



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Mycologie et biotechnologie fongique*

Intitulé :

**Etude de certains paramètres physico-chimiques du déchet oléicole
après traitement biologique par *Aspergillus***

Présenté et soutenu par : KERRACHE Roumeissa
KOURTA Rayene

Le : 08/07/2019

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Mme MOUAS Nardjess (Maître de conférences A - UFM Constantine).

Rapporteur : Mme BOUCHERIT Zeyneb (Maître-Assistant A - UFM Constantine).

Examinatrice : Mme BENHAMDI Asma (Maître de conférences B - UFM Constantine).

*Année universitaire
2018 – 2019*

Remerciement

Nul doute que personne n'est né avec le savoir, il doit ainsi toujours quelque chose à quelqu'un, et c'est pour cette raison que nous tenons à remercier

Dieu de nous avoir aidé pour la réalisation de notre Mémoire

*Notre encadreur **Madame BOUCHERIT Zeyneb** pour son support, ses conseils sa confiance, et orientation dans la conception de ce travail, merci pour le savoir précieux qu'elle a aimablement voulu partagé avec nous.*

*On présente nos sincères remerciements à **Madame MOUAS Nardjess** d'avoir accepté de présider ce jury.*

*Nous adressons nos remerciements à **Madame BENHAMDI Asma** d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.*

Nous ne manquerons pas à exprimer notre profonde gratitude à l'équipe du laboratoire

Biologie et Environnement qui nous ont accueillis et tout le personnel du département des sciences de la nature et de la vie pour leur disponibilité.

Qu'ils trouvent ici l'expression de notre sincère gratitude ainsi que toute personne qui a contribué à l'achèvement de ce projet, directement ou indirectement.

Enfin nous exprimons encore nos remerciements les plus dévoués aux membres de jury qui nous ont honorés en acceptant d'évaluer ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail et ma profonde gratitude

À

mes très chers parents pour l'éducation, qu'ils m'ont prodigué;

Pour les sacrifices qu'ils ont consentis à mon égard et leur soutien,

Pour le sens du devoir qu'ils m'ont enseigné depuis mon enfance.

Je ne saurais exprimer toute ma reconnaissance et tout l'amour que je vous porte.

Que Dieu vous protège

Et vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur

À mes très chers frères Bader Edinne et Abd Elatif

À mes chères cousines

À mes tentes et à mes oncles

À ma chère amie, ma binôme chez qui j'ai trouvé l'entente dont j'avais besoin.

À mes chères copines

À tous ceux qui me sont chers.

Roumeissa

Dédicace

Au début et avant tout, mon profond remerciement et louange à Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage, la santé et la patience à fin de réaliser cette étude.

Je dédie ce travail à toutes les personnes qui m'ont poussées et qui m'ont accompagnées tout au long de ces 5 ans.

À

Ma maman, qui par son amour et ses prières a toujours cru en ma réussite que Dieu la préserve et lui accorde santé et longue vie.

Mon papa, qui par ces efforts fournis jours et nuits pour mon bien être, ce travail est le fruit de ses sacrifices consentis pour ma formation.

À

Mon fiancé qui m'a supporté

À mes grand-mères Jamila et Safia, qui m'ont aidées par leur prières

À tous ceux m'ont aidé de prêt ou de loin.

Rayene

Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des photographies	
Introduction	1

Partie 1 : Revue bibliographique

Chapitre 1 : Les moisissures

1. Définition	2
2. Structure cellulaire	2
3. Mode de reproduction	4
4. Classification.....	4
4.1. Zygomycètes	4
4.2. Ascomycètes	4
4.3. Basidiomycètes	4
4.4. Deutéromycètes	5
5. Conditions de croissance	6
5.1. Facteurs nutritifs	6
5.1.1. Source de carbone et d'énergie	6
5.1.2. Source d'azote	6
5.1.3. Eléments minéraux	6
5.2. Facteurs physicochimiques	6
5.2.1. Température	6
5.2.2. Humidité	7
5.2.3. pH	7
5.2.4. Oxygène	7

5.2.5. Lumière	7
5.2.6. Activité en eau (Aw)	7
6. Intérêts des moisissures	7
6.1. Intérêt alimentaire	8
6.2. Intérêt pharmaceutique	8
6.3. Intérêt médical	8
6.4. Intérêt environnemental	8
6.4.1. La bioremédiation.....	8
6.4.2. La biodégradation du plastique	9
6.4.3. Bio-Pesticides.....	9
6.4.4. Biocarburants.....	9

Chapitre 2 : Les déchets oléicoles

1. Généralités sur les déchets	10
1.1. Les déchets ménagers	10
1.2. Les déchets industriels	10
2. Déchets oléicoles	10
2.1. Margines	11
2.2. Grignons d'olive	11
3. Propriétés physicochimiques des déchets oléicoles	11
3.1. Propriétés physicochimiques des margines	11
3.2. Propriétés physicochimiques des grignons	12
4. Propriétés microbiologiques des déchets oléicoles	12
4.1. Propriétés microbiologiques des margines	12
4.2. Propriétés microbiologiques des grignons	13
5. Problèmes liés aux déchets oléicoles	13
5.1. Problèmes causés par les margines	13
5.2. Problèmes causés par les grignons	14
6. Traitement et valorisation des déchets oléicoles	14
6.1. Traitement des déchets oléicoles	14
6.2. Valorisation des déchets oléicoles	15

Partie 2 : Matériel et méthodes

1. La souche fongique	17
2. Réactivation de la souche	17
3. Echantillonnage	17
4. Préparation de pré-culture	17
5. Optimisation de dégradation des margines	17
5.1. Criblage des facteurs	18
5.2. Plan composite centré	18
5.3. Essai de confirmation	18
6. Paramètres physicochimiques	21
6.1. Biomasse sèche	22
6.2. pH	22
6.3. Conductivité électrique	22
6.4. Humidité	22
6.5. Matière organique	23
6.6. Matière minérale	23
6.7. Couleur	23
6.8. Produits aromatiques	23
6.9. Produits phénoliques	23

Partie 3 : Résultats et discussion

1. Analyse physicochimique du déchet brut	24
2. Optimisation de dégradation des margines	28
2.1. Criblage des facteurs	29
2.1.1. Etude de la biomasse sèche	31
2.1.2. Etude de pH	32
2.1.3. Etude de la conductivité électrique	33
2.1.4. Etude de l'humidité, la matière organique et la matière minérale	34
2.1.5. Etude de la couleur	35
2.1.6. Etude des produits aromatiques	37
2.1.7. Etude des produits phénoliques	38
2.2. Plans composites centrés et détermination des optima	40

2.3. Expérience de confirmation	41
Conclusion	42
Références bibliographiques	43
Annexes	
Résumé	

Liste des Abréviations

A : Absorbance

A_w : Activity of water

°C : degré Celsius

FAO : Food Agricole Organization

m : masse

MEA : Malt Extrat Agar

mS : milli Siemens

nm : nanomètre

pH : potentiel d'Hydrogène

rpm : rotation par minute

μM : Micromolarité

μl : microlitre

Liste des figures

Figure 1 : Croissance d'un hyphe à partir d'une spore	2
Figure 2 : Colonie d' <i>Aspergillus niger</i> en culture sur une gélose au glucose	3
Figure 3 : Caractéristique des hyphes de mycètes	3
Figure 4 : Principales classes des moisissures	5
Figure 5 : Histogramme représentant la conductivité électrique des extraits bruts.....	24
Figure 6 : Histogramme représentant l'humidité des extraits bruts.....	24
Figure 7 : Histogramme représentant la matière organique des extraits bruts	25
Figure 8 : Histogramme représentant la matière minérale des extraits bruts	25
Figure 9 : Histogramme représentant l'intensité de la couleur des extraits bruts.....	25
Figure 10 : Histogramme représentant les produits aromatiques des extraits bruts	25
Figure 11 : Histogramme représentant les produits phénoliques des extraits bruts	26
Figure 12 : Histogrammes représentant la biomasse des essais	31
Figure 13 : Histogrammes représentant le pH des essais	32
Figure 14 : Histogrammes représentant la conductivité électrique des essais	33
Figure 15 : Histogrammes représentant l'humidité, la matière organique et la matière minérale des essais	34
Figure 16 : Histogrammes représentant l'intensité de la couleur des essais.....	36
Figure 17 : Histogrammes représentant les produits aromatiques des essais	37
Figure 18 : Histogrammes représentant les produits phénoliques des essais	38
Figure 19 : Analyse statistique des résultats du plan Plackett-Burman pour les produits phénoliques.....	39
Figure 20 : Equation de régression en unités non codées.....	40
Figure 21 : Résultats d'analyse des plans composites centrés.....	40

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition physico-chimique du grignon d'olive (valeur en poids sec)	12
Tableau 2 : Matrice d'optimisation pour fermentation sur milieu submergé	19
Tableau 3 : Valeurs des facteurs d'optimisation pour fermentation sur milieu submergé	20
Tableau 4 : Matrice du plan composite centré à 3 facteurs	21
Tableau 5 : Valeurs des 3 facteurs du plan composite centré	21
Tableau 6 : Mesures des paramètres physicochimiques de déchets bruts	24
Tableau 7 : Mesures des paramètres physicochimiques après la fermentation	30
Tableau 8 : Mesures des produits phénoliques après la fermentation.....	41

Liste des photographies

Photographie 1 : Les 28 essais avant fermentation	17
Photographie 2 : La biomasse après séparation et séchage dans l'étuve.....	22
Photographie 3 : La biomasse après séparation et séchage dans l'étuve	22
Photographie 4 : La récupération des essais après fermentation	28
Photographie 5 : La récupération des essais après fermentation	28
Photographie 6 : Essai avant fermentation	29
Photographie 7 : Essai après fermentation	29

Introduction

Ces dernières années, le développement de l'activité agroindustrielle a engendré une large production de déchets qui sont notamment issus de la transformation des matières premières de l'agriculture. Ce développement constitue un vrai problème environnemental : pollution de l'air, du sol et de l'eau.

L'industrie oléicole qui produit principalement l'huile d'olive, engendre deux résidus : l'un solide (les grignons) et l'autre liquide (les margines). Les grignons sont réutilisés en agriculture et en industries, alors que les margines sont rejetées directement dans les égouts.

Les margines constituent un grave problème puisque elles sont rejetées le plus souvent dans des récepteurs naturels, sols ou cours d'eau, sans aucun contrôle préalable et nuisent fortement à la qualité de ces eaux de surfaces ainsi que le sol et ses constituants, ce qui a un impact négatif sévère sur l'environnement et l'agriculture (**Cadillon, 1991 ; Mébirouk et al., 2002**).

Pour pallier à ce problème environnemental, de nombreux travaux sont menés sur le traitement et la valorisation des margines avec divers procédés applicables tels que les traitements physico-chimiques (coagulation/floculation, filtration sur membrane...). (**Aissam, 2003**), les traitements thermiques (incinération, évaporation,...) (**Ranalli, 1991**) et les traitements biologiques en utilisant des microorganismes pour dégrader les composés organiques des effluents d'huileries d'olive. Ils sont subdivisés en processus aérobies, et anaérobies (**Amrani et al., 2014**).

Dans cette étude on s'intéresse aux déchets de l'industrie oléicole, les margines qui sont caractérisées par une charge organique polluante très élevée (**Smithers, 2008**).

Pour cela, nous avons mené dans une première partie des généralités sur les moisissures et les déchets d'olive.

Dans une seconde partie, nous avons mis en place un protocole expérimental d'étude de certains paramètres physicochimiques du déchet oléicole après traitement biologique.

En troisième partie, les résultats sont présentés et discutés, en les comparant à ceux publiés dans la littérature scientifique.

Enfin, dans la conclusion générale, nous tentons à mettre en avant les points importants apportés par notre travail, ainsi que nos perspectives.

Revue
Bibliographique

I. Les moisissures

II. Les déchets oléicoles

1. Définition

Les moisissures sont des champignons filamenteux, hétérotrophes pluricellulaires et microscopiques. Ce sont des ubiquistes regroupant des milliers d'espèces. Le terme familier de « moisissures » fait généralement référence à leur texture laineuse, poudreuse ou cotonneuse observée à divers endroits (Madigan et Martinko, 2007 ; Nicklin *et al.*, 2000).

2. Structure cellulaire

Chez une moisissure, le thalle représentant le corps végétatif d'un mycète, est constitué de longs filaments appelés : Hyphes. Chaque filament montre une croissance apicale grâce à l'allongement de leurs extrémités (Figure 1). Le développement en masse compacte d'un ensemble d'hyphes sur un substrat donne le mycélium, qui est détectable à l'œil nu (Figure 2). Les hyphes mycéliens sont divisés par des cloisons ou septa (septum au singulier) formant des unités qui ressemblent à des cellules distinctes contenant un seul noyau, on les appelle alors hyphes segmentés ou septés (Figure 3.a). Dans quelques classes de mycètes, les hyphes ne contiennent pas des cloisons et ont l'aspect de longues cellules continues à noyaux multiples. Elles sont appelées cénocytes (Figure 3.b) (Tortora *et al.*, 2001).

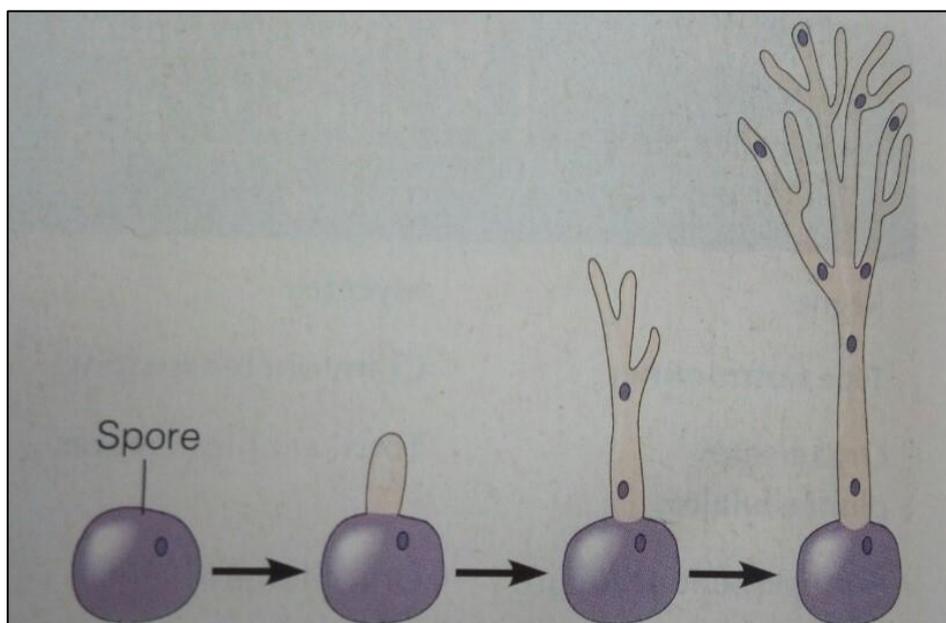


Figure1 : Croissance d'un hyphe à partir d'une spore (Tortora *et al.*, 2001).

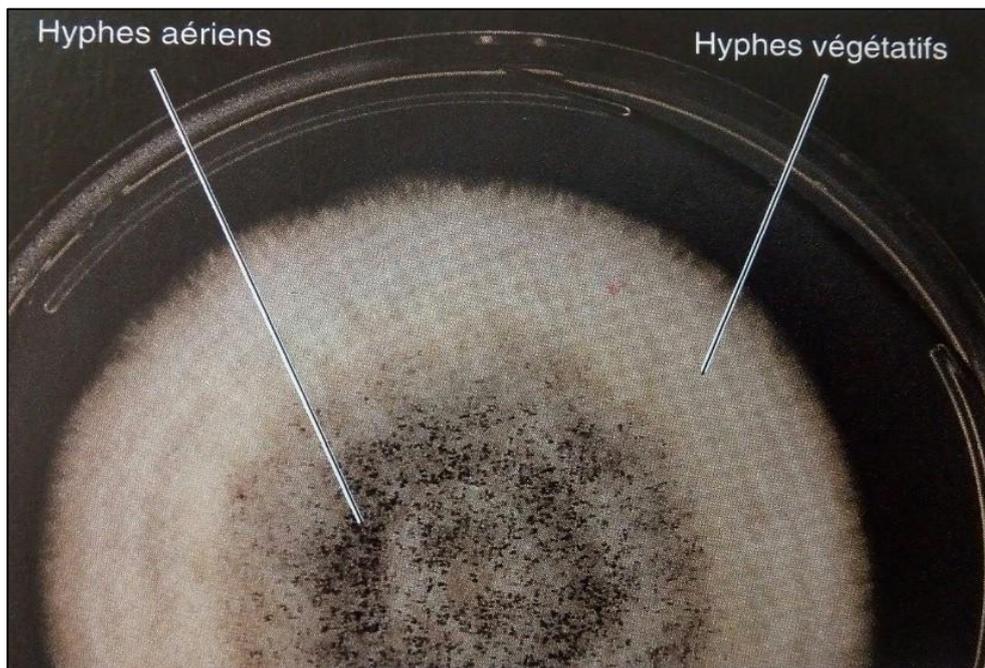


Figure 2 : Colonie d'*Aspergillus niger* en culture sur une gélose au glucose. Les hyphes végétatifs et aériens sont visibles (Tortora et al., 2001).

