dry matter basis

Nutritional Content	Spent Coffee Ground
Ash	1.59 \pm 0.05
Crude proteins	14.22 \pm 0.32
Crude fat	13.29 \pm 0.57
Crude fibre	19.16 \pm 0.31
Total carbohydrate	61.58 \pm 0.85
Ratio proteins to carbohydrate	1/4
PH	5.32 \pm 0.13

3.2 Effect of supplementation of different types of whey diet on dry weight mass, development time, survival rate, and growth rate of BSF larvae

This study showed that the addition of acid, sweet and fermented whey to spent coffee ground diet had high significant effect on the growth and the performance of black soldier fly larvae.

Dry weight mass

The use of different types of whey in diet with SCG had high significant effect on increasing of the final dry weight of black soldier fly larvae ($P < 0.0001$) (Figure 1). The BSF larvae in FW+SCG feeding were significantly the heaviest (53.83 ± 0.49 mg/larva) compared to those fed with other diets. However, SCG-fed larva had significantly the lowest dry weight with 25.10 ± 0.18 mg/larva only. There was no significant difference in final dry weight of larvae between larvae fed with SW+SCG and AW+SCG ($P > 0.05$). Overall, the dry weight of larva fed with different whey combinations (AW+SCG, SW+SCG and FW+SCG) was approximately double that of the dry weight larva fed only with SCG.

Development time

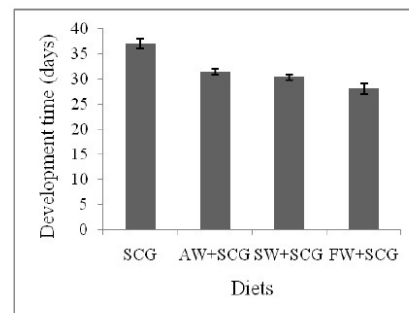
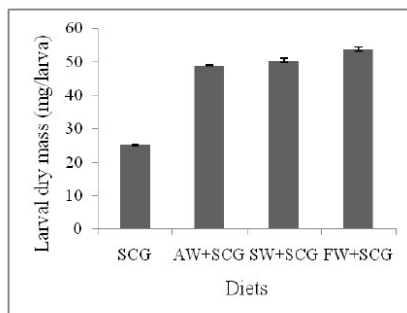
The results showed a significant difference of time needed for the development of larvae between the control diet and the other diets ($P < 0.0001$). The larvae nourished with AW+SCG, SW+SCG, and FW+SCG grew substantially faster than those of control diet SCG which had the longest development time by (37.00 ± 01 days). The shortest development time was in BSF larvae fed at FW+SCG (28 ± 01 days) (Figure 1).

Survival rate

Concerning the survival rate of BSF larvae, results confirmed a significant difference between SCG diet and the SCG diet supplemented with whey ($P < 0.0001$). However, the survival rate in presence of different whey classes was approximately similar ranging from 77 to 78.83 % (Figure 1).

Growth rate

Identically, a significant lower growth rate ($P < 0.0001$) was observed with pure SCG diet against the three whey-enriched SCG diet. The most relevant growth rate ($p < 0.05$) was noted with FW+SCG association (Figure 1).



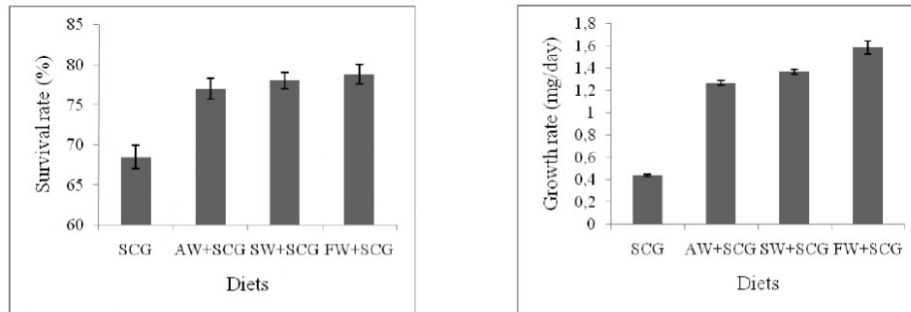


Figure 1. Larval Growth based on mean (\pm SD) larval weight, development time, survival rate and growth rate of BSF larvae fed with SCG; Spent Coffee Ground, AW+SCG; Acid Whey with Spent Coffee Ground, SW+SCG; Sweet Whey with Spent Coffee Ground, FW+SCG; Fermented whey with Spent Coffee Ground

3.3 Effect of supplementation of different types of whey diet on performance of BSF Larvae

Substrate reduction and waste reduction index

The supplementation of different types of whey to the spent coffee ground diet increased significantly the performance of BSF larvae (Figure 2). The substrate reduction (SR) refers to the ability of larvae to reduce organic matter of substrates while the waste reduction index (WRI) represents the SR by time. The percentage of substrate reduction was significantly different between larval diets ($P < 0.0001$). With regard to whey's category, all supplemented regimes were more efficient by giving a higher dry matter reduction ranging from 22.98 ± 0.42 to 26.73 ± 0.81 %. The latter representing the peak value was recorded for the FW+SCG diet. Furthermore, the same highly significant superiority ($P < 0.0001$) of whey diets (up to 0.85 ± 0.01) over the control (0.45 ± 0.01) was noted for the waste reduction index (WRI), without a statistical difference between all test treatments (Figure 2).