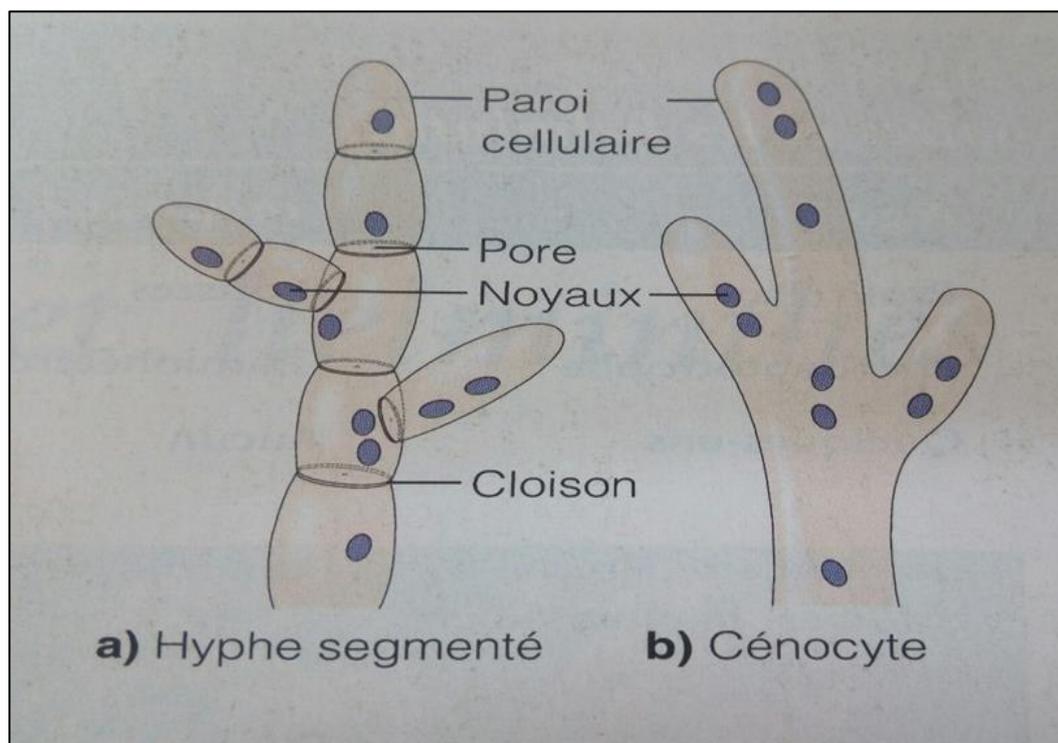


Figure 3 : Caractéristique des hyphes de mycètes (Tortora et al., 2001).

a) Les hyphes segmentés

b) Les cénocytes

3. Mode de reproduction

Les moisissures produisent des organes de reproduction qu'on appelle « spores » et qui peuvent avoir une origine sexuelle ou végétative. Les spores sexuelles résultent d'une fécondation (zygospores ou oospores) ou d'une méiose (ascospores ou basidiospores) alors que les spores végétatives appelées conidies, résultent d'une simple mitose et assurent la reproduction et la dissémination chez les espèces de formes imparfaites mais on les trouve également chez les autres groupes où elles coexistent avec les formes de sexuée et leur type varie selon les moisissures (les thallospores, les sporangiospores et les conidiospores) (Guiraud, 1998).

4. Classification

Les moisissures ne correspondent pas à un groupe systématique homogène, mais se situent en diverses familles de champignon microscopique (Davet, 1996). Les Eumycètes (les vrais champignons) forment un groupe très vaste incluant les classes principales de moisissures (Bourgeois et al., 1989), à savoir les Zygomycètes, Ascomycètes, Basidiomycètes et Deutéromycètes.

4.1. Zygomycètes

Ces moisissures possèdent un thalle mycélien non cloisonné et des organes de reproduction sexuée (Guiraud, 1998).

4.2. Ascomycètes

Les Ascomycètes sont définis comme des champignons à thalle mycélien cloisonné, dont le mode de reproduction est sexué avec des spores endogènes (ascospores). Cette classe regroupe de nombreux parasites des végétaux mais aussi de nombreuses moisissures (Guiraud, 1998).

4.3. Basidiomycètes

Elles regroupent seulement certaines moisissures parasites. Elles sont caractérisées par un thalle à mycélium septé et une reproduction sexuée avec la formation de spores exogènes (basidiospores) (Botton et al., 1999).

4.4. Deutéromycètes

Egalement appelés champignons imparfaits, les Deutéromycètes sont caractérisés par un mycélium cloisonné et une reproduction végétative réalisée par des spores asexuées ou par simple fragmentation du mycélium (Boiron, 1996). Ces moisissures constituent la majeure partie des Hyphales, elles sont classées en fonction des caractéristiques des organes conidiens et du mode de groupement des hyphes (Frazier, 1967; Punt et al., 2002).

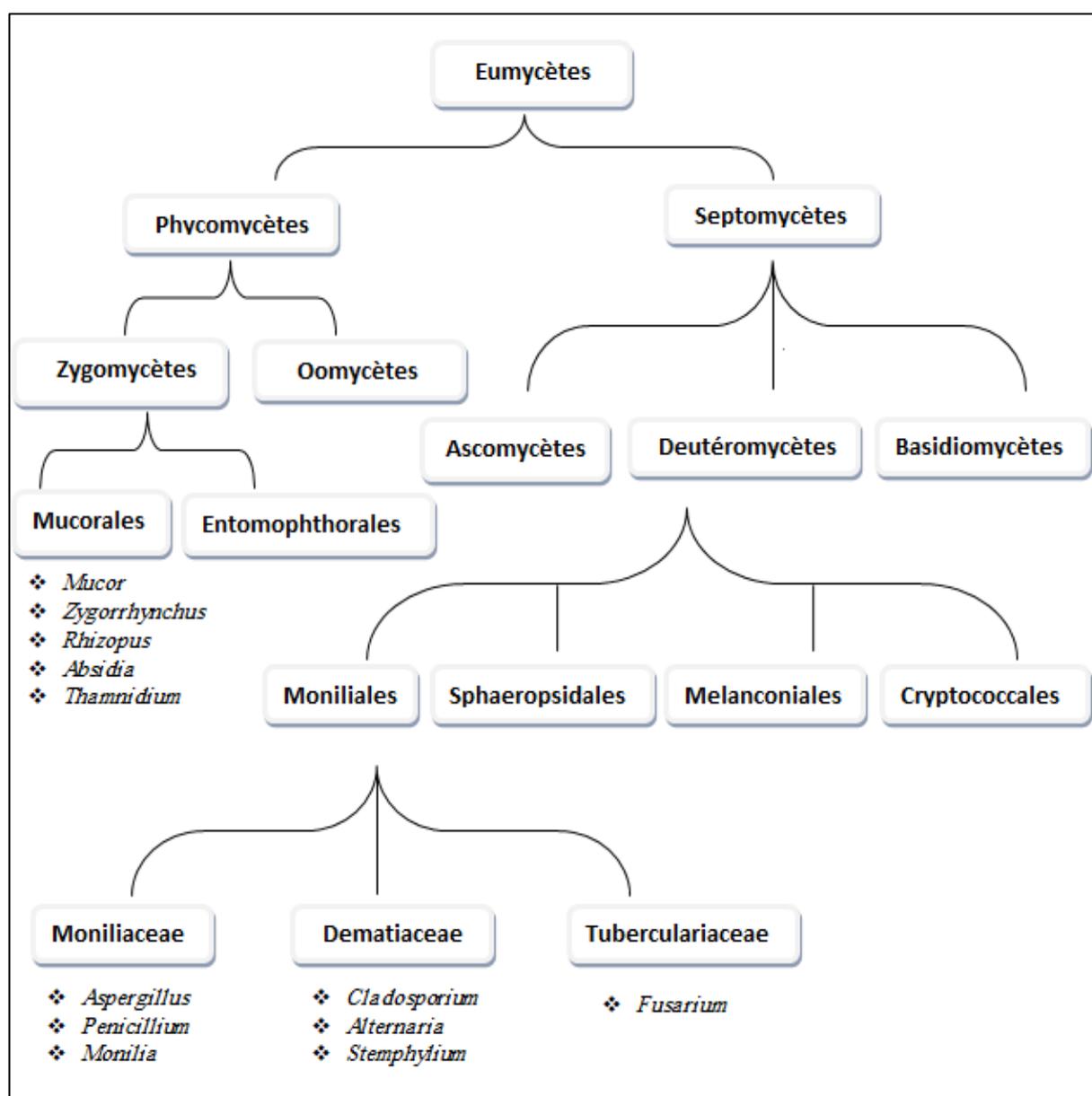


Figure 4 : Principales classes des moisissures (Frazier, 1967).

5. Conditions de croissance

Les moisissures exigent pour le maintien de leur croissance, de leur reproduction et de leur survie, des matières organiques comme source d'énergie et de carbone. Les molécules simples traversent facilement la barrière membranaire tandis que les molécules complexes ou polymères doivent auparavant être dégradées en monomères par des enzymes excrétées ou liées à la paroi (**Botton et al., 1990**).

5.1. Facteurs nutritifs

Les moisissures sont des microorganismes hétérotrophes, exigeant donc la présence des éléments nutritifs de base (carbone, azote et ions minéraux) dans le milieu qui assure leur croissance (**Davet, 1996**).

5.1.1. Source de carbone et d'énergie : Pratiquement tous les composés organiques peuvent être utilisés comme source de carbone et d'énergie par les moisissures. La plupart d'entre elles peuvent métaboliser le glucose et le saccharose avec quelques polysaccharides comme l'amidon et la cellulose (**Boiron, 1996 ; Nicklin et al., 2000**).

5.1.2. Source d'azote : La plupart des moisissures assimilent l'ammoniaque sous forme de sels (NH_3) dont la présence réprime l'utilisation d'autres sources azotées (nitrate, acides aminés, protéines) (**Boiron, 1996**).

5.1.3. Eléments minéraux : La présence des ions minéraux et métaux dans le milieu de culture est nécessaire pour la croissance et la reproduction de plusieurs espèces fongiques, il s'agit essentiellement de sulfate, de magnésium, de potassium, de sodium et de phosphore avec des concentrations plus au moins différentes selon l'espèce (**Uchicoba et al., 2001**).

5.2. Facteurs physicochimiques

Les facteurs physicochimiques comme la température, le pH, l'humidité, l'oxygène, la lumière et l'activité de l'eau ont une grande influence sur le développement des moisissures ainsi que sur la germination.

5.2.1. Température : Elle joue un rôle prépondérant dans la croissance mycélienne et intervient également dans la sporulation et la germination des spores (**Bourgeois et al., 1989**). La plupart des moisissures sont mésophiles avec des optima de croissance de 25 à 35°C (**Botton et al., 1999 ; Julien, 2002**). Quelques espèces sont thermotolérantes ou thermophiles

et peuvent croître à haute température (au-dessus de 50°C) (**Botton et al., 1999 ; Nicklin et al., 2000**). D'autres sont des psychrophiles ou psychrotolérantes se développant à basses températures (entre -5 et 10°C) (**Davet, 1996 ; Botton et al., 1999**).

5.2.2. Humidité : Les moisissures ont en général un besoin en eau faible par rapport aux autres microorganismes (**Davet, 1996**). Néanmoins, ce facteur a une grande influence sur leur développement plus particulièrement sur la germination des spores (**Bourgeois et al., 1989**).

5.2.3. pH : La grande majorité des champignons filamenteux se développent dans une zone de pH de 4,5 – 8,0 (**Botton et al., 1999**) avec une tendance à croître dans des milieux légèrement acide (**Urbanek et Yirdaw, 1984 ; Delgado-Jarana et al., 2002**).

5.2.4. Oxygène : La quantité d'oxygène mise à la disposition des moisissures est un facteur important de développement. La plupart sont aérobies, les plus exigeantes vivent dans les régions périphériques des substrats, les moins exigeantes peuvent se développer en profondeur comme *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus fumigatus*. Certaines peuvent même supporter une anaérobiose très stricte comme *Neocallimastix* (**Bourgeois et al., 1989 ; Botton et al., 1999**).

5.2.5. Lumière : Les radiations du spectre visible (380 – 720) n'ont en général pas d'action sur la croissance végétative des champignons mais peuvent agir sur la sporulation. La plupart des moisissures n'exigent pas de lumière pour leur croissance, ni pour la germination de leurs spores (**Botton et al., 1999**).

5.2.6. Activité en eau (Aw) : Les moisissures sont de façon schématique, plus xérotolérantes que les autres microorganismes (bactéries, levures). La plupart des moisissures se développent bien pour des activités en eau voisines de 0,85. Par conséquent, beaucoup de produits dont l'activité hydrique ne permet pas la croissance bactérienne peuvent être colonisés par les moisissures (**Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002**).

6. Intérêts des moisissures

Actuellement, les moisissures jouent un rôle primordial dans divers domaines d'applications. Elles sont utilisées dans les industries alimentaires, pharmaceutiques, médicales et environnementales etc. Cependant l'industrie n'exploite commercialement qu'un petit nombre de métabolites de quelques espèces seulement (**Boiron, 1996**).

6.1. Intérêt alimentaire

Les champignons filamenteux sont des producteurs importants d'acides organiques tels que l'acide gluconique, l'acide malique, l'acide acétique et l'acide citrique (**Leveau et Boix, 1993 ; Boiron, 1996**). Ce dernier est notamment produit par *Aspergillus niger*, où 60 % de sa production est destinée au secteur alimentaire (**Botton et al., 1999**). La production de biomasse peut être une source importante pour l'alimentation animale et même humaine, en servant de complémentation des produits céréaliers. Quelques espèces fongiques ont un grand usage, c'est le cas d'*Aspergillus niger*, de *Fusarium graminearum* et de *Trichoderma harzianum* (**Botton et al., 1999 ; Larpent- Gourgaud et Sanglier, 1992 ; Delgado-Jarana et al., 2002**).

6.2. Intérêt pharmaceutique

La production industrielle en vitamines se limite à une partie de la synthèse de la riboflavine produite spécialement par *Eemothecium ashbyii* cultivée en milieu agité et supplémenté en lipides. La vitamine A pourrait faire l'objet d'une production microbiologique par les champignons notamment les espèces de l'ordre des mucorales (**Botton et al., 1999**). Les champignons filamenteux sont des grands producteurs d'antibiotiques tel que la pénicilline produite par le genre *Penicillium* et la céphalosporine produite par *Cephalosporium* (**Larpent- Gourgaud et Sanglier, 1992 ; Botton et al., 1999**).

6.3. Intérêt médical

Les premiers produits d'origine fongique en médecine sont les alcaloïdes de l'ergot de seigle (ergotamine), utilisés en gynécologie et pour diverses autres indications (**Boiron, 1996 ; Botton et al., 1999**). La découverte de la cyclosporine, puissant agent immunodépresseur, puis la mise en évidence de corrélation entre l'activité de certaines enzymes et diverses pathologies ont permis de donner un grand essor aux sciences médicales et pharmaceutiques (**Botton et al., 1999 ; Richard, 2005**).

6.4. Intérêt environnemental

6.4.1. La bioremédiation

L'utilisation des champignons comme agents de bioremédiation « Mycoremédiation » fait l'objet de travaux de recherche du fait du potentiel de leurs enzymes oxydantes dans la transformation enzymatique de polluants dans

l'environnement. C'est le cas notamment de champignons appartenant aux ascomycètes (Par exemple *Haematonectria haematococca*) et aux zygomycètes (Par exemple *Cunninghamella elegans*) (Cerniglia, 1992).

6.4.2. La biodégradation du plastique

Le champignon responsable de cette biodégradation est *Aspergillus tubingensis*, il a été découvert sur des échantillons de sol recueillis sur un lieu d'enfouissement d'ordures au Pakistan et sa capacité de dégradation du plastique a été testée et confirmée.

Ce genre parvient à dégrader le plastique en raison de son pouvoir de sécréter des enzymes attaquant les liaisons polyester et aliphatiques dans les plastiques, permettant ainsi de les dégrader (Chongwang, 2017).

6.4.3. Bio-Pesticides

Un chercheur américain assure détenir un brevet au potentiel extraordinaire : grâce à un champignon spécial, il peut supprimer les insectes nuisibles à l'agriculture et ainsi remplacer les insecticides chimiques et OGM (Organisme Génétiquement Modifié) ; La méthode du mycologue 'Paul STAMETS' est simple : modifier un champignon « entomopathogène » (qui détruit les insectes) afin qu'il ne produise plus de spores. Les insectes sont alors attirés par le champignon qu'ils ingurgitent, la réaction est surprenante : le champignon apparaît à l'intérieur même de l'insecte jusqu'à l'absorber complètement (Herlin, 2015).

6.4.4. Biocarburants

Les champignons apparaissent donc comme des bons candidats pour la production d'agrocarburants de deuxième génération, que l'on pourrait réaliser à partir de débris végétaux divers. *Trichoderma reesei* pourrait par exemple produire un cocktail enzymatique qui purifié serait ajouté à une décoction de déchets organiques. Les sucres produits seraient alors facilement transformables en éthanol, c'est-à-dire en biocarburant utilisable dans un moteur à essence (Goudet, 2008).

1. Généralités sur les déchets

Un déchet peut être défini de différentes manières selon le domaine et l'intérêt d'étude et parfois l'origine et l'état des déchets. La loi N° 01-19 du 12/12/ 2001 article 3 du journal officiel de la république algérienne N° 77 en 2001, définit le déchet comme : « Tout résidu d'un processus de production, de transformation ou d'utilisation, et plus généralement toute substance ou produit et tout bien meuble dont le propriétaire ou le détenteur se défait, projette de se défaire, ou dont il a obligation de se défaire ou de l'éliminer.»

On peut classer les déchets selon plusieurs critères. Le plus souvent, on les classe en fonction de leur provenance. Ainsi, on parle de « déchets ménagers » et de « déchets industriels ».

1.1. Les déchets ménagers : Proviennent principalement des ménages, des commerces, des petites entreprises et des collectivités (écoles, Hommes...). Ils se composent pour la majeure partie d'emballages, de papier et des déchets organiques. Leur production varie très fortement d'un pays à l'autre en fonction des habitudes de consommation des habitants. Les habitants des pays industrialisés qui consomment principalement des produits manufacturés (aliments préparés, objets jetables, matériaux en plastique...) produisent plus de déchets que les habitants des PVD (Pays en Voie de Développement) qui consomment principalement des produits bruts (aliments en vrac, objets non jetables et réutilisables, matériaux naturels et biodégradables...).

1.2. Les déchets industriels : Proviennent principalement de l'industrie et de l'agriculture. Généralement, la fabrication d'un produit ou d'un objet nécessite plusieurs fois son poids en matières premières qui se transforment en déchets avant que l'objet ait quitté l'usine. Les déchets industriels sont donc composés d'une multitude de types différents comme les plastiques, la ferraille, les tissus, mais aussi les débris rocheux (produits par les mines) et les cendres (Godin M.C, 2006-2007).

2. Déchets oléicoles

La superficie oléicole mondiale est estimée à 8 600 000 hectares, dont 95% se situent dans le bassin méditerranéen. La production moyenne en olive est de 10 millions de tonnes par an dont 92% sont utilisés pour l'extraction d'huile, le reste étant consommé en tant qu'olives de table (Roussas et al., 2006). Cette extraction laisse par le système classique de pressage deux résidus, l'un liquide: les margines (eaux contenues dans l'olive, eaux de lavage, eaux liées au

processus de traitement), l'autre solide : les grignons (peaux, résidus de la pulpe, fragments de noyaux) (**Mulinacci et al., 2005 ; Chimi, 2006**).

2.1. Margines

Les margines, eaux de végétation, sont constituées en fonction du système d'extraction : des eaux de lavage du fruit, des eaux de rinçage de trémies de stockage, des eaux ajoutées au cours du malaxage, des eaux de nettoyage et des eaux de végétation de l'olive elle-même, qui représentent à elles seules 40 à 50% des eaux (**Nefzaoui, 1991**).

2.2. Grignons d'olive

Les grignons sont des résidus solides issus de la première pression ou centrifugation et sont formés des pulpes et noyaux d'olives. (**Benyahia et Zein, 2003**). Selon le procédé d'extraction et l'équipement des huileries, il est possible de distinguer trois types de grignons: le grignon brut, c'est le résidu de la première extraction de l'huile par pression de l'olive entière, ses teneurs relativement élevées en eau (24%) et en huile (9%) favorisent son altération rapide lorsqu'il est laissé à l'air libre, le grignon épuisé, c'est le résidu obtenu après déshuilage du grignon brut par un solvant, généralement l'hexane. Il diffère, essentiellement, par une plus faible teneur en huile et une teneur en eau réduite du fait qu'il ait été déshydraté au cours du processus de l'extraction et le grignon partiellement dénoyauté, qui résulte de la séparation partielle du noyau de la pulpe par tamisage ou ventilation, il est dit "gras" si son huile n'est pas extraite par solvant, il est dit "dégraissé ou épuisé" si son huile est extraite par solvant (**FAO, 1984 ; Chaabane et al., 1997**).

3. Propriétés physicochimiques des déchets oléicoles

3.1. Propriétés physicochimiques des margines

Les margines se présentent comme un liquide résiduel aqueux, de couleur brune rougeâtre à noire avec une forte odeur d'olive et un aspect trouble (**Ranalli et al., 1991**). Ces effluents sont généralement constitués de : 83.2% d'eau, 15% de substances organiques (composés phénoliques, lipides, sucres, protéines, ...) et 1.8% de substances minérales (potassium, sodium, magnésium, ...) (**Fiestas et Borja, 1992 ; Yaakoubi et al., 2009**). Leurs valeurs de pH sont comprises entre 4,2 et 5,9 (**Eroglu et al., 2008**).

3.2. Propriétés physicochimiques des grignons

Cet effluent semi-solide a une teneur en eau d'environ 65%, un pH légèrement acide, une teneur très élevée en matière organique et une proportion considérable de graisses (Tableau 1) (Cucci et al., 2008).

Tableau 1 : Composition physico-chimique du grignon d'olive (valeur en poids sec). (Cucci et al., 2008).

Paramètres	Valeurs
pH	5.15
Humidité (g.100g ⁻¹)	55.80
Carbone organique (g.100g ⁻¹)	51.77
Phénol (mg.g ⁻¹)	12.37
Graisses (g.100g ⁻¹)	10.93
N Total (mg.g ⁻¹)	1.18
P Total (mg.g ⁻¹)	0.15
K Total (mg.g ⁻¹)	1.03
Zn (mg.g ⁻¹)	20.00
Mn (mg.g ⁻¹)	10.00

4. Propriétés microbiologiques des déchets oléicoles

4.1. Propriétés microbiologiques des margines

Des analyses microbiologiques ont montré que les levures et les champignons sont capables de s'y développer mieux que les bactéries (Aissam et al., 2002). 130 espèces de microorganismes lipolytiques (56 champignons, 22 levures et 52 bactéries) ont été isolés des margines. Des bactéries cellulolytiques, des champignons pectinolytiques et des actinomycètes sont également isolés (Ramos-Cormenzana, 1986). Plusieurs genres de levures sont isolées et identifiées dans les margines : *Saccharomyces*, *Candida* et *Williopsis* (Ciopardini et al., 2006).

4.2. Propriétés microbiologiques des grignons

Les champignons filamenteux, contrairement aux organismes unicellulaires sont les mieux adaptés à la FMS (Fermentation en milieu solide) en raison de leur capacité à la colonisation des substrats par l'émission de filaments et au pouvoir antimicrobien exercé par les phénols et les pigments bruns sur les parois cellulaires des microorganismes (Hamdi et Ellouz, 1993).

5. Problèmes liés aux déchets oléicoles

Le rejet des effluents des industries productrices d'huiles d'olive est un problème majeur surtout dans les pays du bassin méditerranéen. Ces rejets fortement pollués causent de sérieux dégâts environnementaux (Benyahia et Zein, 2003).

5.1. Problèmes causés par les margines

- **Pollution de sol :** Epanchées sur les sols, les margines diminuent leur qualité. Certaines de ses substances toxiques telles que les phénols peuvent inhiber l'activité microbienne du sol, d'autres résidus de pesticides notamment sont nocives aux plantes (Benyahia et Zein, 2003).
- **Pollution d'eau :** Les margines sont peu dégradables à cause des substances phytotoxiques et antimicrobiennes (phénols, acides gras volatiles, insecticides, etc.) qu'elles contiennent. Lorsqu'elles sont rejetées dans des récepteurs naturels, des cours d'eau nuisent fortement à la qualité de ces eaux de surfaces. La très forte charge en matières organiques empêche ces eaux de s'auto-épurer et la pollution peut s'étendre sur de très longues distances. D'autre part, l'épandage des margines sur les sols, riches en éléments azotés, peut causer une pollution par les nitrates des nappes situées dans la zone ou à proximité de la zone d'épandage (Benyahia et Zein, 2003).
- **Pollution d'air :** Les fortes teneurs en matières organiques contenues dans les margines ainsi que leurs acidité sursaturent le milieu naturel provoquant des conditions d'anaérobiose favorables aux dégagements d'odeurs désagréables liées à formation d'hydrogène sulfureux (H₂S) lors des processus de fermentation (Moumni, 2014).

5.2. Problèmes causés par les grignons

- **Pollution de sol :** Le grignon d'olive présente aussi quelques inconvénients sur l'agriculture à cause de la difficulté de l'intégrer uniformément dans le sol et sa toxicité pour les plantes en raison de sa quantité importante de polyphénols (**Lynch, 1980**).
- **Pollution d'eau :** La majorité des grignons sont rejetés dans la nature et sont source de pollution soit parce qu'ils sont contaminés par des champignons, soit parce qu'ils rejettent des substances toxiques dans l'environnement. Les toxines fongiques ou les composés polyphénoliques qui résistent à la dégradation bactérienne peuvent alors se lixivier, menaçant ainsi la santé humaine et l'environnement. Certaines sources d'eau ont été polluées (**Kadi et Grasas, 2001**).

6. Traitement et valorisation des déchets oléicoles

L'absence de méthodes de traitement adaptées pousse les propriétaires de moulins à huile à rejeter ces eaux dans la nature sans aucun contrôle ou à surcharger avec ces substances toxiques un réseau d'égout pas adapté (**Benyahia et Zein, 2003**).

6.1. Traitement des déchets oléicoles

De nombreuses méthodes technologiques ont été développées pour le traitement de ces effluents. Les traitements biologiques comprenant à la fois les processus aérobies et anaérobies (**Toscano et Montemurro, 2012**), et aussi le traitement de ces effluents d'olives par compostage (**Arvanitoyannis et Kassaveti, 2007**).

- **Traitement aérobie :** Le traitement aérobie (bioremédiation) consiste à dégrader par voie biologique les polluants organiques présents dans la margine, grâce aux microorganismes qui consomment l'oxygène dissous dans l'eau en modifiant l'équilibre naturel. Plusieurs études ont été réalisées à l'aide de microorganismes capables de se développer en aérobie sur des margines afin de réduire la charge organique initiale des polyphénols (**Hamdi et al., 1991 ; Borja et al., 1995**). L'étude de la bioremédiation fongique des margines chez trois types d'organismes: les champignons blancs *Lentinula* et *Pleurotus*, *Aspergillus sp*, et plusieurs levures différentes a montré la réduction de la DCO (Demande Chimique en Oxygène),

l'élimination des composés phénoliques simples et la réduction de la coloration des margines (McNamara et al., 2008).

- **Traitement anaérobie ou bio-méthanisation :** c'est un procédé biochimique de fermentation dans lequel les substances organiques telles que les protéines, les lipides ou les hydrates de carbone sont dégradés par fermentation, ce traitement demande peu d'énergie et produit peu de rejets que le traitement biologique aérobie. Le produit résultant de ce traitement est utilisé pour l'agriculture c'est le bio-méthane. (Amrani et Bendidi, 2014). La production de ce dernier par cette technique est largement étudiée, depuis déjà un demi-siècle (Nefzaoui, 1988). Elle permet de transformer environ 80% des substances organiques en biogaz (65 à 70% de méthane). Ces traitements anaérobies permettent de réduire la consommation en énergie et la production des boues. Ils présentent aussi l'avantage de produire du méthane et de limiter les dégagements de mauvaises odeurs. Par contre, ils sont aussi très limités à cause de la toxicité élevée des composés phénoliques et des tanins, de la faible biodégradabilité des polymères de couleur foncée et de l'acidification des réacteurs (Rober et al., 1999).
- **Compostage :** Il est l'une des principales technologies pour recycler les margines et les transformer en fertilisants (Roig et al., 2006). Durant le compostage, les microorganismes autochtones dégradent en aérobiose les composés de carbone organique tels que les protéines, les acides aminés et les peptides en CO₂, eau, sels minéraux et des matières organiques stables contenant des substances de type humiques (Senesi et al., 1989).

6.2. Valorisation des déchets oléicoles

- **Epandage**

L'épandage agricole des margines constitue une alternative permettant de les valoriser, mais à condition que cette opération soit contrôlée et maîtrisée en respectant les doses à appliquer (Sahraoui, 2012).

Les margines contiennent une forte concentration de matière organique et certains éléments nutritifs, en particulier le potassium, qui pourrait être utilement utilisé pour améliorer les propriétés physico-chimiques et biologiques, puis la fertilité et la productivité du sol (**Roig et al., 2006**).

Le grignon d'olive humide est un matériau organique lignocellulosique et pourrait être commodément réutilisé dans l'agriculture. L'application de grignons humides induit une amélioration générale de la fertilité du sol (**Cucci et al., 2008**).

- **Production d'enzymes**

Les espèces des champignons lipolytiques, telles que *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger* et *Candida cylindracea*, caractérisés par leur capacité à se développer sur des margines non diluées produisent une lipase extracellulaire (**D'Annibale et al., 2006**). Les margines ont également été considérées comme un substrat pour la production d'enzymes ligninolytiques extracellulaires telles que la peroxydase de lignine, la peroxydase à manganèse et laccase par un champignon de la pourriture blanche *Phanerochaete flavido-alba* (**Ruiz et al., 2002**).

- **Production des polymères et protéines d'organismes unicellulaires**

Les margines contiennent des sucres libres, des acides organiques, des protéines et d'autres composés tels que les composés phénoliques qui pourraient servir de source de carbone pour la production de polymères, si le microorganisme choisi est capable de métaboliser ces composés (**Fiorentino et al., 2004**).

Le champignon *Botryosphaeria rhodina* a été utilisé pour la production de β -glucan de margine avec un rendement de 17,2 g/l (**Crognale et al., 2003**). D'une autre part, l'usage des microorganismes pour la production des protéines d'organismes unicellulaires peut être considéré comme un prétraitement pour les eaux résiduelles à charge organique élevée, permettant d'obtenir d'une part, une diminution de 50 à 70% de la charge polluante et d'autre part, une biomasse protéique qu'on peut utiliser pour l'alimentation animale (**Zenjari, 2000**).

Matériel
et
méthodes

1. La souche fongique

La moisissure utilisée, provient de la collection du laboratoire de Biologie et environnement au Biopôle de Chaab-Errsas. Université des Frères Mentouri. Constantine, elle appartient au genre *Aspergillus*.

2. Réactivation de la souche

Les pré-cultures sont réalisées par l'ensemencement, sur milieu Malt Extract Agar (**Annexe 1**), sur boîte de Pétri, à l'aide d'une anse de platine stérile par touche centrale. La boîte est incubée dans une étuve à 25° C pendant 6 jrs.

3. Echantillonnage

Les margines et les grignons utilisées proviennent d'une huilerie moderne au niveau de la wilaya de Mila.

4. Préparation de pré-culture

Prendre des disques mycéliens à partir de la boîte de réactivation et on les ensemence dans un erlenmeyer qui contient 25 % des margines. Enfin on incube dans un agitateur à 160 rpm à une température de 25° C durant 6 jrs.

5. Optimisation de dégradation des margines

Le but de l'optimisation est de connaître les facteurs qui font augmenter la dégradation des margines.



Photographie 1 : Les 28 essais avant fermentation.

5.1. Criblage des facteurs

Afin de mettre en évidence les facteurs influençant la dégradation du déchet, on a étudié l'effet de 27 facteurs différents (21 facteurs réels et 6 facteurs erreurs) (**Tableau 2**), avec des valeurs définies (**tableau 3**). Une fois qu'on a effectué l'expérience en utilisant les plans de Plackett-Burman et saisi les résultats, on a introduit ces valeurs dans le logiciel de traitement **MINITAB 17**. Ce dernier est particulièrement bien adapté à l'analyse statistique de petits tableaux de données bien structurés: statistique descriptive, analyse de la variance, méthodes relatives à la corrélation et à la régression simple et multiple, contrôle statistique de la qualité, plans expérimentaux, etc. Les plans d'expériences, inclus dans Minitab, nous permettent d'analyser simultanément les effets de variables d'entrée (facteurs) sur une variable de sortie (réponse). Ces plans d'expériences consistent en une série d'essais (ou tests) au cours desquels les variables d'entrée sont intentionnellement modifiées. Des données sont collectées à chaque essai.

5.2. Plan composite centré

Le criblage est une étape qui a été réalisée afin de trouver les facteurs qui ont le plus d'effet, ces facteurs sont le NH_4NO_3 , le pH et la dilution, donc on s'est basé sur cette étape pour réaliser le plan composite centré.

Le plan composite centré est le plan de surface de réponse le plus utilisé. Ils comprennent un plan factoriel avec des points centraux. Le tableau 4 représente la matrice du plan composite centré des 3 facteurs influençant la dégradation du déchet.

Les domaines expérimentaux ont été définis aux niveaux suivants : une valeur du point central (0), le minimum (-1), le maximum (+1) ainsi que les valeurs axiales : $(-\alpha)$ valeur minimale et $(+\alpha)$ valeur maximale. Le tableau 5 illustre la conception expérimentale et les niveaux de variables indépendants de processus.

5.3. Essai de confirmation

Un dernier essai est effectué en utilisant les valeurs optimisées 1.5 g/L, 37.5% et 4 successivement pour les facteurs NH_4NO_3 , dilution et pH.

Tableau 2: Matrice d'optimisation pour fermentation sur milieu submergé.

StdOrder	Glucose	Amidon	E.Malt	Dummy 1	E.Levure	Peptone	(NH ₄) ₂ SO ₄	Dummy 2	Tween 80	Ethanol	CaCl ₂	Dummy 3	NaCl	(NH ₄) ₂ SO ₄	MnSO ₄	Dummy 4	ZnSO ₄	FeSO ₄	CuSO ₄	Dummy 5	pH	Dilution	Inoculum	Dummy 6	Lumière	T°	Agitation
1	1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	1	-1	1
2	1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	1	-1	1	-1
3	-1	1	1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	1	-1	1
4	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	1	-1
5	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1	-1
6	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	1	-1
7	1	1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	-1
8	1	1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	-1
9	1	1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	1	-1
10	1	1	-1	1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	1	-1
11	-1	1	1	1	1	1	1	1	1	-1	1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	-1
12	1	-1	1	-1	1	1	1	1	1	-1	1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1
13	1	-1	1	1	1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	1	-1	1	-1	1	1	-1	1
14	1	1	-1	-1	1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1
15	-1	1	1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	-1
16	1	-1	1	1	-1	1	1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	-1
17	1	1	-1	1	1	1	1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	-1
18	-1	1	1	1	1	1	1	1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	-1
19	-1	1	-1	-1	1	1	1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	-1	-1
20	-1	-1	1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	1	-1	-1
21	1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	-1	-1
22	-1	-1	1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	-1
23	1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	-1
24	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	-1
25	-1	-1	1	-1	1	1	1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	-1	1	-1
26	1	-1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	-1
27	-1	1	-1	-1	1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	-1	1	-1
28	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1

Tableau 3: Valeurs des facteurs d'optimisation pour fermentation sur milieu submergé.

Facteur	-1	1	Unité
Glucose	0	5	g/l
Amidon	0	5	g/l
E.Malt	0	5	g/l
Dummy 1			
E.Levure	0	2	g/l
Peptone	0	2	g/l
NH₄NO₃	0	2	g/l
Dummy 2			
Tween 80	0	2	%
Ethanol	0	3	g/l
CaCl₂	0	100	μM
Dummy 3			
NaCl	0	10	g/l
NH₄SO₄	0	2	g/l
MnSO₄	0	150	μM
Dummy 4			
ZnSO₄	0	150	μM
FeSO₄	0	150	μM
CuSO₄	0	150	μM
Dummy 5			
pH	4	5	
Dilution	25	50	%
Inoculum	0,5	1	ml
Dummy 6			
Lumière	Absence	Présence	
Température	25	28	° C
Agitation	0	160	rpm

Tableau 4 : Matrice du plan composite centré à 3 facteurs.

StdOrder	NH ₄ NO ₃	pH	Dilution
1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1
3	-1	1	-1
4	1	1	-1
5	-1	-1	1
6	1	-1	1
7	-1	1	1
8	1	1	1
9	(-α)	0	0
10	α	0	0
11	0	-α	0
12	0	α	0
13	0	0	-α
14	0	0	α
15	0	0	0
16	0	0	0
17	0	0	0
18	0	0	0
19	0	0	0
20	0	0	0

Tableau 5 : Valeurs des 3 facteurs du plan composite centré.

	(-α)	-1	0	1	(+α)
NH ₄ NO ₃ (g/l)	0,66	1	1,5	2	2,34
pH	4	4,2	4,5	4,8	5
Dilution %	16,5	25	37,5	50	58,5

6. Paramètres physicochimiques

Après la fermentation, une étude des paramètres physicochimiques a été effectuée à fin de savoir le degré de dégradation du déchet.

6.1. Biomasse sèche

Après l'incubation, la biomasse est séparée par filtration sur papier Whatman n°1, le poids sec est déterminé après séchage dans une étuve à 70°C, jusqu'à poids constant pour chaque souche. (**Photographies 2 et 3**).



Photographie 2 et 3: La biomasse après séparation et séchage dans l'étuve.

6.2. pH

Déterminer les valeurs de pH avec un pH mètre. (Nahita pH METER MODEL 903), en rinçant la sonde à l'eau distillée puis l'essuyer avec du papier absorbant et la tremper dans la solution. Après stabilisation de l'afficheur, relever le pH.