Biomass Conversion Rate, Approximate Digestibility and Feed Conversion Rate

Biomass Conversion Rate (BCR) defines the efficiency of larvae to convert the digestive feed into its biomass. Hence, BCR value has a relation with the Approximate Digestibility value (AD) that reveals the amount of food assimilated by larvae (Permana & Ramadhani, 2018). What is more, BCR and AD of larvae fed with whey treatments were significantly greater than those reared at the SCG diet ($P < 0.0001$), respectively. The FW+SCG diet had the most remarkable impact on both qualities; AD (36.49 ± 1.52 %) and BCR (17.94 ± 0.47). On the other hand, significant differences ($P < 0.0001$) in Feed Conversion Rate (FCR) were found among diets (Figure 2). The FCR value of the control diet averaged 8.59 ± 0.38 was significantly the highest value.

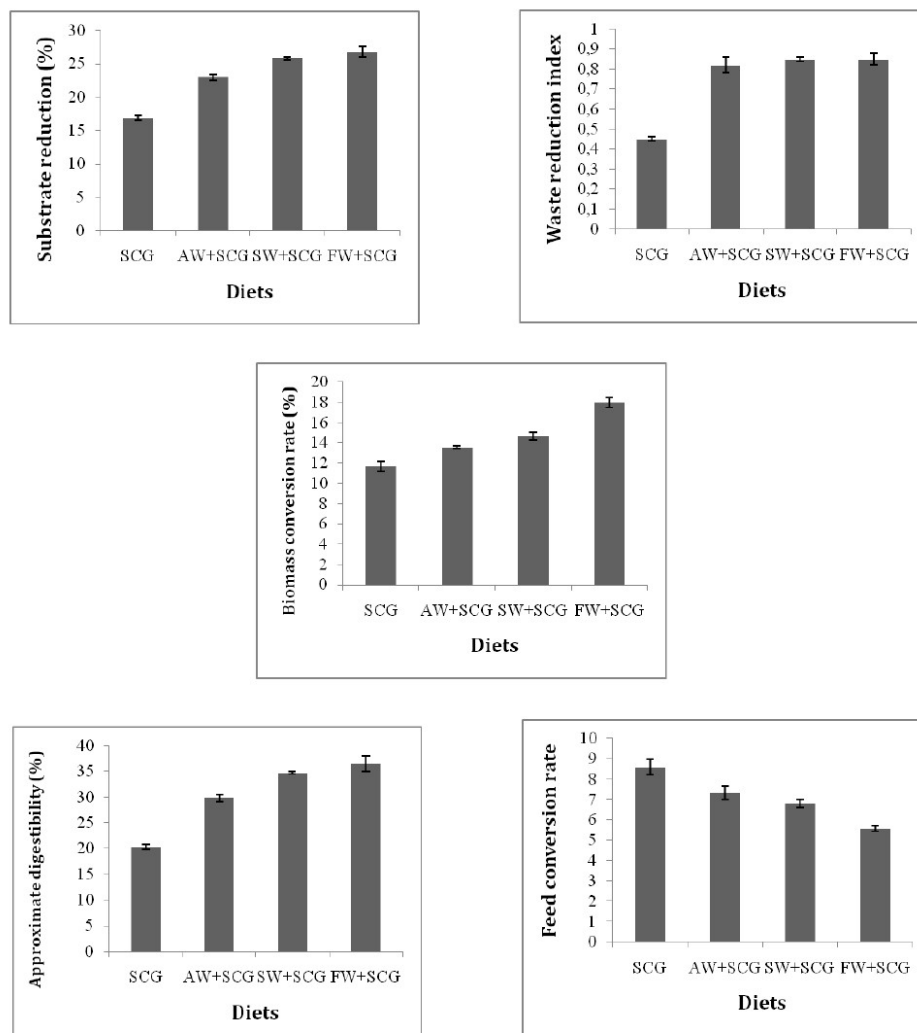


Figure 2. Larval performance based on mean (\pm SD) Substrate Reduction (SR), Waste Reduction Index (WRI), Approximate Digestibility (AD), Biomass Conversion Rate (BCR) and Feed Conversion Rate (FCR)

3.4 Nutritional content of BSF larvae

The protein content of BSF larvae was significantly affected in a positive manner by the integration of different types of whey to SCG diet ($P < 0.0001$) (Table 3). Overall, the types of whey added to SCG diet enhanced significantly, but with slight differences, the ability of BSF larvae to produce more protein ranged from 38.22 ± 0.38 to 40.11 ± 0.40 % than those fed at SCG (34.18 ± 0.59 %).

%). Inversely, the BSF larvae fed at SCG without whey produced significantly the highest fat content ($P < 0.0001$) reaching 37.87 ± 0.24 % (Table 3). The obtained results for fat content produced by larvae was similar for all SCG whey mixtures. Larvae fed at FW+SCG had the maximum crude fibre content (11.21 ± 0.43 %), where those fed at SCG had the minimum values (5.55 ± 0.38 %). Numerically, the ash content of larvae fed at SCG with whey was around 07 %, however for those fed only at SCG, it was about 5.46 ± 0.26 %.

Table 3. Mean (\pm SD) nutritional content percentage of BSF larvae in dry mass fed with SCG diet, AW+SCG, SW+SCG, and FW+SCG

Diets	Dry mass	Crude protein	Crude fat	Crude fibre	Ash
SCG	31.41 ± 0.34	34.18 ± 0.59	37.87 ± 0.24	5.55 ± 0.38	5.46 ± 0.26
AW+SCG	35.74 ± 0.57	39.15 ± 0.25	35.18 ± 0.31	11.21 ± 0.43	7.03 ± 0.30
SW+SCG	36.06 ± 0.37	40.11 ± 0.40	35.53 ± 0.11	8.38 ± 0.37	7.09 ± 0.22
FW+SCG	37.16 ± 0.22	38.22 ± 0.38	36.06 ± 0.26	9.92 ± 0.37	6.92 ± 0.08

SCG; Spent Coffee Ground, AW+SCG; Acid Whey with Spent Coffee Ground, SW+SCG; Sweet Whey with Spent Coffee Ground, FW+SCG; Fermented whey with Spent Coffee Ground