6.3. Conductivité électrique

La mesure de la conductivité électrique de la solution s'effectue par un conductimètre en immergeant dans une cellule de mesure. Le conductimètre affiche directement la conductivité.

6.4. Humidité

L'humidité d'une matière englobe toutes les substances qui s'évaporent par chauffage dans l'étuve à 60°C pendant 24 h, en entraînant une perte de poids de l'échantillon. La perte de poids est mesurée par une balance et interprétée comme taux d'humidité.

$$H (\%) = m_{\text{eau}} / m_{\text{total}} \times 100$$

m_{eau} : masse de vapeur d'eau

m_{total} : masse du produit.

6.5. Matière organique

La perte au feu permet de mesurer directement la matière organique dans nos échantillons. On place les échantillons, utilisés pour les mesures d'humidité, pendant 5h dans un four à moufle à 600 °C. La perte de poids après incinération donne la matière organique.

6.6. Matière minérale

Après incinération dans le four à moufle, le poids qui reste c'est la matière minérale.

6.7. Couleur

La couleur est mesurée avec spectrophotomètre à une longueur d'onde de 525 nm.

6.8. Produits aromatiques

Les produits aromatiques sont mesurés par une lecture directe sur spectrophotomètre à 280 nm.

6.9. Produits phénoliques

Les produits phénoliques sont évalués par l'utilisation des réactifs Na_2CO_3 et de Folin Ciocalteu, avec les volumes suivants.

- **625 μl** Na_2CO_3 à 20%
- **125 μl** Folin Ciocalteu
- **250 μl** échantillon.

Puis incubés pendant 30 min à l'obscurité et lus au spectrophotomètre à 750 nm. Le blanc contient de l'eau distillée à la place de l'échantillon.

Résultats
et
discussion

1. Analyse physicochimique du déchet brut

Dans cet étape on a utilisé le déchet brut des margines à différentes dilutions et pH et réalisé des mesures des paramètres physicochimiques ; les valeurs obtenus sont représentées dans le tableau 6 et les figures 5, 6, 7, 8, 9, 10 et 11.

Tableau 6 : Mesures des paramètres physicochimiques de déchets bruts.

Echantillons	pH	Conductivité électrique (mS/cm)	Humidité (%)	Matière organique (%)	Matière minérale (%)	Couleur (A)	Produits aromatiques (A)	Produits phénoliques (A)
Margine 25%	4	7.7	97.04	85.51	14.48	0.17	39.2	57.4
Margine 25%	5	6.9	96.06	89.50	10.49	0.115	31.2	36.9
Margine 50%	4	7.1	93.74	93.38	6.62	0.395	78.4	78.6
Margine 50%	5	6.1	95.50	89.31	10.69	0.179	65.6	60

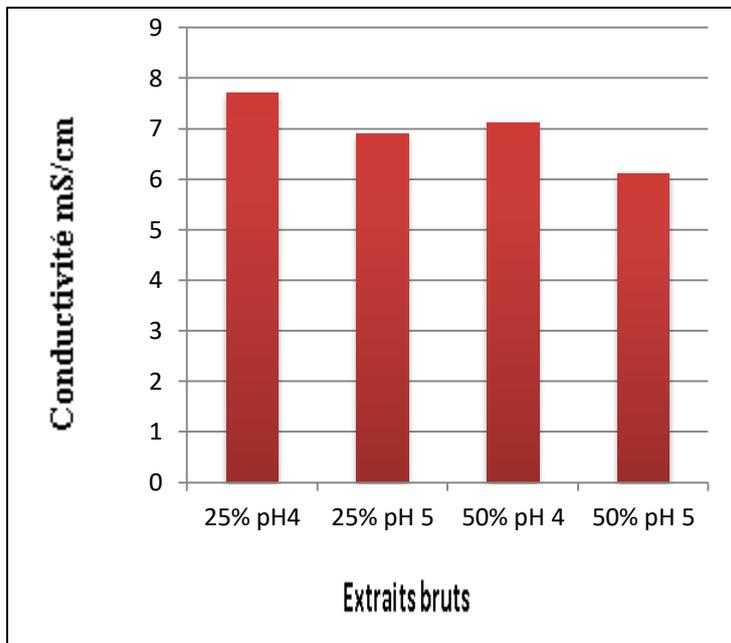


Figure 5 : Histogramme représentant la conductivité électrique des extraits bruts.

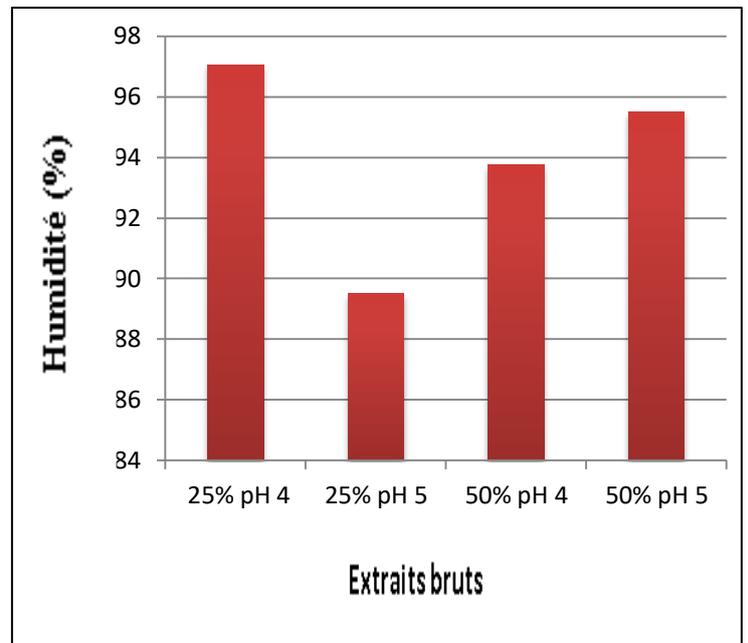


Figure 6 : Histogramme représentant l'humidité des extraits bruts.

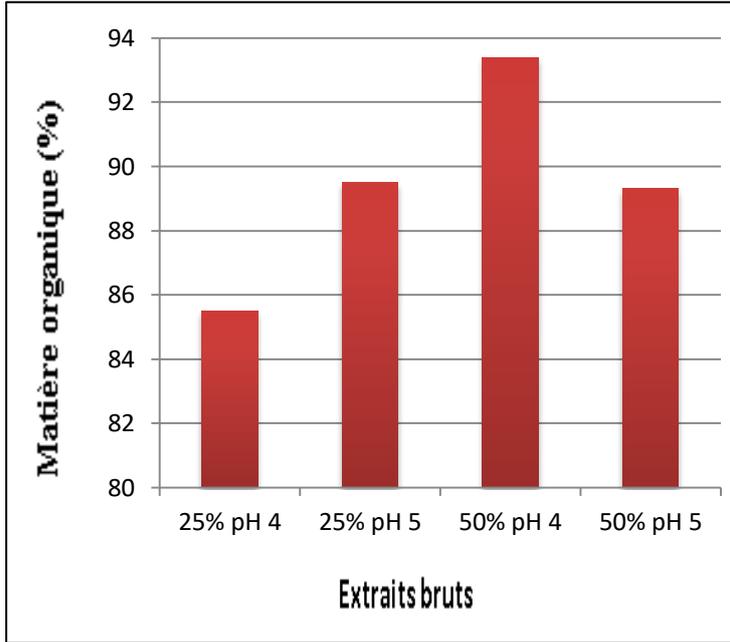


Figure 7 : Histogramme représentant la matière organique des extraits bruts.

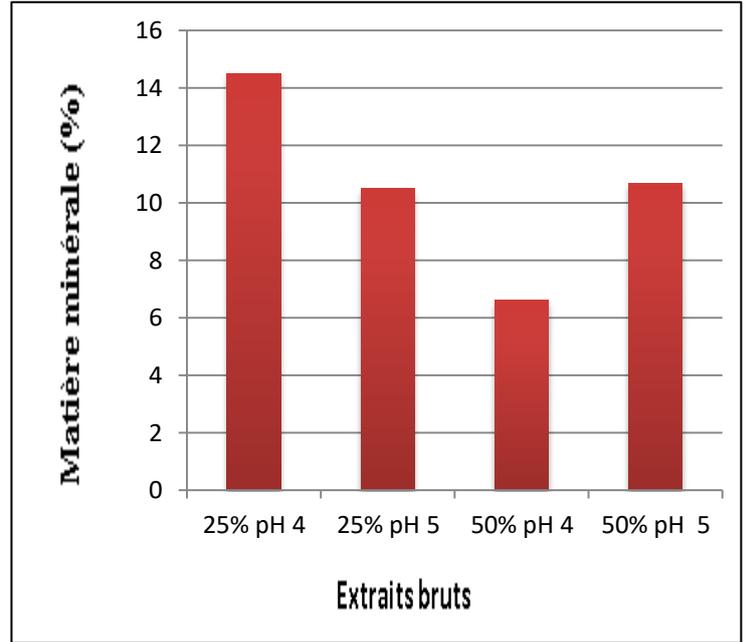


Figure 8 : Histogramme représentant la matière minérale des extraits bruts.

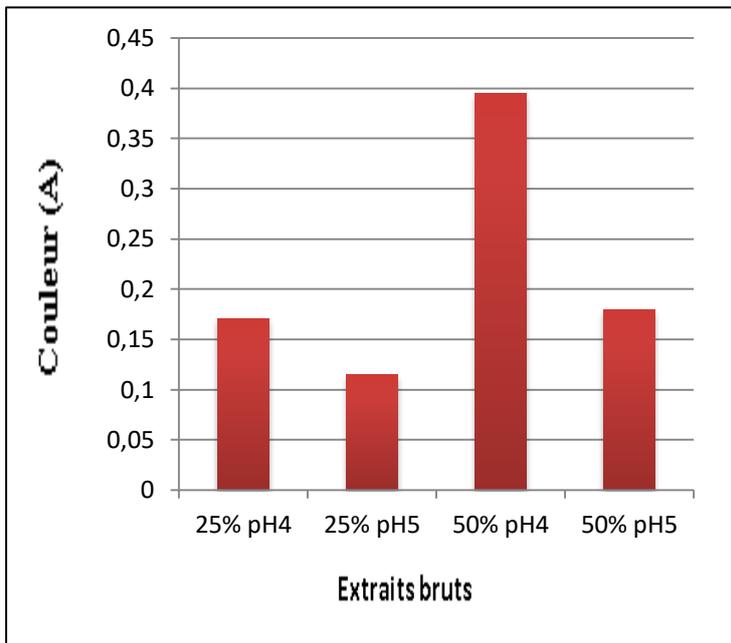


Figure 9 : Histogramme représentant l'intensité de la couleur des extraits bruts.

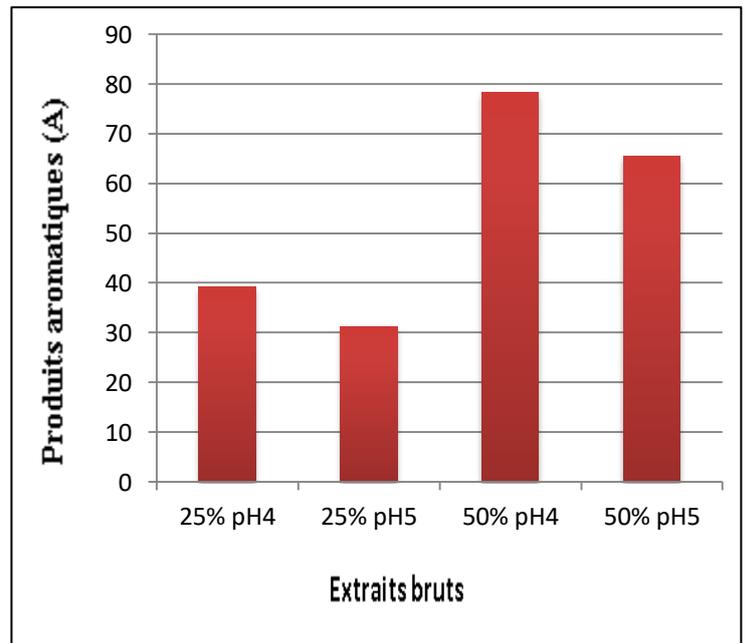


Figure 10 : Histogramme représentant les produits aromatiques des extraits bruts.

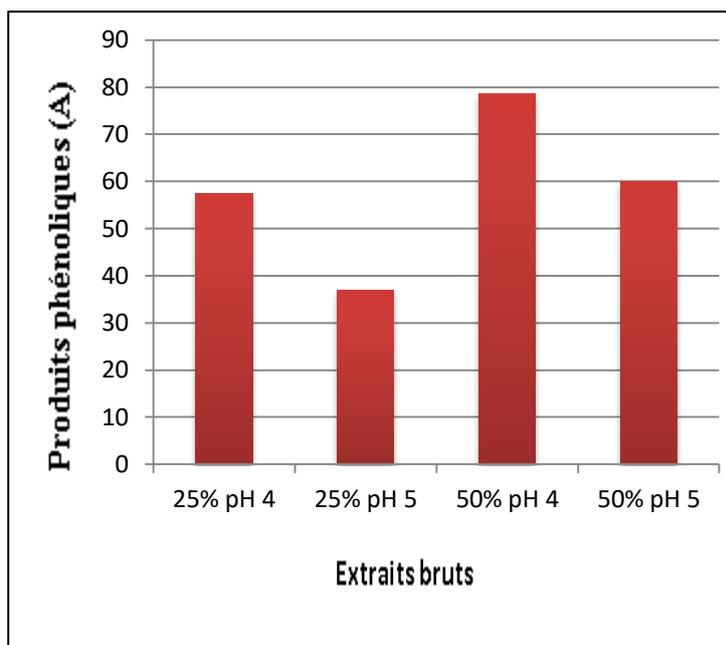


Figure 11 : Histogramme représentant les produits phénoliques des extraits bruts.

L'étude comparative de ces résultats avec ceux des autres auteurs, travaillant sur le même thème, a révélé que les effluents d'huileries d'olive présentent, selon **Aissam (2003)** et **Fiorentino et al. (2003)** une composition plus au moins variable qui dépend de la qualité des olives, de leur degré de maturité, du système d'extraction et de la qualité d'eau rajoutée lors de la phase d'extraction de l'huile.

Au cours de cet expérimentation, on utilise des margines présentent un pH acide (4 et 5). (**Tableau 6**) qui est la conséquence de la présence des acides organiques (acides phénoliques, acides gras...). Cette valeur se trouve dans la fourchette citée dans la littérature (4,5 à 6), ce qui rejoint les travaux de **Yaakoubi et al. (2010)** et **El Hadrami et al. (2004)**.

La conductivité électrique, dont la valeur est de 7,7 mS/cm (**Figure 5**), est étroitement liée à la concentration de substances dissoutes et à leur nature, elle est due surtout aux ions potassium, chlorure, calcium et magnésium (**Yahiaoui, 2012 ; Esmail et al., 2014**). Les résultats obtenus au cours de cette étude (**Figure 5**) sont proches de ceux trouvés dans la littérature d'**Abichou et al. (2003)** et **Dakhli et al. (2014)**.

Les valeurs de l'humidité des margines brutes sont consignées dans le tableau 6 et la figure 6. Il ressort que les taux d'humidité des margines sont de 93.74%, 95.5%, 96.06% et

97.04 % respectivement pour les extraits 50% pH4, 50% pH5, 25% pH 5 et 25% pH 4. Ces pourcentages représentent la masse d'eau obtenue par calcul après dessiccation par rapport à la masse initiale. Les valeurs enregistrées dans cet étude, est proches à ceux notées dans d'autres travaux qui donnent une valeur de 90% (**Fiestas Ros de Ursinos, 1981**).

Le contenu des quatre extraits bruts en matière organique (MO) est représenté dans le tableau 6 et la figure 7. Ces extraits étudiés contiennent un taux relativement fort en matière organique. La teneur la plus élevée est observée pour les margines (93,38%). Cette teneur est supérieure à celle rapportée par plusieurs auteurs qui notent des valeurs de 78,57% et 90% (**Hachicha et al., 2008; Aissam, 2003**). Les différences notées peuvent être dues aux conditions climatiques, aux méthodes d'extraction de l'huile d'olive ainsi qu'au temps de stockage des olives avant leur maturation.

Comme la matière minérale (MM) est le complément à 100 de la matière organique après incinération, il est logique que les teneurs en MM soient l'inverse par rapport aux teneurs en MO (**Tableau 6 ; Figure 8**). Il apparaît clairement que les quatre extraits bruts renferment des teneurs en matière minérale variable soit 6.62% et 14.48%. Cependant **Hachicha et al. (2008)**, indiquent un taux relativement élevé (21,42%) par rapport aux margines étudiées et à ceux notées par la littérature (**Aissam, 2003**). Cette différence notée peut être expliquée par le degré de maturation et la variété des olives. Cette dernière est rarement mentionnée dans la littérature.

On a travaillé avec des margines d'une couleur brune-rougeâtre à noir, cette couleur est exprimée par les valeurs des absorbances de 0.395, 0.179, 0.115 et 0.17 successivement pour 50% pH 4, 50% pH 5, 25% pH 5, 25% pH 4 rapportées dans la figure 9. La couleur typique brune-noirâtre des margines est expliquée par la présence des polymères de polyphénols. Ils constituent de la lignine à pH acide comme structure plus stable et qui résiste à la dégradation (**Bazoti et al., 2006**).

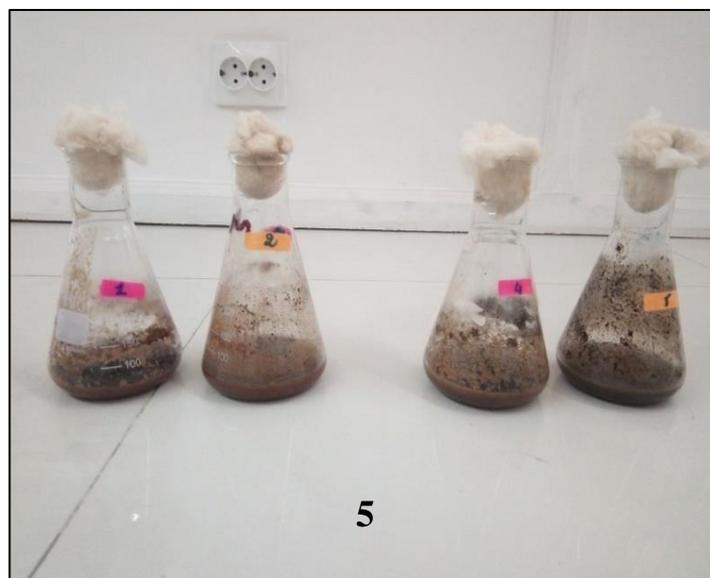
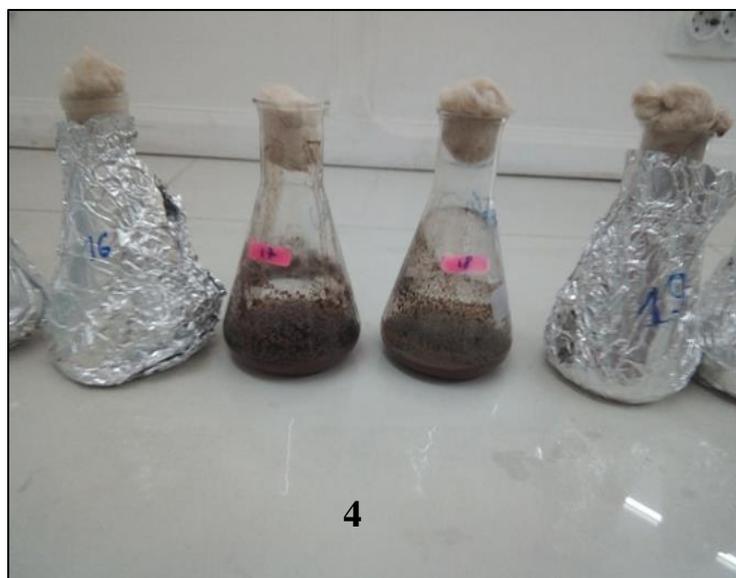
Les produits aromatiques des extraits bruts sont extériorisés par les valeurs des absorbances 78.4, 65.6, 39.2 et 31.2 respectivement pour 50% pH 4, 50% pH 5, 25% pH 4, 25% pH 5 (**Figure 10**). Ce sont des molécules de faible poids moléculaire (inférieur à 300 Da) possédant une volatilité à température ambiante. L'odeur présent dans les margines est due à la capacité de certaines de ces molécules volatiles à atteindre les récepteurs olfactifs du nez (**Angerosa, 2002**). Ces composés volatiles sont majoritairement des produits de l'oxydation des acides gras. D'une manière générale, les enzymes endogènes présentes dans

les margines, vont dégrader les acides gras. A l'inverse, les produits d'oxydation chimique où dus à des enzymes exogènes (activité microbiologique) seront généralement associés à des défauts sensoriels (toxicité) (Venkateshwarlu, 2004). Le degré de toxicité des composés aromatiques dépend de leur nature et de leur degré de polymérisation (Field et Lettinga, 1987).

Pour le dosage des produits phénoliques, on a utilisé la méthode de Folin – Ciocalteu qui a donné les valeurs 78.6, 60, 57.4 et 36.9 pour respectivement 50% pH 4, 50% pH 5, 25% pH 4, 25% pH 5 (Figure 11). Selon Sayadi et Ellouz (1995), la variété de composés phénoliques dans les margines est en fait en étroite relation avec l'état de maturation des olives et du système d'extraction d'huile d'olive. On distingue des composés phénoliques de faible poids moléculaire tels que les acides phénoliques, les phénols, les flavonoïdes, les glucosides phénoliques et d'autres qui ont des poids moléculaires élevés comme les tannins, les anthocyanines et les catéchines.

2. Optimisation de dégradation des margines

Après la fermentation, la récupération des essais et l'étude des différents paramètres physico-chimiques ont été effectuées (Photographies 4, 5, 6 et 7).



Photographie 4 et 5 : La récupération des essais après fermentation.



Photographie 6 et 7 : Essai avant et après fermentation.

2.1. Criblage des facteurs

Le criblage des facteurs consiste à distinguer les facteurs les plus influents sur la dégradation des margines. Les valeurs obtenues par ces expériences sont représentées dans le tableau 7.

Tableau 7: Mesures des paramètres physicochimiques après la fermentation.

Essais	Biomasse sèche (g)	pH	Conductivité électrique (mS/cm)	Couleur (A)	Produits aromatiques (A)	Produits phénoliques (A)	Humidité (%)	Matière organique (%)	Matière minérale (%)
1	2.012	2.96	14.5	0.316	39.9	49.25	98.06	93.3	6.7
2	2.068	2.82	15.3	0.207	30.3	40.1	97.62	89.26	10.74
3	1.396	5.15	2	0.535	19.6	29.65	99.46	75.86	24.13
4	2.197	3.97	8.7	0.386	28.9	39.65	96.22	88.32	11.68
5	1.544	3.81	9.4	0.183	15.1	22.95	98.68	84.50	15.49
6	1.404	5.81	-2.1	0.684	54.4	53.7	96.67	87.67	12.33
7	2.43	3.38	12.1	0.210	40.2	85	96.40	89.21	10.79
8	2.21	4.55	5.2	0.386	75.9	42.2	98.11	87.23	12.77
9	1.218	2.31	18.2	0.381	31.8	31.45	98.15	89.09	10.91
10	1.59	2.66	16.2	0.352	20.1	25.85	97.28	63.23	36.76
11	2.105	3.78	9.7	0.247	52.8	31.35	99.43	48.38	51.61
12	1.915	4.46	5.7	0.246	22.3	23.8	96.72	85.48	14.52
13	1.02	2.97	14.4	0.226	16.9	23.4	97.11	37.20	62.79
14	1.401	4.10	7.8	0.191	20.9	26.25	98.73	74.60	25.39
15	2.717	3.98	8.6	0.229	25.4	33.8	96.80	93.24	6.76
16	1.11	3.94	8.7	0.160	18	23.2	97.13	88.91	11.09
17	2.617	2.92	14.8	0.576	27.3	33.25	98.32	90.24	9.76
18	2.033	3.49	11.4	0.305	23.8	28.45	97.96	85.37	14.63
19	2.01	2.31	18.3	2.8	62.8	52.1	94.96	87.09	12.91
20	2.489	4.32	6.5	0.210	23.1	32.05	97.81	91.66	8.34
21	1.865	3.20	13.1	0.187	21.8	33.4	99.14	73.81	26.19
22	2.296	4.14	7.6	0.332	43	55.75	95.20	92.89	7.11
23	1.112	5.18	1.6	0.630	33.1	44.25	97.75	77.62	22.38
24	1.173	2.23	18.7	0.223	24	40.25	98.10	82.79	17.20
25	1.006	2.51	17.1	0.185	20	32.85	98.41	66.8	33.33
26	1.511	3.51	11.4	0.217	21	29.5	98.45	82.66	17.33
27	1.347	4.79	3.8	0.363	25	22.25	99.32	81.82	18.18
28	1.145	3.27	12.8	0.182	20.9	34.05	97.52	85.5	14.5

2.1.1. Etude de la biomasse sèche

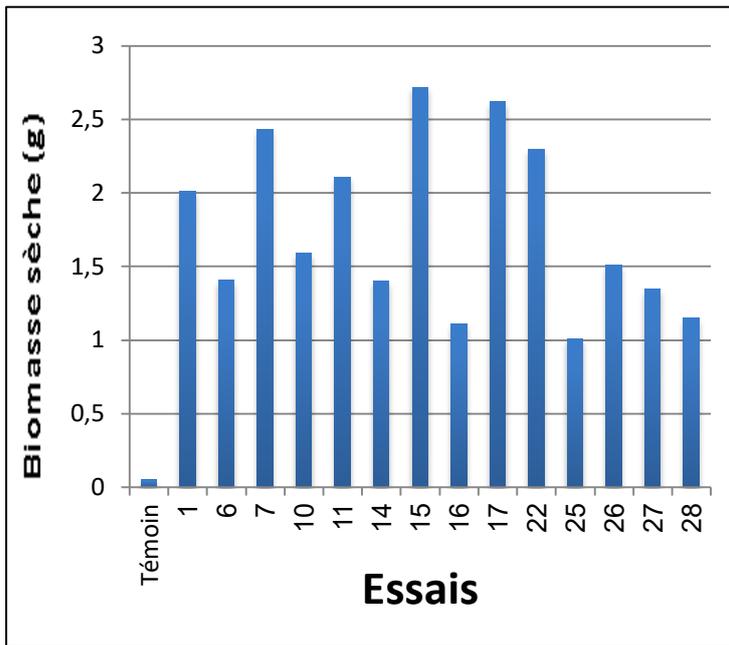


Figure a

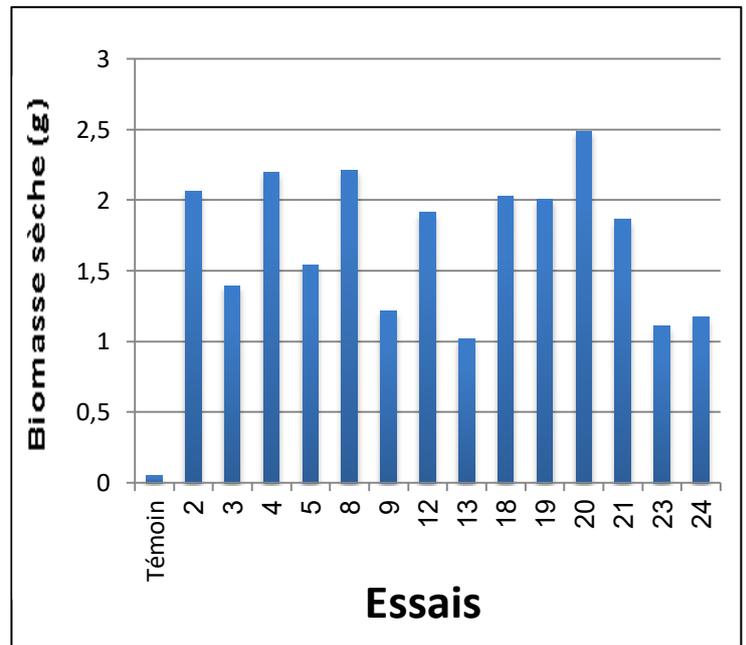


Figure b

Figure 12 : Histogrammes représentant la biomasse des essais.

D'après la **Figure 12**, on observe que la biomasse des essais augmente par rapport à celle des témoins, ce qui veut dire la moisissure a utilisée les nutriments du milieu pour croître. D'après **Samuel (2012)**, les champignons sont des êtres hétérotrophes, leur mycélium a besoin de plusieurs éléments pour se développer tel que le carbone, l'azote, les éléments minéraux...etc.

Les valeurs de biomasse obtenue dans laquelle on a utilisé 0.5 ml d'inoculum (**Figure 12 a**) sont supérieures aux valeurs de biomasse dont on a utilisé 1 ml d'inoculum (**Figure 12 b**) L'analyse des résultats montre que la meilleure production de biomasse est celle de l'inoculum 0.5 ml où l'inoculum est moins concentré.

2.1.2. Etude de pH

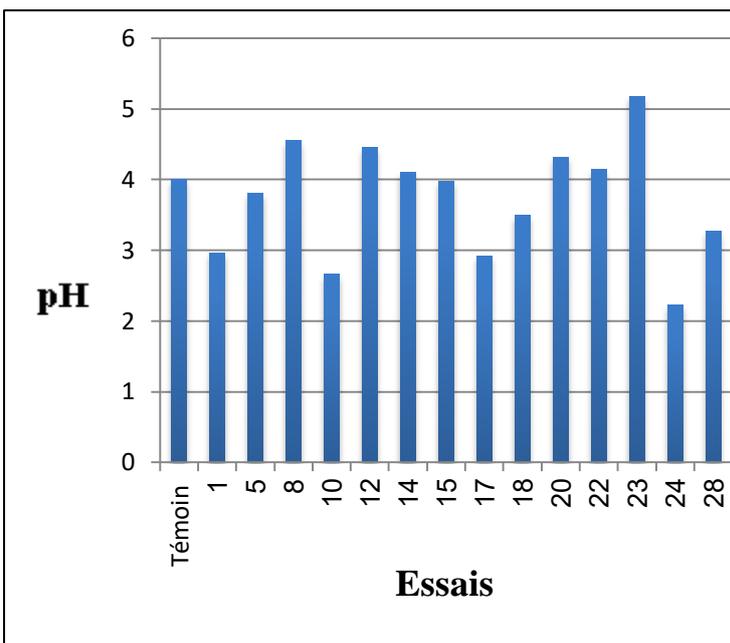


Figure a

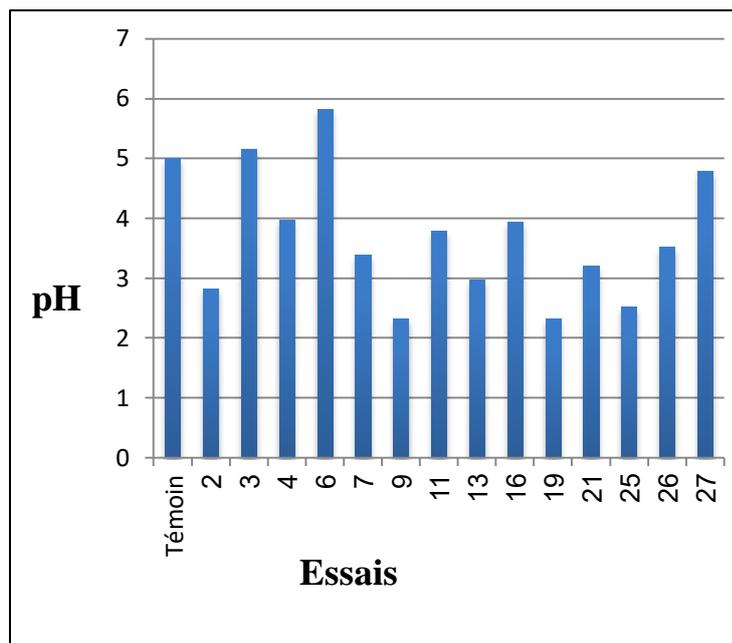


Figure b

Figure 13 : Histogrammes représentant le pH des essais.

On remarque également, au niveau de la (Figure 13 a) que les valeurs de pH des essais 8, 12, 14, 20, 22 et 23 ont augmentées par rapport au pH 4 jusqu'à l'approche de pH 5.18 par contre le reste des essais ont subi une diminution du pH jusqu'à pH 2.23. Mais au niveau de la (Figure 13 b), les valeurs de pH de tous les essais ont diminuées sauf les essais 3 et 6 qui ont augmentés jusqu' à 5.13 et 5.81 respectivement.

L'analyse de ces résultats montre qu'il y'a une petite élévation de pH dans les margines observées est dû probablement à la dégradation microbienne des suppléments azotés, libérant des ions NH_4^+ qui sont des bases, ou à la dégradation des acides phénoliques et organiques portant des groupements COO^- et/ou OH^- (Ercoli et Ertola, 1983). L'augmentation du pH vers des valeurs neutres entraine la transformation des phénols en phénates avec la formation d'ions $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}^-$ (Macheix et al., 1990).

D'autre part l'effet de la diminution peut être dû à l'action déterminante du pH initial sur le comportement des microorganismes choisis et à la composition des margines. Ceci est due à la dégradation des composés organiques portant des groupements $-\text{COOH}$ qui sont libérés et contribuent à une diminution légère du pH observé dans le milieu (Macheix et al., 1990).