3.5. Chemical composition of frass

The addition of whey to SCG diet affected slightly the chemical composition of frass (Table 4). The dry mass of residue in SCG diet was the noticeable value (84.99 ± 1.58 %), while the addition of whey fraction of various nature lowered it to an extent between 79.82 ± 1.04 to 82.08 ± 1.88 %. This frass contained a high organic matter spanning from 97.76 ± 0.23 to 96.34 ± 0.52 %. Furthermore, Organic Carbon content of frass was approximately similar for all treatments with a top value of 6.46 ± 0.15 % for AW+SCG diet. Likewise, there were no noticeable differences in carbon, total nitrogen and carbon to nitrogen ratio among residues of larvae fed at SCG alone or with whey. On the other hand, the supplementation of whey to SCG diet affected favourably the amount of ash content and available phosphorus of frass; their values were respectively up to (3.64 ± 0.15 % and 66.37 ± 0.24 ppm) for AW+SCG diet, in comparison to those fed only at SCG (2.24 ± 0.09 % and 37.12 ± 0.23 ppm). In regard to Electrical conductivity, the results were also increased by the presence of whey in diet, ranging from 2.37 ± 0.09 to 2.51 ± 0.11 mS.cm⁻¹, and affording a shift of 1 mS.cm⁻¹ compared to SCG diet (1.59 ± 0.09). Finally, the final PH of frass was somewhat neutral to basic.

Table 4. Chemical composition of frass in dry matter

Chemical Composition	SCG mean \pm SD	AW+SCG mean \pm SD	SW+SCG mean \pm SD	FW+SCG mean \pm SD
DM%	84.99 ± 1.58	80.95 ± 1.32	79.82 ± 1.04	82.08 ± 1.88
Ash%	2.24 ± 0.09	3.64 ± 0.27	3.12 ± 0.17	2.94 ± 0.25
OC %	6.42 ± 0.22	6.46 ± 0.15	5.99 ± 0.30	6.23 ± 0.15
TKN %	0.340 ± 0.0	0.363 ± 0.0	0.357 ± 0.0	0.351 ± 0.0
C:N ratio	18.44 ± 0.68	17.77 ± 0.19	16.93 ± 0.59	17.79 ± 0.30
AP (ppm)	37.12 ± 0.23	66.37 ± 0.24	60.02 ± 0.40	59.41 ± 0.22
EC mS cm ⁻¹	1.59 ± 0.09	2.51 ± 0.11	2.37 ± 0.09	2.42 ± 0.21
PH	7.1 ± 0.04	7.60 ± 0.04	7.40 ± 0.11	7.31 ± 0.08

DM; dry matter, OC; organic carbon, TKN; total Kjeldhal nitrogen, C: N Carbone to nitrogen ratio, AP; available phosphorus, EC; electrical conductivity, PH; potential of hydrogen

4. Discussion

4.1. Effect of whey supplementation to spent coffee ground diet on BSF larvae growth

This study showed that BSF larvae have the ability to manage and digest whey with SCG diets. Furthermore, the results showed clearly a huge significant positive effect of whey addition to the SCG diet on growth of BSF larvae.

The mixing of whey with SCG diet increased significantly the final dry weight of BSF larva (53.83 ± 0.49 mg); it was approximately similar with those fed with poultry feed (55.6 mg) found by Gold et al. (2020). Even, the larvae fed only at SCG had the longest period for their growth by (37.00 ± 01 days) comparably with that found by Permana and Ramadhani (2018) and Manurung et al. (2016) by around 38 days, nevertheless, the addition of whey on this control diet shortened the time needed for their development significantly by 9 days in the best cases. For the survival rate, its value of BSF larvae fed with SCG was far more than those fed with the same substrate in the recent study of Fischer et al. (2021) by (45.13 ± 10.2 %), and this gap was accentuated by mixing SCG with different types of whey (78.83 ± 1.25 %) in a resembling way to the larvae fed at artificial feed in the work of Oonincx et al. (2015b) by (77 %). In addition, larvae growth rate was another parameter modulated by whey's inclusion to SCG diet. It was significantly heightened vis-à-vis those fed at SCG alone. The growth rate in this study was lower than that found by Gligorescu et al. (2020) (1.59 ± 0.06 compared to 1.6 to 2.8 %). BSF larvae fed only on SCG grew slowly, had the lowest final dry weight, had the least survival rate, and growth rate. It may be caused by nutritional content of spent coffee ground that contains high amount of fibre, and low protein to carbohydrates rate. Indeed, it was previously confirmed that BSF larvae did not digest well fibre (Li et al., 2015; Permana & Ramadhani, 2018). Furthermore, unbalance ratio of protein to carbohydrate affected the growth, feed intake and prolong time development of larvae (Nation, 2008). It could be due to another factor which is the negative impact of the hardness of SCG and their evaporation caused by the increase of room temperature which was ranging from 27 to 31° C, and as a result relative humidity decreased to reach 35 %. In addition, what was observed in this study that the drying of substrates obstructed the locomotion of larvae through the feed, and thus, it could reduce the nutrient availability and the growth of larvae. For this reason, a small volume of distilled water was added and shaking of containers was done every day to avoid the drying of substrates. Manurung et al. (2016); Oonincx et al. (2015a) and Rehman et al. (2017a) reported that the optimum temperature and relative humidity were 27-28° C and 60-70 %, respectively. According to Gobbi et al. (2013), high drying of feed caused by evaporation had a negative effect on growth of BSF larvae. Regard to different types of whey effect, growth of larvae was affected dramatically positive by the combination of whey with SCG diet. Hence, they grew fast, had a high final dry weight, the highest survival rate and growth rate. It may be caused by the richness of whey nutritional content. As mentioned above, whey contains an important amount of organic matter as lactose, protein and lactic acid. Therefore, whey's protein could enhance positively the nutritional value of SCG diet for larvae, that is why its effect was positively reflected on their growth parameters. In addition, a recent study showed that the supplementation of nitrogen to high-fibre diet increased significantly larval growth and consumption of substrate by BSF larvae (Palma et al., 2019).