2.1.3. Etude de la conductivité électrique

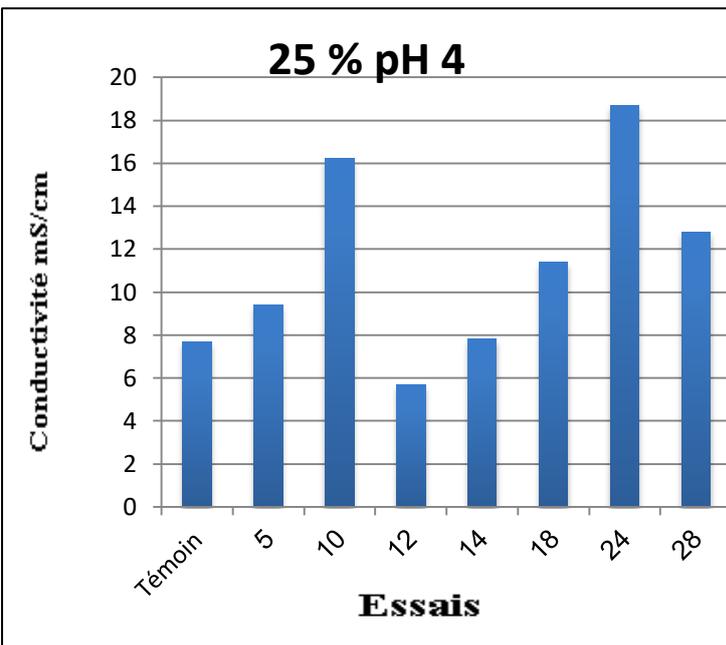


Figure a

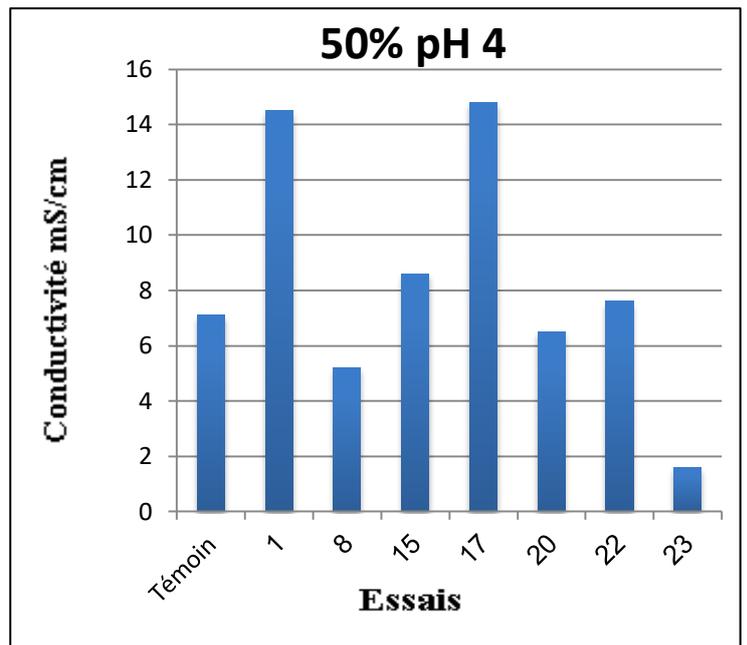


Figure b

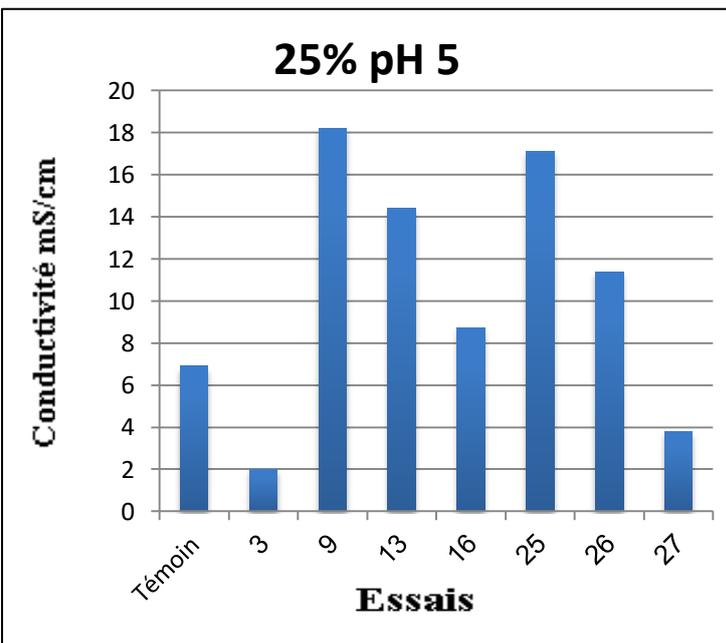


Figure c

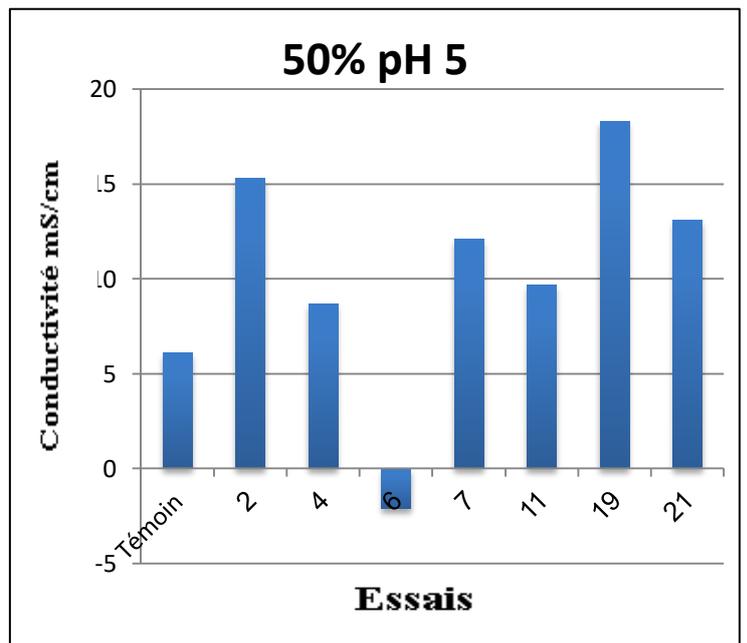


Figure d

Figure 14 : Histogrammes représentant la conductivité électrique des essais.

D'après les résultats obtenus, les extraits bruts étudiés présentent une conductivité électrique de 6.1 à 7.7 mS /cm. Après une comparaison, nous remarquons une augmentation significative de la conductivité électrique des essais par rapport à celle des témoins (Figure 14).

Et elle est due, selon Gallardo-Lara et Nogales (1987), à la richesse en sels minéraux, de cet effluent.

2.1.4. Etude de l'humidité, la matière organique et la matière minérale

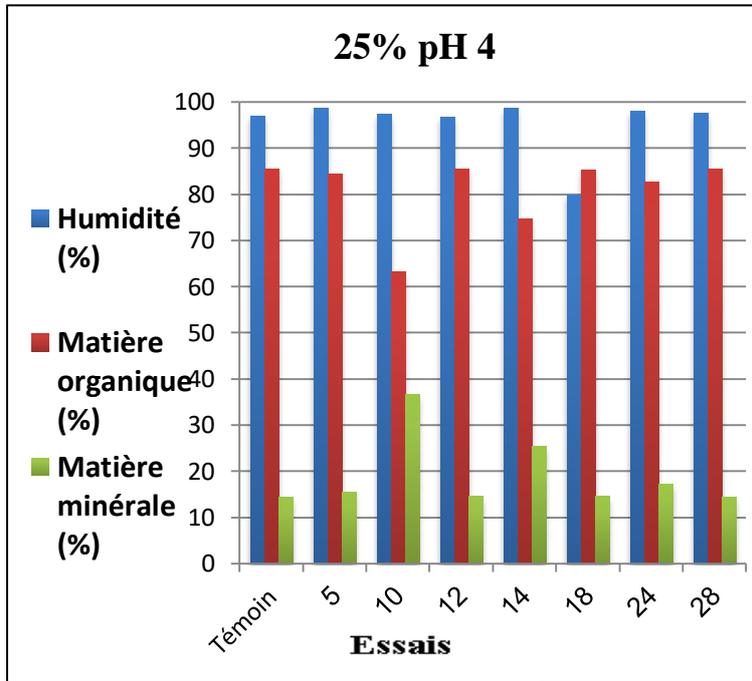


Figure a

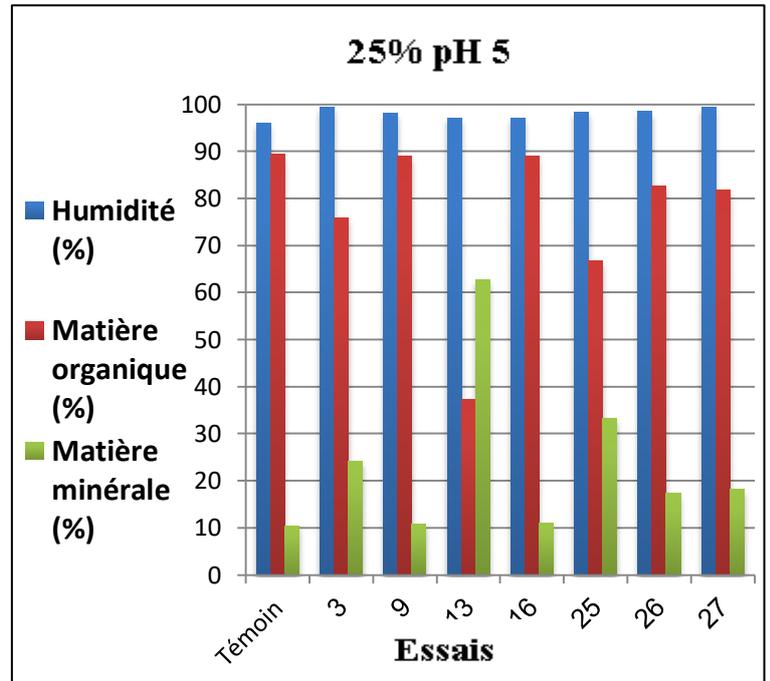


Figure b

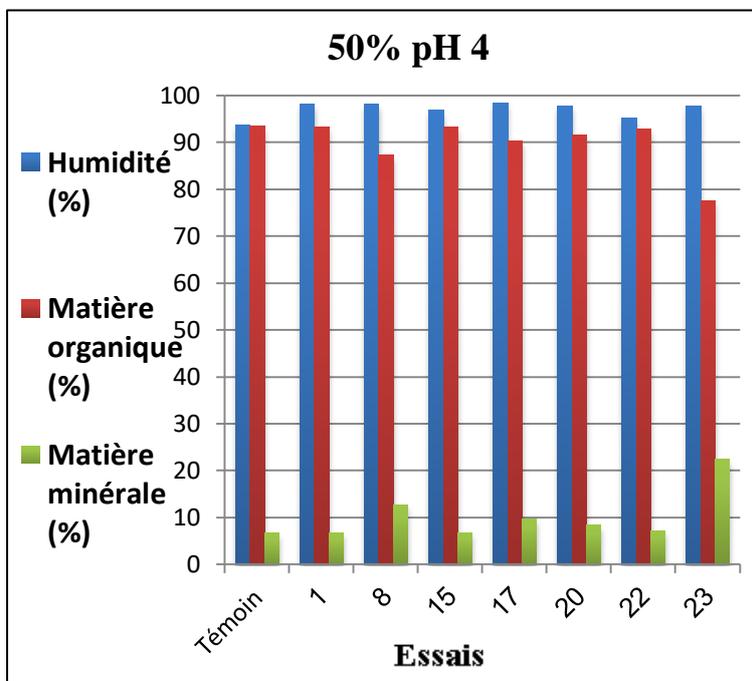


Figure c

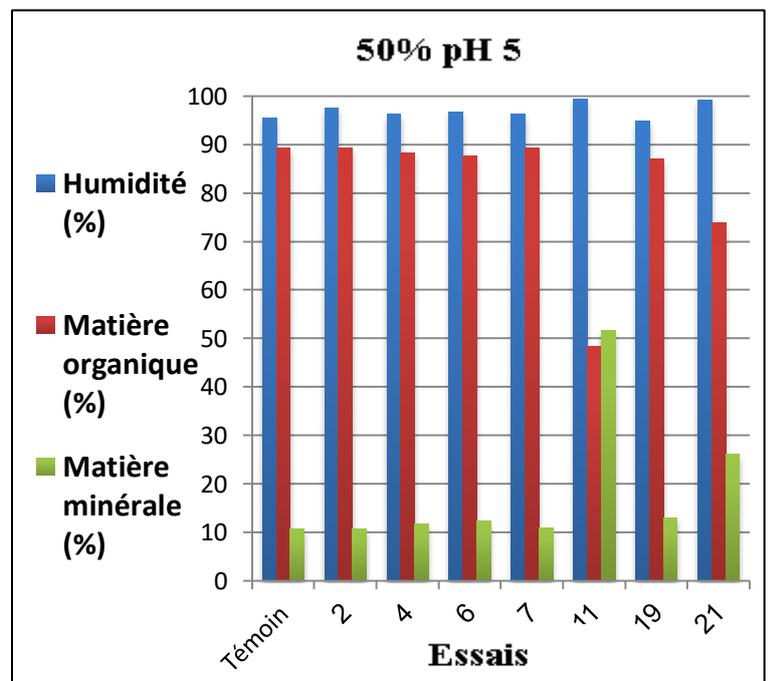


Figure d

Figure 15 : Histogrammes représentant l'humidité, la matière organique et la matière minérale des essais.

D'après la Figure 15, on remarque que le taux d'humidité est toujours supérieur à 94% et qu'il y'a un léger fléchissement de la teneur en matière organique des essais par rapport à celle des extrait bruts qui est très riche en matière organique. Cette diminution est probablement une conséquence de la dégradation de ces matières par la moisissure. Ce qui rejoint la littérature de **Borja et al. (1995)**, **Gharsallah et al. (1999)**, **Hajjouji et al. (2008)** et **Hamdi et Garcia (1991)**, qui ont trouvé que ces déchets organiques sont dégradés par les microorganismes.

Concernant la matière minérale, on observe une augmentation dans quelques essais par rapport au témoin, c'est le début de minéralisation de substances organiques sous l'action des moisissures. Selon **Bechac et al. (1984)**, les microorganismes minéralisent la matière organique.

2.1.5. Etude de la couleur

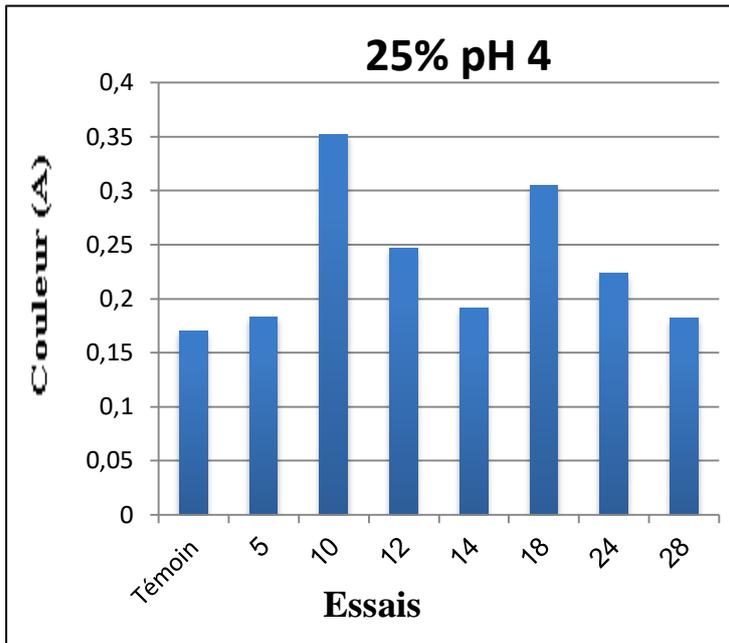


Figure a

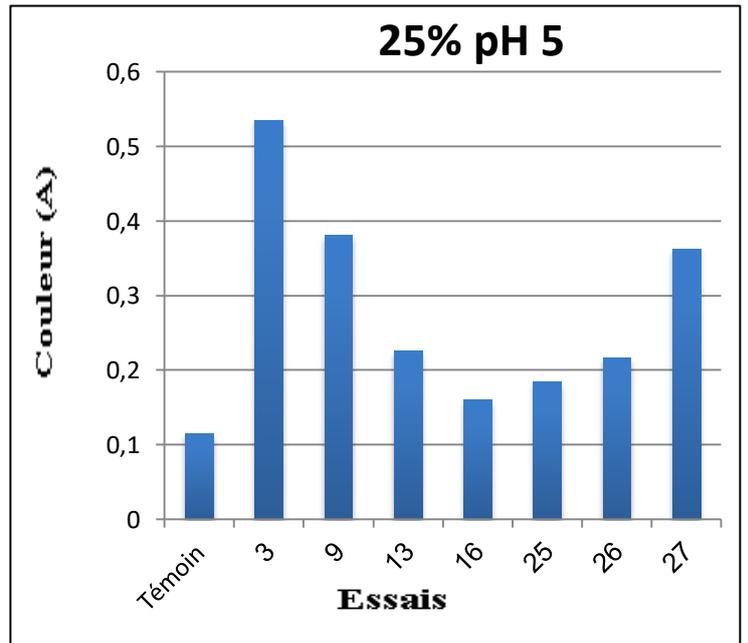


Figure b

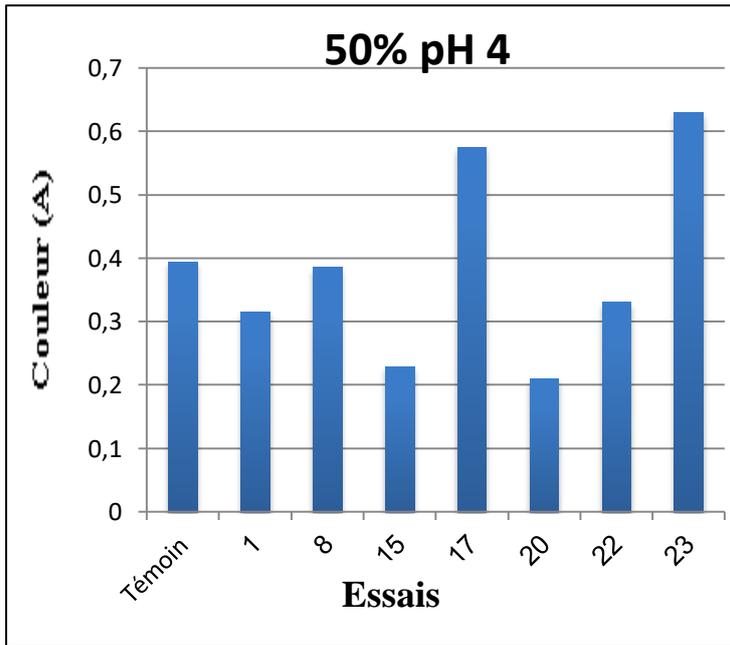


Figure c

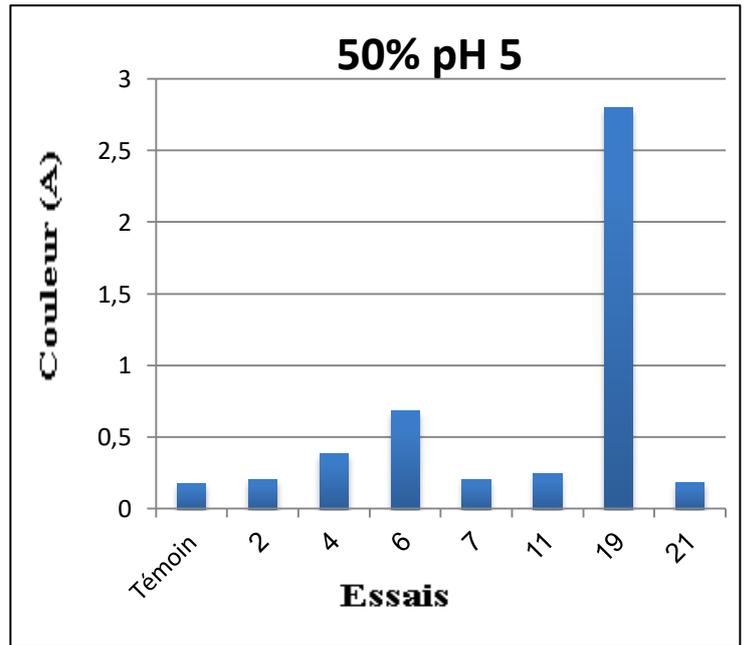


Figure d

Figure 16 : Histogrammes représentant l'intensité de la couleur des essais.

Les margines se présentent comme un liquide aqueux, de couleur brun-rougeâtre à noir, cette couleur est fonction de l'état de dégradation des composés phénoliques et aromatiques.

D'après la Figure 16, la couleur des essais 1, 8, 15, 20 et 22 subi une clarification par rapport à celle des extraits bruts (témoin), par contre les essais restant subi une coloration plus foncé, selon **Perez et al. (1987)** et **Hamdi (1993)**, Les composés phénoliques présents dans les margines sont de deux types et déterminent la couleur. Les premiers sont très toxiques mais biodégradables à cause de leur poids moléculaire faible donc ils donnent une coloration claire, conséquence de la décoloration biologique par les champignons. Les seconds, responsables de la coloration foncée, ont un poids moléculaire élevé et ils sont peu toxiques et très difficilement biodégradables.

2.1.6. Etude des produits aromatiques

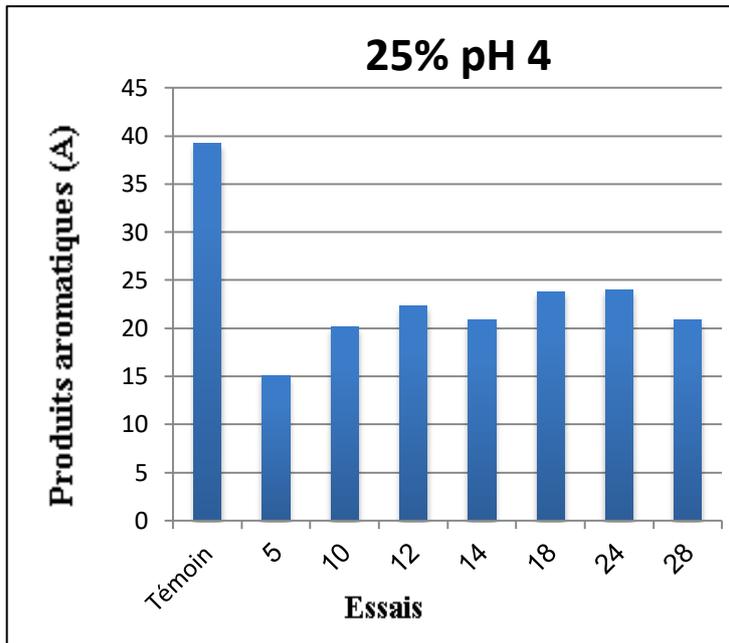


Figure a

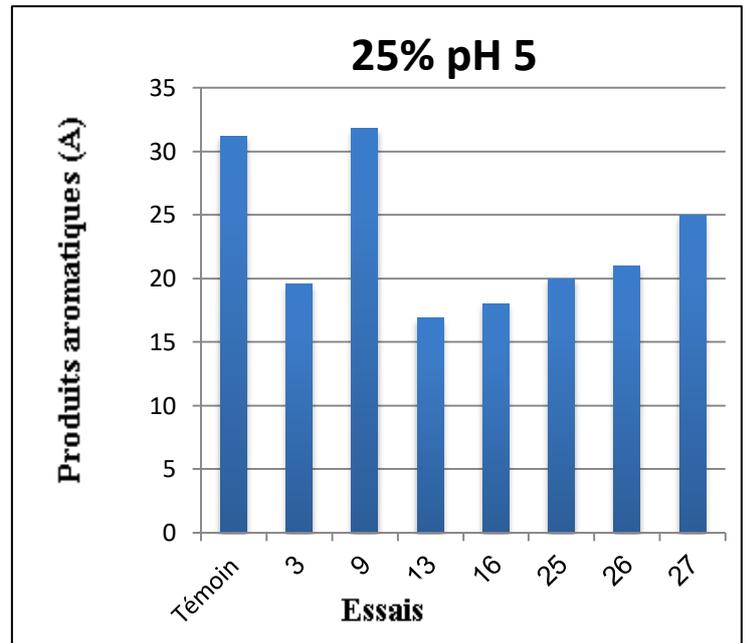


Figure b

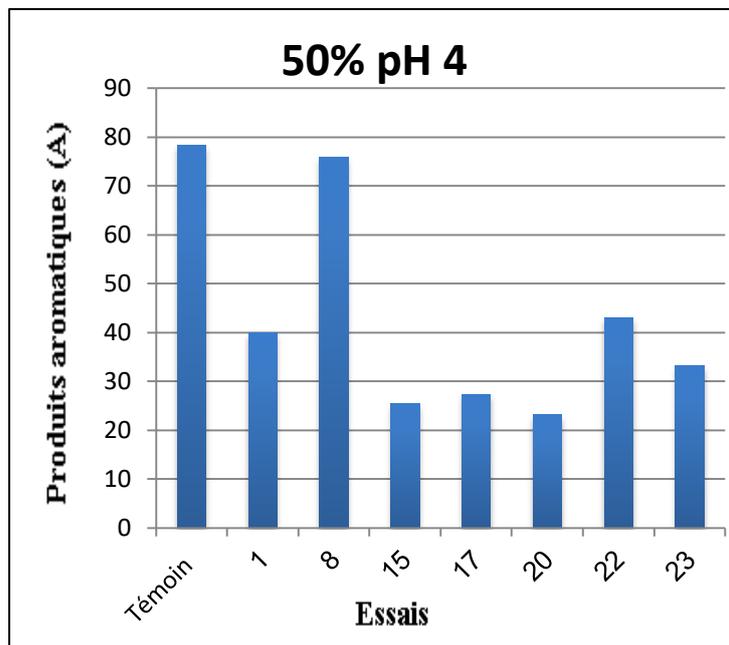


Figure c

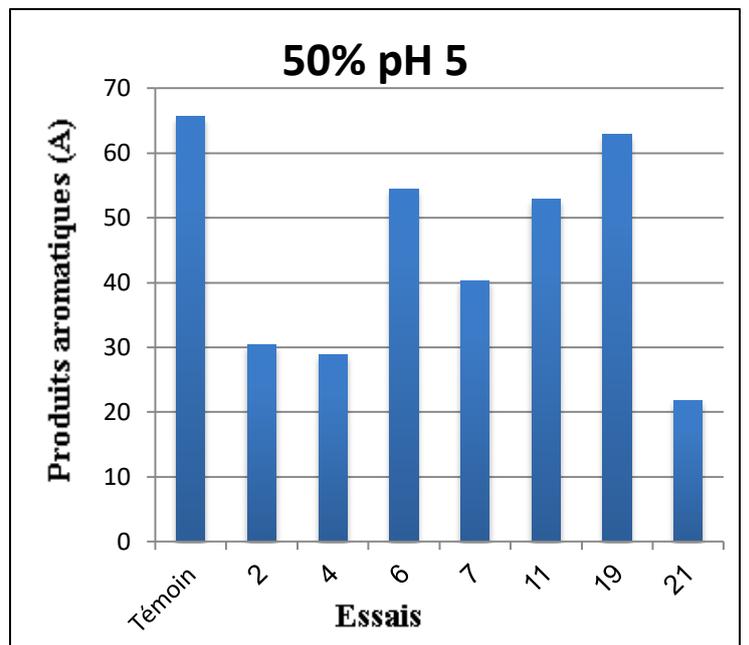


Figure d

Figure 17 : Histogrammes représentant les produits aromatiques des essais.

Les produits aromatiques sont des molécules possédant une volatilité à température ambiante. La moisissure a permis la dégradation de ces molécules présentes dans les margines.

Les résultats montrent que les produits aromatiques des essais ont diminués par rapport à ceux d'extraits bruts à l'exception de l'essai 9 (**Figure 17**). Ces résultats sont confirmés par les travaux de **Hmadi (1993)**.

2.1.7. Etude des produits phénoliques

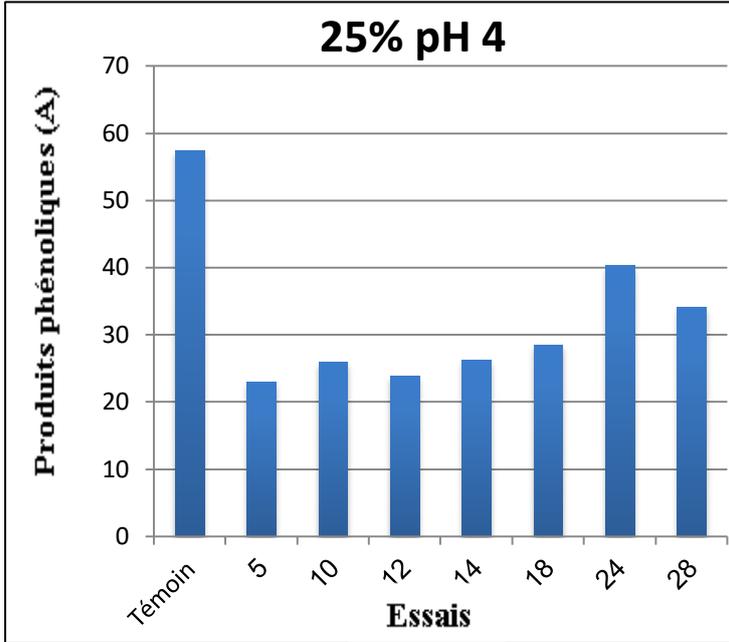


Figure a

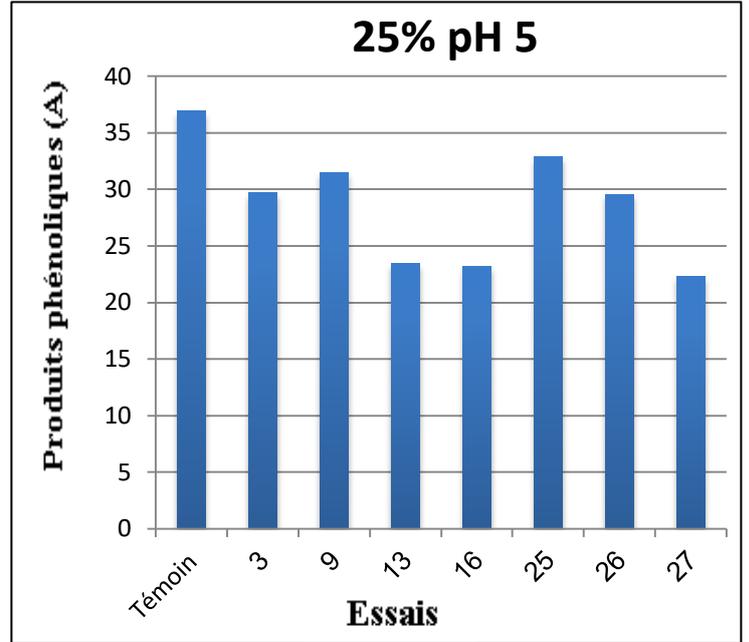


Figure b

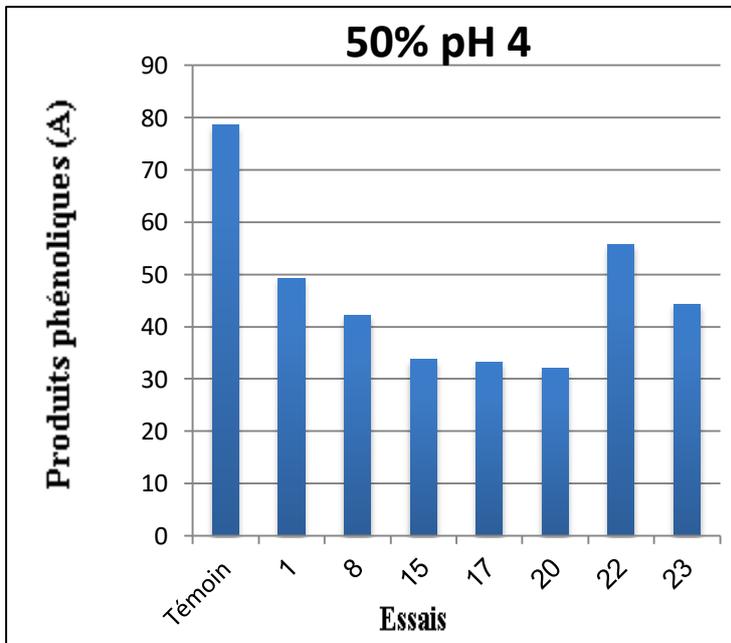


Figure c

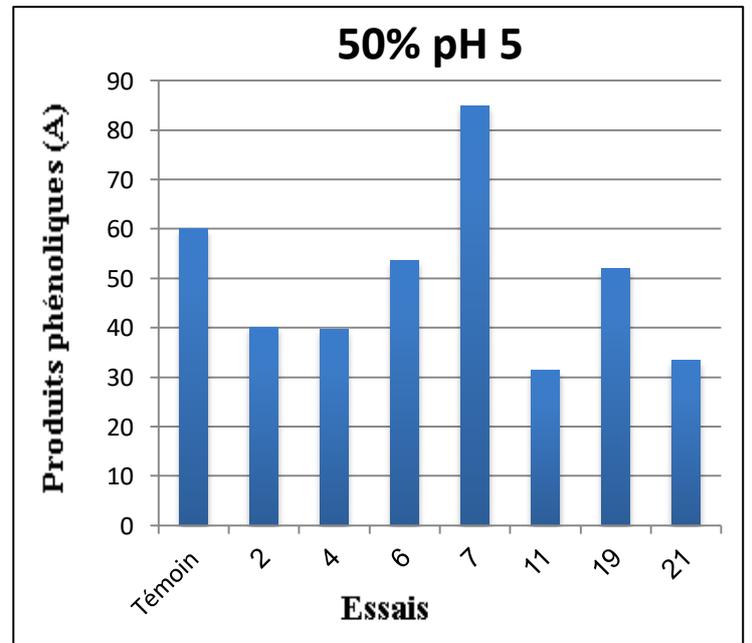


Figure d

Figure 18 : Histogrammes représentant les produits phénoliques des essais.

Les résultats présentés dans la Figure 18 montrent que les produits phénoliques des essais ont diminués par rapport à ceux des extraits bruts, ce qui explique le pouvoir de la moisissure à réduire la toxicité des produits phénoliques présente dans les margines.

D'après **Aissam et al. (2002)**. L'espèce *Aspergillus niger* était performante pour l'assimilation des composés phénoliques qui sont responsables des effets phytotoxiques et antimicrobiens (**Hamdi, 1993; Sayadi et al., 2000 ; Zenjari et al., 2006**). Les composés phénoliques passent sous forme de phénates et perdent une grande partie de leur pouvoir antimicrobien (**Medeci et al., 1985**). Les microorganismes peuvent alors les utiliser comme nutriments carbonés (**Borja et al., 1995**).

En se basant sur le dosage des produits phénoliques et après introduction de ces valeurs dans le logiciel de traitement **MINITAB 17**, pour montrer que les effets des coefficients dans le modèle soient statistiquement significatifs, on doit avoir une valeur de $p < 0,05$ (intervalle de confiance 95%), on a conclu que les facteurs influençant la dégradation des margines sont le $\text{NH}_4 \text{NO}_3$ ($p = 0.032 < 0.05$), le pH ($p = 0.001 < 0.05$) et la dilution ($p = 0.004 < 0.05$) (**figure 19**).

Coded Coefficients						
Term	Effect	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant		43,08	1,84	23,44	0,000	
GLUCOSE	4,31	2,15	1,84	1,17	0,285	1,00
AMIDON	1,32	0,66	1,84	0,36	0,731	1,00
E.MALT	-0,69	-0,34	1,84	-0,19	0,858	1,00
E.LEVURE	6,59	3,29	1,84	1,79	0,123	1,00
PEPTONE	-2,11	-1,06	1,84	-0,58	0,586	1,00
NH4NO3	10,21	5,10	1,84	2,78	0,032	1,00
TWEEN 80	-0,55	-0,28	1,84	-0,15	0,885	1,00
ETHANOL	0,33	0,17	1,84	0,09	0,931	1,00
CaCl2	-2,29	-1,14	1,84	-0,62	0,557	1,00
NaCl	-3,98	-1,99	1,84	-1,08	0,321	1,00
NH4SO4	4,85	2,43	1,84	1,32	0,235	1,00
MnSO4	3,66	1,83	1,84	1,00	0,358	1,00
ZnSO4	-2,45	-1,22	1,84	-0,67	0,530	1,00
FeSO4	0,13	0,06	1,84	0,03	0,973	1,00
CuSO4	0,49	0,25	1,84	0,13	0,898	1,00
pH	-20,67	-10,33	1,84	-5,62	0,001	1,00
DILUTION	17,03	8,51	1,84	4,63	0,004	1,00
Q.INOCULUM	0,62	0,31	1,84	0,17	0,871	1,00
LUMIERE	-5,21	-2,60	1,84	-1,42	0,206	1,00
TEMPERATURE	-2,32	-1,16	1,84	-0,63	0,551	1,00
AGITATION	-8,79	-4,40	1,84	-2,39	0,054	1,00

Figure 19 : Analyse statistique des résultats du plan Plackett-Burman pour les produits phénoliques.

2.2. Plans composites centrés et détermination des optima

Après saisie les valeurs des produits phénoliques des 20 essais dans le logiciel de traitement **MINITAB 17** et dériver partiellement l'équation de régression représentée dans la figure 20, on a obtenu les valeurs optimales des facteurs à effet significatifs à savoir 1.5 g/L pour le NH_4NO_3 , 4 pour le pH et 37.5 % pour la dilution. Les résultats sont représentés dans la figure 21 et le tableau 8.

$$\begin{aligned} \text{Phénols} = & 0,4628 + 0,0480 \text{ NH}_4\text{NO}_3 - 0,0033 \text{ pH} + 0,0547 \text{ Dilution} - 0,0695 \\ & \text{NH}_4\text{NO}_3 * \text{NH}_4\text{NO}_3 - 0,0997 \text{ pH} * \text{pH} - 0,0693 \text{ Dilution} * \text{Dilution} - 0,0604 \text{ NH}_4\text{NO}_3 * \text{pH} + \\ & 0,0238 \text{ NH}_4\text{NO}_3 * \text{Dilution} + 0,0423 \text{ pH} * \text{Dilution} \end{aligned}$$

Figure 20 : Équation de régression en unités non codées.

Coded Coefficients						
Term	Effect	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant		0,4628	0,0408	11,35	0,000	
NH4NO3	0,0960	0,0480	0,0270	1,77	0,106	1,00
pH	-0,0066	-0,0033	0,0270	-0,12	0,905	1,00
Dilution	0,1094	0,0547	0,0270	2,02	0,071	1,00
NH4NO3*NH4NO3	-0,1390	-0,0695	0,0263	-2,64	0,025	1,02
pH*pH	-0,1995	-0,0997	0,0263	-3,79	0,004	1,02
Dilution*Dilution	-0,1387	-0,0693	0,0263	-2,63	0,025	1,02
NH4NO3*pH	-0,1209	-0,0604	0,0353	-1,71	0,118	1,00
NH4NO3*Dilution	0,0476	0,0238	0,0353	0,67	0,516	1,00
pH*Dilution	0,0846	0,0423	0,0353	1,20	0,259	1,00

Figure 21 : Résultats d'analyse du plan composite centré.

Tableau 8: Mesures des produits phénoliques après la fermentation.

StdOrder	NH ₄ NO ₃	pH	Dilution	Produits phénoliques (A)
1	-1	-1	-1	86.8
2	1	-1	-1	75.4
3	-1	1	-1	82.7
4	1	1	-1	95.4
5	-1	-1	1	78.4
6	1	-1	1	57.4
7	-1	1	1	57.3
8	1	1	1	60.5
9	(-α)	0	0	92.7
10	α	0	0	63.5
11	0	-α	0	84.7
12	0	α	0	88.6
13	0	0	-α	74.5
14	0	0	α	81.6
15	0	0	0	50.8
16	0	0	0	84.2
17	0	0	0	58.2
18	0	0	0	87.4
19	0	0	0	49.7
20	0	0	0	50.4

2.3. Expérience de confirmation

La dégradation des produits phénoliques du dernier essai a donné la valeur de 46.4, ce qui confirme la diminution maximale de la toxicité dû à ces produits par rapport aux 20 essais du plan composite centré.