Among the diets added with whey, this study showed that BSF larvae fed at SCG diet with fermented whey had the highest significant final dry weight, the most growth rate and short development duration. This could be affected by the quality and quantity of sweet whey fermentation products, such as lactic acid, and the likelihood of obtaining free soluble nutrients after fermentation including available amino acids, monosaccharides, perhaps minerals or even bacterial metabolites. A recent study by Gebiola et al. (2023) confirmed that the fermented substrates had a positive effect on growth of BSF larvae. They used bokashi-fermented as substrates for the rearing of

BSF larvae. Their results illustrated that bokashi-fermented diet increased final dry mass, the growth rate, and reduce the development time of larvae.

4.2. Effect of supplementation of different types of whey diet on performance of BSF Larvae

It is noticeable that the use of whey with SCG diet improved significantly the performance of BSF larvae. In fact, this was reflected positively on the reduction of dry matter by BSF larvae compared with the control diet (Figure 2). This study showed that the substrate reduction was lower than found in other studies, namely, the research of Miranda et al. (2019) in which it ranged from 30-48 % and that of Rehman et al. (2017a) where it reached 72 %, both using different types of manure. The evaporation of spent coffee ground may make it difficult for larvae to pass through feed. According to Gobbi et al. (2013), this incident happened quickly in small container and less quantity of substrates. Consequently, the access of larvae to feed was diminished. Gligorescu et al. (2018), Permana and Ramadhani (2018) and Myers et al. (2014), stated that decrease of moisture could influence negatively the performance of BSF larvae.

The AD (approximate digestibility) values were increased when the BSF larvae fed at SCG diets were added with different types of whey, especially with the fermented one, able to double almost the reference threshold of control regime (a difference of 16.20 ± 0.99). On the other hand, Palma et al. (2019) found that the AD value was decreasing inversely to increasing of the amount of substrate. This study illustrated that the addition of whey to SCG diet augmented the assimilation of nutrient by larvae; it could be related to the rise of lactose, protein and lactic acid content enhancing the nutritional value of diet. In addition, AD values of larvae fed at FW+SCG was obviously higher than those fed at AW+SCG and SW+SCG. This it may be due to the excessive amount of lactic acid and other fermentation products present in fermented sweet whey in which more nutrients were assimilated by larvae. Not far from, BCR values of larvae fed at SCG diet in this study was higher than that of Permana and Ramadhani (2018) for the same substrate (11.65 ± 0.52 against 2,71 to 5 %) or even than results of Manurung et al. (2016) for rice straw (6.11 to 10.85 %). Yet, it stilled significantly the lower most when compared with those enriched with whey ranging from (13.55 ± 0.11 to 17.94 ± 0.47 %). Although, these results were lower than those found by Diener et al. (2009) and Romano et al. (2021) by using chicken feed and sweet potato, spent coffee or dough as substrates, respectively. All in all, BSF larvae fed at SCG with whey converted more digested feed into their biomass. Therefore, it could be included that the major amount of lactose, protein and lactic acid offered by whey, passed into the larvae's intestines, was assimilated and transformed into biomass. Perhaps a surplus of these nutrients, logically more suitable than spent coffee ground nutrients, is conferred more quantity at a better quality.

Despite previous observations, FCR values of larvae fed only at SCG were exceptionally and significantly higher than those fed at SCG added with whey. It was comparable with those fed at fruit and vegetable waste found by Giannetto et al. (2019) by (9.29). For larvae fed at SCG with whey, FCR values were in agreement with (Rehman et al., 2017b) by (5.56 to 7.86). FCR values could be influenced by the substrate consumed by larvae. Therefore, while the BCR values were increasing, the FCR values were decreasing. This may be caused by the poor nourishing value of SCG diet compared to that added with whey. Thus, it is possible that whey could rectify the nutritional imbalanced of diets. Gligorescu et al. (2020) and Giannetto et al. (2019) examined the high FCR values with the low BCR value. They discussed that the high FCR values indicate an ease of digestion of the most amounts of substrates but with an excessive excretion caused by the low quality of their nutrients. Their results agreed with the findings in this study when larvae were fed only at SCG and proved the positive effect of adding whey to SCG diet for BSF larvae. Overall, the supplementation of whey to SCG diet may enhance the performance of BSF larvae.

4.3. Nutritional content of BSF larvae

BSF larvae can convert a variety of organic material into a protein and fat-rich biomass (Wang & Shelomi, 2017). The quantity and quality of substrates have an impact on body biomass of larvae (Nguyen et al., 2015). In this study, BSF larvae fed at SCG diet alone had significantly the lowest protein content compared to those fed with SCG and whey. Permana and Ramadhani (2018) found the similar protein content of BSF larvae fed at the same substrate. However, the addition of whey to SCG diet increased highly their protein content to reach about $(40.11 \pm 0.40 \%)$. This is align with the findings of Gold et al. (2020), Sprangers et al. (2017) and Nyakeri et al. (2017). For larvae fed at SCG, the diet was unbalanced owing to its carbohydrates proportion outweighing its protein fraction which might avoid larvae to digest and convert efficiently the nutrients into protein biomass. In addition, the supplementation of whey to SCG diet improved the larvae's protein content compared to those fed at crude SCG. Herein, the enhancement of nutritional content could be suggested to ameliorate the effectiveness of diet conversion into protein biomass. The concentration of nutrients (protein, lactose, lactic acid) in whey seems to bring a certain balance to the diet. In contrast to protein content, fat content of larvae fed only at SCG was the highest values by $(37.87 \pm 0.24 \%)$. These found values clearly concur with that found by Fischer et al. (2021) when larvae fed at spent coffee ground. Furthermore, Barragan-Fonseca et al. (2017) reported that larval lipid was ranging from 7 to 39 % and varied across different diets. The high values of fat content of larvae could be resulted by the unbalanced nutrient concentration of SCG diets, especially their high content of crude carbohydrates to protein ratio. Consequently, it led larvae to accumulate more fat than protein content into their biomass. Gold et al. (2018) suggested that the substrate carbohydrates influence the BSF larvae fat content. Moreover, according to Pimentel et al. (2017), larvae converted carbohydrates into lipid biomass and stored it as fat body. Basically, Barragan-Fonseca et al. (2017) discussed that larval body composition can be influenced by biotic and abiotic factors. This study was conducted in a period of high temperature ($27-31^{\circ}\text{C}$) and low relative humidity ($45 \pm 11 \%$). These conditions are unfavourable for BSF larvae growth and performance (Permana & Ramadhani, 2018). Hence, BSF larvae fed at low-protein and high-carbohydrate diets gained higher fat biomass in comparison to those fed at diets more balanced in carbohydrates and protein (Barragan-Fonseca, 2018).

4.4. Chemical composition of frass

The frass of *Hermetia illucens* is a mixture of undigested substrates, larvae skins, faeces, and microorganisms (Schmitt & de Vries, 2020; Yildirim-Aksoy et al., 2020). They further reported that the valuation of frass becomes more economical and ecological. In their study, Gärttling and Schulz (2022) considered insect excrement as a potential alternative fertilizer to polluting agricultural chemicals. In addition, Yildirim-Aksoy et al. (2020) demonstrated that the use of BSF frass as feed at levels up to 300 g.kg^{-1} improved significantly the growth of catfish. In this research, the dry matter (DM) of frass in all treatments was lower than that found by Gao et al. (2019). It could be influenced by the abiotic factors of experiment including high temperature ($29 \pm 2^{\circ}\text{C}$) and low humidity ($45 \pm 11 \%$), in accordance with the come out of Permana and Ramadhani (2018) who demonstrated that SCG dries in unfavourable conditions. Furthermore, Gärttling and Schulz (2022) stated that DM content could be affected by rearing method and feeding substrate quality. This frass seemed to be an organic fertilizer by the high organic matter content 96 %. This value was higher than that reported by Gao et al. (2019) and Liu et al. (2019). It might be related to the poor ash amount of substrates and high percentage of dead larvae, for instance, the frass of larvae fed only on SCG diet had particularly the highest death rate of larvae and the lowest ash content. The values of organic carbon and total nitrogen were lower than found by Gao et al. (2019) and Menino et al. (2021). The chemical composition of frass was slightly affected by the addition of whey to SCG diet digested by BSF larvae. The different types of whey enhanced the quality and the

quantity of mineral frass content by increasing its amount of ash and the available phosphorus which was three fold that found by [Praeg and Klammssteiner \(2023\)](#) ($66,37 \pm 0.24$ vs 20.34 ± 1.56 ppm). Generally, the supplementation of whey to SCG diet enhanced the quality of BSFL frass and made it a potential replacement for organic fertilizer capable of beneficially influencing soil quality.

5. Conclusion

This study attempted to address the significant environmental challenge of whey effluent rejection by exploring its potential as a spent coffee ground (SCG) diet additive, aiming to stimulate the performance, growth, and nutritional value of black soldier fly (BSF) larvae (*Hermetia illucens*) and enhance the chemical composition of the frass (residue). The results confirmed better BSF larvae development in the SCG diet enriched with sweet, acid, and fermented whey fractions, along with efficient digestion of their nutrients. Additionally, BSF larvae fed on whey-SCG showed an improved dry matter reduction quality and substrate conversion rate, yielding a straightforward favorable repercussion on protein and fat-rich biomass production, which is more useful as animal feed. Moreover, the resulting frass demonstrated high promise as a bio-fertilizer in sustainable agriculture. Everything considered, using whey-supplemented SCG diets for BSF larvae provides an eco-friendly solution for low-cost whey bio-treatment, thereby alleviating the burden of landfill pollution and greenhouse gas emissions associated with the decomposition of such organic waste. In perspective, complementary experiments are considered necessary to clarify and underline the use of black soldier fly for treating whey and/or other organic wastes in the tropical areas and under suitable growth condition.

Acknowledgments

We kindly acknowledge Dr. Toufik Benaissa for his help and advice. We are grateful for the help of Mr. Noah Hadji from El manbaadairy and Mr. Rachid Abbou from Sidi Saada dairy with the providing of acid and sweet whey. We are thankful for the help of employees of Elbahdja cafeteria in gathering spent coffee ground. Furthermore, we gently acknowledge Mr. Mahmoud Bekkar for providing us with black soldier fly larvae, and for his help in rearing them. Lastly, we thank all person who help us for their contributions to this study.

Author's declaration and contributions

This study was supported by the Laboratory of Sciences, Food Technology and Sustainable Development (LSTADD), Faculty of Natural and Life Sciences, University Saad Dahlab Blida-1, BP 270 (9100), Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research. Tahar Hanafi conceived and designed the experiments. Tahar Hanafi, Badreddine Moussaoui and Bachir reghioui performed the experiments. Smain Megateli and Zoubida Meziane supervised the work. Laid Guemou analyzed the data. Tahar Hanafi and Badreddine Moussaoui wrote the manuscript.

References

- Acem, K., Saadi, T., & Benali, N. (2019). Influence of biological removal of lactose on the physical and chemical parameters of crude sweet whey. *Acta Scientifica Naturalis*, 6(2), 123-129. [CrossRef](#)
- Banks, I. J., Gibson, W. T., & Cameron, M. M. (2014). Growth rates of black soldier fly larvae fed on fresh human faeces and their implication for improving sanitation. *Tropical Medicine & International Health*, 19(1), 14-22. [CrossRef](#)

- Barba, F. J. (2021). An integrated approach for the valorization of cheese whey. *Foods*, 10(3), 564. [CrossRef](#)
- Barragan-Fonseca, K. B., Dicke, M., & van Loon, J. J. (2017). Nutritional value of the black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) and its suitability as animal feed—a review. *Journal of Insects as Food and Feed*, 3(2), 105-120. [CrossRef](#)
- Barragan-Fonseca, K. B. (2018). *Flies are what they eat: Tailoring nutrition of Black Soldier Fly (Hermetia illucens L.) for larval biomass production and fitness* [Doctoral dissertation, Wageningen University and Research], the Netherlands. [CrossRef](#)
- Bosco, F., Riccardo, C., & Marmo, L. (2018). An integrated cheese whey valorization process. *Chemical Engineering Transactions*, 64, 379-384. [CrossRef](#)
- Boudjema, K., Fazouane-Naimi, F., Hellal, A., & Mechakra, A. (2009). Optimisation et modèle de production d'acide lactique par *Streptococcus thermophilus* sur lactosérum. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 80-90. [Direct Link](#)
- Božanić, R., Barukčić, I., & Lisak, K. (2014). Possibilities of whey utilisation. *Austin Journal of Nutrition and Food Sciences*, 2(7), 7. [Direct Link](#)
- de Albuquerque, J. N., Paulinetti, A. P., Lovato, G., Albanez, R., Ratusznei, S. M., & Rodrigues, J. A. D. (2020). Anaerobic sequencing batch reactors co-digesting whey and glycerin as a possible solution for small and mid-size dairy industries: Environmental compliance and methane production. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 192, 979-998. [CrossRef](#)
- Dehliz, A., Fethallah, R., Benyahia, I., Hammi, H., Bachir, H., & Lakhdari, W. (2023). Exploring the capability of *Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Stratiomyidae) to recycle organic waste Algeria. *Revue des Bio Ressources*, 13(2), 66-80. [Direct Link](#)
- Diener, S., Zurbrugg, C., & Tockner, K. (2009). Conversion of organic material by black soldier fly larvae: establishing optimal feeding rates. *Waste Management & Research*, 27(6), 603-610. [CrossRef](#)
- Domingos, J. M., Martinez, G. A., Scoma, A., Fraraccio, S., Kerckhof, F. M., Boon, N., ... & Bertin, L. (2017). Effect of operational parameters in the continuous anaerobic fermentation of cheese whey on titers, yields, productivities, and microbial community structures. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5(2), 1400-1407. [CrossRef](#)
- Domingos, J. M., Puccio, S., Martinez, G. A., Amaral, N., Reis, M. A., Bandini, S., ... & Bertin, L. (2018). Cheese whey integrated valorisation: Production, concentration and exploitation of carboxylic acids for the production of polyhydroxyalkanoates by a fed-batch culture. *Chemical Engineering Journal*, 336, 47-53. [CrossRef](#)
- Dortmans B.M.A., Egger J., Diener S., & Zurbrugg C. (2021). *Black Soldier Fly Biowaste Processing: A Step-by-Step Guide*, (2nd Ed). Eawag-Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology. <https://www.maktaba.org/book/783/black-soldier-fly-biowaste-processing-a-step-by-step-guide>
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356. [Cross-Ref](#)
- Fischer, H., Romano, N., & Sinha, A. K. (2021). Conversion of spent coffee and donuts by black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae into potential resources for animal and plant farming. *Insects*, 12(4), 332. [CrossRef](#)
- Gao, Z., Wang, W., Lu, X., Zhu, F., Liu, W., Wang, X., & Lei, C. (2019). Bioconversion performance and life table of black soldier fly (*Hermetia illucens*) on fermented maize straw. *Journal of Cleaner Production*, 230, 974-980. [CrossRef](#)
- Gärttling, D., & Schulz, H. (2022). Compilation of black soldier fly frass analyses. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 1-7. [CrossRef](#)
- Gebiola, M., Garnica, A., Pagliaccia, D., Tomberlin, J. K., & Mauck, K. E. (2023). Impact of bokashi fermentation on life-history traits of black soldier fly *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larvae at an industrial scale. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1-6. [CrossRef](#)

- Giannetto, A., Oliva, S., Lanes, C. F. C., de Araújo Pedron, F., Savastano, D., Baviera, C., ... & Fasulo, S. (2020). *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larvae and prepupae: Biomass production, fatty acid profile and expression of key genes involved in lipid metabolism. *Journal of Biotechnology*, 307, 44-54. [CrossRef](#)
- Gligorescu, A., Toft, S., Hauggaard-Nielsen, H., Axelsen, J. A., & Nielsen, S. A. (2018). Development, metabolism and nutrient composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*; Diptera: Stratiomyidae) in relation to temperature and diet. *Journal of Insects as Food and Feed*, 4(2), 123-133. [CrossRef](#)
- Gligorescu, A., Fischer, C. H., Larsen, P. F., Nørgaard, J. V., & Heckman, L. H. L. (2020). Production and optimization of *Hermetia illucens* (L.) larvae reared on food waste and utilized as feed ingredient. *Sustainability*, 12(23), 9864. [CrossRef](#)
- Gobbi, P., Martinez-Sanchez, A., & Rojo, S. (2013). The effects of larval diet on adult life-history traits of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *European Journal of Entomology*, 110(3), 461. [CrossRef](#)
- Gold, M., Tomberlin, J. K., Diener, S., Zurbrugg, C., & Mathys, A. (2018). Decomposition of biowaste macronutrients, microbes, and chemicals in black soldier fly larval treatment: A review. *Waste Management*, 82, 302-318. [CrossRef](#)
- Gold, M., Cassar, C. M., Zurbrugg, C., Kreuzer, M., Boulos, S., Diener, S., & Mathys, A. (2020). Biowaste treatment with black soldier fly larvae: Increasing performance through the formulation of biowastes based on protein and carbohydrates. *Waste Management*, 102, 319-329. [CrossRef](#)
- Hadj Saadoun, J., Montevecchi, G., Zanasi, L., Bortolini, S., Macavei, L. I., Masino, F., ... & Antonelli, A. (2020). Lipid profile and growth of black soldier flies (*Hermetia illucens*, Stratiomyidae) reared on by-products from different food chains. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(9), 3648-3657. [CrossRef](#)
- Janssen, R. H., Vincken, J. P., van den Broek, L. A., Fogliano, V., & Lakemond, C. M. (2017). Nitrogen-to-protein conversion factors for three edible insects: *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, and *Hermetia illucens*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(11), 2275-2278. [CrossRef](#)
- Journal officiel de la république algérienne démocratique et populaire n°77 (2001). Loi n° 01-19 du 27 Ramadhan 1422 correspondant au 12 Décembre 2001, relative à la gestion, le contrôle et l'élimination des déchets. P7. [Direct Link](#)
- Lappa, I. K., Papadaki, A., Kachrimanidou, V., Terpou, A., Koulougliotis, D., Eriotou, E., & Kopsahelis, N. (2019). Cheese whey processing: integrated biorefinery concepts and emerging food applications. *Foods*, 8(8), 347. [CrossRef](#)
- Li W, Li Q, Zheng L, Wang Y, Zhang J, Yu Z, & Zhang Y. (2015). Potential biodiesel and biogas production from corn cob by anaerobic fermentation and black soldier fly. *Bioresources of Technology*. 194: 276e282. [CrossRef](#)
- Liu, T., Awasthi, M. K., Chen, H., Duan, Y., Awasthi, S. K., & Zhang, Z. (2019). Performance of black soldier fly larvae (Diptera: Stratiomyidae) for manure composting and production of cleaner compost. *Journal of Environmental Management*, 251, 109593. [CrossRef](#)
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265-275. [Direct Link](#)
- Magee, K.; Halstead, J.; Small, R.; & Young, I. (2021) Valorisation of Organic Waste By-Products Using Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as a Bio-Converter. *Sustainability*, 13, 8345. [Cross-Ref](#)
- Manurung, R., Supriatna, A., Esyanthi, R. R., & Putra, R. E. (2016). Bioconversion of rice straw waste by black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.): optimal feed rate for biomass production. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4(4), 1036-1041. [Direct Link](#)
- Mathieu J. (1998). *Initiation to milk physicochemistry*. Lavoisier. [Direct Link](#)
- May BM. 1961. The occurrence in New Zealand and the life-history of the soldier fly *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae). *New Zealand Journal Science* 4: 55-65. [Direct Link](#)

- Menino, R., Felizes, F., Castelo-Branco, M. A., Fareleira, P., Moreira, O., Nunes, R., & Murta, D. (2021). Agricultural value of Black Soldier Fly larvae frass as organic fertilizer on ryegrass. *Helion*, 7(1). [CrossRef](#)
- Miranda, C. D., Cammack, J. A., & Tomberlin, J. K. (2019). Life-history traits of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae), reared on three manure types. *Animals*, 9(5), 281. [CrossRef](#)
- Myers, H. M., Tomberlin, J. K., Lambert, B. D., & Kattes, D. (2014). Development of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae fed dairy manure. *Environmental Entomology*, 37(1), 11-15. [Direct Link](#)
- Nation, J.L., (2008). *Insects physiology and biochemistry* (2nd Ed.). Taylor and Francis Group. [CrossRef](#)
- Nelson, D. W., & Sommers, L. E. (1982). Total carbon, organic carbon, and organic matter. In Miller, R.H. & Keeney, D.R. (Ed). *Methods of soil analysis: Part 2 Chemical and microbiological properties* (vol. 9, p. 539-579). A.L. Page. [CrossRef](#)
- Nguyen, T. T., Tomberlin, J. K., & Vanlaerhoven, S. (2015). Ability of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae to recycle food waste. *Environmental entomology*, 44(2), 406-410. [CrossRef](#)
- Nyakeri, E. M., Ogola, H. J., Ayieko, M. A., & Amimo, F. A. (2017). An open system for farming black soldier fly larvae as a source of proteins for smallscale poultry and fish production. *Journal of Insects as Food and Feed*, 3(1), 51-56. [CrossRef](#)
- Official Methods of Analysis (2012) 19th Ed., AOAC (Association of Official Analytical Chemist) International, Gaithersburg, MD, Method 2001.11. [Direct Link](#)
- Official Methods of Analysis (2005) 18th Ed., AOAC (Association of Official Analytical Chemist) International, Gaithersburg, MD, Method 930.15. [Direct Link](#)
- Official Method of analysis (2005) 18th Ed., AOAC (Association of Official Analytical Chemist) International, Gaithersburg, MD, Method 978.10. [Direct Link](#)
- Official Method of analysis (2005) 18th Ed., AOAC (Association of Official Analytical Chemist) International, Gaithersburg, MD, Method 2003.05. [Direct Link](#)
- Official Methods of Analysis (2005) 18th Ed., AOAC (Association of Official Analytical Chemist) International, Gaithersburg, MD, Method 942.05. [Direct Link](#)
- Oonincx, D., van Huis, A., & van Loon, J.J.A., (2015a). Nutrient utilisation by black soldier flies fed with chicken, pig, or cow manure. *Journal of Insects as Food and Feed* 1, 131–139. [CrossRef](#)
- Oonincx, D. G., Van Broekhoven, S., Van Huis, A., & van Loon, J. J. (2015b). Feed conversion, survival and development, and composition of four insect species on diets composed of food by-products. *PloS one*, 10(12), e0144601. [CrossRef](#)
- Palma, L., Fernandez-Bayo, J., Niemeier, D., Pitesky, M., & VanderGheynst, J. S. (2019). Managing high fiber food waste for the cultivation of black soldier fly larvae. *NPJ Science of Food*, 3(1), 15. [CrossRef](#)
- Pansu M., & Gautheyrou J. (2006). *Handbook of soil analysis: mineralogical, organic and inorganic methods*. Springer. [Direct Link](#)
- Papargyropoulou, E., Lozano, R., Steinberger, J. K., Wright, N., & bin Ujang, Z. (2014). The food waste hierarchy as a framework for the management of food surplus and food waste. *Journal of Cleaner Production*, 76, 106-115. [CrossRef](#)
- Parra Paz, A. S., Carrejo, N. S., & Gómez Rodríguez, C. H. (2015). Effects of larval density and feeding rates on the bioconversion of vegetable waste using black soldier fly larvae *Hermetia illucens* (L.), (Diptera: Stratiomyidae). *Waste and Biomass Valorization*, 6, 1059-1065. [CrossRef](#)
- Permana, A. D., & Ramadhani Eka Putra, J. E. N. (2018). Growth of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae fed on spent coffee ground. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 187(012070), 1-7. [CrossRef](#)
- Pescuma, M., de Valdez, G. F., & Mozzi, F. (2015). Whey-derived valuable products obtained by microbial fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99, 6183-6196. [CrossRef](#)

- Pimentel, A. C., Montali, A., Bruno, D., & Tettamanti, G. (2017). Metabolic adjustment of the larval fat body in *Hermetia illucens* to dietary conditions. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 20(4), 1307-1313. [CrossRef](#)
- Pires, A. F., Marnotes, N. G., Rubio, O. D., Garcia, A. C., & Pereira, C. D. (2021). Dairy by-products: A review on the valorization of whey and second cheese whey. *Foods*, 10(5), 1067. [CrossRef](#)
- Praeg, N., & Klammsteiner, T. (2023). Frass fertilizers from mass-reared insects: species variation, heat treatment effects, and implications for soil application. *bioRxiv*, 2023-09. [CrossRef](#)
- Rehman, K. ur, Rehman, A., Cai, M., Zheng, L., Xiao, X., Somroo, A. A., ... & Zhang, J. (2017a). Conversion of mixtures of dairy manure and soybean curd residue by black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.). *Journal of Cleaner Production*, 154, 366-373. [CrossRef](#)
- Rehman, K. ur, Cai, M., Xiao, X., Zheng, L., Wang, H., Soomro, A. A., ... & Zhang, J. (2017b). Cellulose decomposition and larval biomass production from the co-digestion of dairy manure and chicken manure by mini-livestock (*Hermetia illucens* L.). *Journal of Environmental Management*, 196, 458-465. [CrossRef](#)
- Romano, N., Fischer, H., Kumar, V., Francis, S. A., & Sinha, A. K. (2021). Productivity, conversion ability, and biochemical composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae fed with sweet potato, spent coffee or dough. *International Journal of Tropical Insect Science*, 1-8. [CrossRef](#)
- Rumpold, B. A., & Schlüter, O. K. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(5), 802-823. [CrossRef](#)
- Salomone, R., Saija, G., Mondello, G., Giannetto, A., Fasulo, S., & Savastano, D. (2017). Environmental impact of food waste bioconversion by insects: Application of Life Cycle Assessment to process using *Hermetia illucens*. *Journal of Cleaner Production*, 140, 890-905. [CrossRef](#)
- Schmitt, E., & de Vries, W. (2020). Potential benefits of using *Hermetia illucens* frass as a soil amendment on food production and for environmental impact reduction. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 25, 100335. [CrossRef](#)
- Sommella, E., Pepe, G., Ventre, G., Pagano, F., Conte, G. M., Ostacolo, C., ... & Campiglia, P. (2016). Detailed peptide profiling of "Scotta": From a dairy waste to a source of potential health-promoting compounds. *Dairy Science & Technology*, 96, 763-771. [CrossRef](#)
- Sprangers, T., Ottoboni, M., Klootwijk, C., Ovyen, A., Deboosere, S., De Meulenaer, B., ... & De Smet, S. (2017). Nutritional composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on different organic waste substrates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(8), 2594-2600. [CrossRef](#)
- Wang, Y. S., & Shelomi, M. (2017). Review of black soldier fly (*Hermetia illucens*) as animal feed and human food. *Foods* 2017, 6(10), 91; [CrossRef](#)
- Widyastuti R. A. D., Rahmat A., Warganegara H. A., Ramadhani W. S., Prasetyo B. & Riantini M. (2021). Chemical content of waste composting by black soldier fly (*Hermetia illucens*). *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 739(1), 012003. [CrossRef](#)
- Yadav, J. S. S., Yan, S., Pilli, S., Kumar, L., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y. (2015). Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnology advances*, 33(6), 756-774. [CrossRef](#)
- Yildirim-Aksoy, M., Eljack, R., & Beck, B. H. (2020). Nutritional value of frass from black soldier fly larvae, *Hermetia illucens*, in a channel catfish, *Ictalurus punctatus*, diet. *Aquaculture nutrition*, 26(3), 812-819. [CrossRef](#)
- Zotta, T., Solieri, L., Iacumin, L., Picozzi, C., & Gullo, M. (2020). Valorization of cheese whey using microbial fermentations. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(7), 2749-2764. [Cross-Ref](#)