Conclusion

Au terme de notre travail, qui concerne l'étude de certains paramètres physicochimiques du déchet oléicole après traitement biologique, les résultats obtenus montrent que les margines utilisées durant cet expérimentation contiennent des quantités appréciables d'éléments organiques et minéraux dégradables par *Aspergillus*.

En effet, cet effluent est très riche en substances organiques (93.38%), il se caractérise par un contenu élevé en matière minérale (14.48%), un pH acide (4.72) et une conductivité électrique élevée (7.7 mS/cm) ce qui dénote de sa richesse en sels ; les produits phénoliques, les produits aromatiques et la couleur ont des valeurs des absorbances respectives de (78.6), (78.4) et (0.395).

Les résultats de l'optimisation montrent que le traitement des margines a eu un impact sur les caractéristiques physico-chimiques de ces effluents, en effet il provoque une diminution notable de la matière organique, de la matière minérale, de l'intensité de la couleur et de teneurs en produits aromatiques et en produits phénoliques. Aussi il entraîne une augmentation légère de pH et des teneurs en conductivité.

Les plans d'expériences, inclus dans le logiciel de traitement MINITAB17, permet d'analyser simultanément les effets de variables facteurs sur une variable de réponse, après l'introduction des valeurs des produits phénoliques dans ce logiciel, on trouve que Les facteurs influençant la dégradation des margines sont NH_4NO_3 (1.5 g/l), le pH 4 et la dilution (37.5%).

En perspectives, il serait intéressant d'explorer les voies de recherches suivantes :

- Valorisation, après extraction et purification, des composés phénoliques des margines dans la récupération d'énergie perdue par méthanisation, et prévoir un procédé biotechnologique pour le conditionnement de ces substances bioactives afin de les introduire en alimentation animale.
- Etudier les voies de bioconversion, par le microbiote ruminal des composés phénoliques majoritaires des margines (tyrosol, hydroxytyrosol et oleuropéine), à fort potentiel anti-radicalaire, anti-inflammatoire,... pour élucider leur devenir dans les produits terminaux (viande et lait).
- Optimisation des autres paramètres de la dégradation des margines : la température, la vitesse d'agitation, les acides, concentration de différents éléments nutritifs (sources carbonées et azotées).

***Références
bibliographiques***

A

Abichou, M., BenRouina, B., Taamallah, H., et Gargouri, K. (2003). Essais de valorisation des margines par épandage en oliveraies. *Revue Ezzaitouna* 09. p: 21.

Aissam, H., Errachidi, F., Merzouki, M., Benlemlih, M. (2002). Identification des levures isolées des margines et étude de leur activité catalase.-*Cah. Assoc. Sci. Eur. Eau Santé*, 7(1), p: 23-30.

Aissam, H. (2003). Etude de la biodégradation des effluents des huileries (margines) et leur valorisation par production de l'enzyme tannase. Thèse de doctorat national. Universites idimohamed ben abdellah. Fes. p: 156.

Amrani, O et Bendidi O. (2014). Techniques de traitement et de valorisation des margines. Mémoire Master Recherche : sciences et techniques. Radeef Fés: Université Sidi Mouhammed Ben Abdellah, 343 p.

Angerosa F. (2002). Influence of volatile compounds on virgin olive oil quality evaluated by analytical approaches and sensor panels. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 104 (9-10) p: 639-660.

Arvanitoyannis, I.S et Kassaveti, A. (2007). Current and potential uses of composted olive oil waste. *International Journal of Food Science Technology*, 42. p: 281-295

B

Bazoti, F., Gikas, E., Skaltsounis, A., Tsarbopoulos, A. (2006). Development of a liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry (LC–ESI MS/MS) method for the quantification of bioactive substances present in olive oil mill wastewaters. *Analytica Chimica Acta*. p: 573–574, 258–266.

Bechac, J.P., Boutin, P., Mercier, B., Nuer, P. (1984). Traitement des eaux usées. Paris: Ed. Eyrolles, vi, p: 281.

Benyahia, N. et Zein, K. (2003). Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées. 2ème Conférence Internationale Swiss Environmental Solutions for Emerging Countries (SESEC II) du 28-29 janvier à Lausanne, Suisse p: 8.

Boiron, P. (1996). Organisation et biologie des champignons. Edition Nathan. p: 1319-69-79.

Borja, R., Banks, C.J., Alba, J. (1995). A simplified method for determination of kinetic parameters to describe the aerobic biodegradation of two important phenolic constituents of olive millwastewater treatment by a heterogeneous microbial culture. *Environ, Sci, Health*, 30(3), p: 607-626.

Botton, B., Breton, A., Fevre, M., Gauthier, S., Guy, P., Larpent, J.P., Reymond, P., Sanglier, J.J., Vayssier, Y. et Veau, P. (1999). Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Masson. Paris. p: 12-426.

Botton, B., Breton A., Fevre, M., Gauthier, S., Guy, P., Larpent, J. P., Reymond, P., Sanglier, J. J., Vayssier, Y., Veau, P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. 2ème édition. Masson. Paris. p: 16-41. 110-364.

Botton, B., Breton, A., Fevre, M., Gauthier, S., Guy, P., Larpent, J.P., Reymond, P., Sanglier Bouchet, Ph., Guignard, J.L. et Villard, J. (1999). *Les champignons.mycologie fondamentale et appliquée*, (edn), Masson. Paris.

Botton, B., Breton, A., Fevre, M., Gauthier, S., Guy, P., Larpent, J.P., Reymond, P., Sanglier, J.J., Vayssier, Y. et Veau, P. (1999). Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Masson. Paris. p: 12-426.

Bourgeois, C.M., Mescle, J.F., Zucca, J. (1989). Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris. p: 216-244.

C

Castegnaro, M., Pfohl-Leszkowicz, A. (2002). Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans *La sécurité alimentaire du consommateur*, Lavoisier, Tec&Doc.

Cadillon, M. (1991). La valorisation agronomique des margines, 3ème rencontre de l'Agence Régionale pour l'Environnement Provence Alpes Côte d'Azur.

Cerniglia, C. (1992). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. p: 351-368.

Chaabane, K., Berdjaoui, R. et Benhemouda, M. (1997). Utilisation de différents types de grignons d'olive dans l'alimentation des lapereaux. *World Rabbit Science* p: 5(1):17-21.

Chimi, H. (2006). Technologies d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité. In: Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTT A n° 41, Département des Sciences Alimentaires et Nutritionnelles IAV Hassan II, Rabat p: 1- 4.

Chongwang, J. (2017). Deux mois seulement pour dégrader les déchets plastiques. Afrique Sub-Saharienne [en ligne], 6 (2) (page consultée le 16/10/2017). <https://www.scidev.net>

Ciafardini, G., Zullo, B. A., Iride, A. (2006). Lipase production by yeasts from extra virgin olive oil. Food Microbiology, p: 23:60-67.

Crognale, S., Federici, F., Petruccioli, M. (2003). β -Glucan production by *Botryosphaeria rhodina* on undiluted olive-mill wastewaters. Biotechnology Letters, p: 25.

Cucci, G., Lacolla, G., Caranfa, L. (2008). Improvement of soil properties by application of olive oil waste. Agronomy for Sustainable Development. p: 28, 521-526.

D

Dakhli, R., Lamouri, R., Mallek-Maalej, E. (2014). Effet des Margines en condition de stress salin sur le comportement phénologiques de l'Orge (*Hordeum Vulgare*): Essai en pot, Tunisie. J. Mater. Environ. Sci. 5 (3). p: 915-922.

D'Annibale, A., Sermanni, G.G., Federici, F., Petruccioli, M. (2006). Olive mill wastewaters: a promising substrate for microbial lipase production. Bioresource Technology, 97 (15), p: 1828-1833.

Davet, P. (1996). Vie microbienne du sol et reproduction végétale. INRA. Paris. p: 52-57.

Delgado-Jarana, J., Rincon, A. M. et Benitez, T. (2002). Aspartyl protease from *Trichoderma harzianum* CECT 2413: cloning and characterization. Microbiology. 148 p: 1305-1315.

E

El Hadrami, A., Belaqqiz, M., Elhassni, M., Hanifi, S., Abbad, A., Capasso, R., Gianfreda, L. and El Hadrami, I. (2004). Physico-chemical Characterization and Effects of Olive Oil Mill Wastewaters Fertirrigation on the Growth of Some Mediterranean Crops. *Journal of Agronomy* (3). Italy. p: 247-254.

Esmail, A., Abed, H., Firdaous, M., Chahboun, N., Mennane, Z., Berny, E.H. et Ouhssine, M. (2014). Étude physico-chimique et microbiologique des margines de trois régions du Maroc (Ouazzane, Fès Boulman et Béni Mellal). *Mater. Environ. Sci.* 5. Maroc. p: 121-126.

Ercoli, E and Ertola, R. (1983). SCP production from olive black water. *Biotechnol. Lett.*, 7, p: 457- 462.

Eroglu, E., Eroglu, I., Gündüz, U., Yücel, M. (2008). Effect of clay pretreatment on photo fermentative hydrogen production from olive mill wastewater”, *Bioresource Technology*, p: 99, 2008, 6799-6808.

F

F.A.O : (1984) Monographie de produits 47, fruits et légumes transformés.

Field J.A., Lettinga G. (1987). The methanogenic toxicity and anaerobic degradability of a hydrolysable tannin. *Wat. Res.* p: 20, 367 - 374.

Fiestas Ros de Ursinos, J.A. (1981). Différentes utilisations des margines. In Proc. of Séminaire international sur la valorisation des sous-produits de l'olivier . FAO. Tunisie. Décembre.

Fiestas Ros de Ursinos, J.A., Borja, R. (1992). Use and treatment of olive mill wastewater: current situation and prospects in Spain. *Grasas y Aceites.* p: 43, 101-106.

Fiorentino, A., Gentili, A., Isidori, M., Monaco, P., Nardelli, A., Panella, A. et Fabio, T. (2003). Environmental effects caused by olive mill waste waters: Toxicity comparison of low-molecular-weight phenol compounds. *J. Agr. Food Chem.* p: 51.

Fiorentino, A; Gentili, A; Isidori, M; Lavorgna, M; Parrella, A; Temussi, F. (2004). Olive oil wastewater treatment using a chemical and biological approach. *J. Agric. Food Chem.* 52 (16), p: 5151-5154.

Frazier, W. C. (1967). Food microbiology. Academic presse. London. p: 3-429.

G

Gallardo-Lara, F. et Nogales, R. (1987). Effect of the application of townrefuse compost on the soil-plant system. Revue. Biol. Wastes. p: 61.

Gharby, S., Harhar, H., Bouzoubaa, Z., Roudani, A., Chafchaoui, I., Kartah, L.B et Charrouf, Z.,(2013). Effet des Polyphénols extraits des margines sur la stabilité de l'huile de tournesol. J. Mater. Environ. Sci. 5 (2). Maroc. p: 464-469.

Gharsallah, N., Labat, M., Aloui, F., Sayadi, S. (1999). The effect of Phanerochaete chrysosporium pretreatment of olive mill waste waters on anaerobic digestion. - Resour. Conserv. Recycling, 27(1-2), p: 187-192.

Godin, M.C. (2006-2007). La prévention et la génération des déchets. Rapport de l'état de l'environnement Wallon [en ligne], 4 (2) (page consulter en 2007) <https://www.les.chaiers-developpement-durable.be>

Goudet, J. L. (2008). Un champignon pour fabriquer des biocarburants. La quotidienne, [en ligne]. 2 (2) (page consulter le 7/05/2008) <https://www.futura-sciences.com>

Guiraud, J. (1998). Microbiologie alimentaire. Edition Donod, Paris. p: 8-101. p: 330.

H

Hachicha, S., Sallemi, F., Medhioub, K., Hachicha, R., Ammar, E. (2008). Quality assessment of composts prepared with olive mill wastewater and agricultural wastes. Waste Management. p: 28-2593-26.

Hajjouji, M., El Hajjouji, H., Ait-Baddi, G., Yaacoubi, A., Hamdi, H., Winterton, P., Revel, J.C., Hafidi, M. (2008). Optimisation of biodegradation conditions for the treatment of olive mill wastewater. - Olivea, 99(13), p: 5505-5510.

Hamdi, M. and Garcia, J.L. (1991). Comparison between anaerobic filter and anaerobic contact process for fermented olive mill wastewaters. - *Biores. Technol*, 38(1), p: 23-29.

Hamdi, M. (1993). Valorisation et épuration des effluents des huileries d'olive, l'utilité de la microbiologie industrielle. *Olivae*, 1993, (46), 20-24.

Hamdi, M. and Ellouz, R. (1993). Treatment of detoxified olive mill wastewater by anaerobic filter and aerobic fluidized bed process. *Environmental Technology* p: 19 :183-188.

Hamza, W; Mekki, H. et Benzina, M. (2010). Valorisation des margines séchées dans les terres cuites. 5ème Congrès International sur les Energies Renouvelables et l'Environnement. École Nationale d'Ingénieurs de Sfax. Tunisie. p: 13.

Herlin, A. (2015). Pesticides : le champignon qui pourrait dévorer. Monsanto, [en ligne]. 2 (1) (page consulter le 5/05/2015) <https://fr.aleteia.org>

J

Julien, R. (2002). Les moisissures parlons-en. *Objectif prevention*. 25 (4) p: 7-8.

K

Kadi, H; Grasas, Y. (2001). Modelling of extraction from olive foot coke using hexane, *Acetces VOL 52N°6*.

Khoufi, S; Alui, F; Sayadi, S. (2006). Treatment of olive oil mill-wastewater by combined process electro-Fenton reaction and anaerobic digestion. *Water Res.*, p: 40.

L

Larpent-Gourgau, M., Sanglier, J.J. (1992). *Biotechnologies. Principes et méthodes*. Doin. Paris. p: 574-587.

Leveau, S.B. et Bouix, M. (1993). Les microorganismes d'intérêt industriel. *Lavoisier Apria*. p: 110-163.

Lynch, J.M. (1980). Effects of organic acids on the germination of seeds and growth of seedlings, *Plant Cell Environ.* p: 3, 255-259.

M

Macheix, J.J., Fleuriet, A., Billo, J.A. (1990). Fruit phenolics. Boca Raton Florida: CRC Press Inc., 378 p.

Madigan, M., Martinko, J. (2007). Brock : Biologie des micro-organismes. Pearson Education. Paris. p: 478-479.

Mcnamara, C.J., Anastasiou, C.C., O'Flaherty, V., Mitchell, R. (2008). Bioremediation of olive mill wastewater. *Int Biodeter Biodegr*, 61, p: 127-134.

Mébirouk, M. (2002). Rejets des huileries, développement d'un procédé intégré pour la biodégradation des polyphénols dans les margines .CMPP NEWS n°1.

Medeci, F., Merli, C., Spagnoli, E. (1985). Anaerobic digestion of olive mill wastewater: a new process. In Ferranti, H., Ferrero, M.P., Vaveau, H. Eds., *Anaerobic digestion and carbohydrates hydrolysis of waste*. London: Elsevier Publ., p: 385-398.

Moumni, F. (2014). Problématique de marge dans les provinces Ouazzane et Sidi Kacem. Mémoire de fin de cycle. Université sidi Mohammed ben Abdellah. Faculté des sciences et techniques. Maroc. p: 95.

Mulinacci, N., Innocenti, M., La Marca, G., Mercalli, E., Giaccherini, C., Romani, A., Erica, S., Vincieri, F.F. (2005). Solid olive residues: Insight into their phenolic composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* p: 53, 8963-8969.

N

Nefzaoui, A. (1988). Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par une valorisation optimale des sous-produits. *Option méditerranées.* p: 153-173.

Nefzaoui, A. (1991). Valorisation des sous-produits de l'olivier. *Option méditerranéennes.* Série n 16 p: 101-108.

Nicklin, J., Graeme-Cook, K., Paget, T., Killington, R. (2000). L'essentiel en microbiologie. Edition Berti. p: 210-216.

O

Ouabou, E., Anouar, A. et Hilali, S. (2014). Traitement de la margine brute d'huile d'olive par distillation suivi de neutralisation par chaux. Journal of Applied Biosciences 79.Maroc.p: 6867- 6872.

P

Perez, J., Hernandez, M.T., Ramos, C.A., Martinez, J. (1987). Caracterizacion de fenoles dei pigmento dei alpechin y transformacion por Phanerochaete chrysosporium. Grassas y Aceites. p: 38, 367 - 371.

Punt, P. J., Van-Biezen, N., Conesa, A., Albers, A., Mangnus, J. et Van den Hondel, C. (2002). Filamentous fungi as cell factories for heterologous protein production. Trends Biotechnol. p: 20 (5): 200-206.

R

Ramos-Cormenzana, A. (1986). Physical, chemical, microbiological and biochemical characteristics of vegetation water, Proc International symposium of olive byproducts valorization FAO.UNDP, Sevilla (Spain), p: 19-40.

Ranalli, A. (1991).The effluent from olive mills: Proposals for re-use and purification withreference to Italian legislation. Olivae, p: 37, 30-39.

Richard, K. F. (2005). Génomique fonctionnelle in vivo de l'oxydoréductase PA3498 chez Pseudomonas aeruginosa. Université Laval, Québec.

Rober, P., Alazard, D., Gaime-Perraud, I., Garcia, J.L., Labat, M., Roussos, S. (1999). Les recherches à l'IRD sur la dépollution et la valorisation de déchets agricoles et agro industriels. Laboratoire de microbiologie de l'institut de recherche pour le développement IRD, p: 13.

Roig, A., Cayuela, M.L., Sánchez-Monedero, M.A. (2006). An overview on olive mill wastes and their valorisation methods. Waste Manage, 26, p: 960-969.

Roussas, S., Zaouia, N., Tantaoui-Eiaraki, A., Lamrani, K., Cheheb, M., Hassouni, H., Verhé, F., Perraud-Gaime, I., Augur, C., Ismaili-Aiaoui, M. (2006). Mycoflore naturelle des olives dans les maâsra et pouvoir toxigène des souches d'*Aspergillus* sur céréales. In: Ismaili-Aiaoui M, Roussas S, Perraud-Gaime I(eds) *Biotechnology and Quality of Olive tree Products around the Mediterranean basin*. Actes Editions, Rabat, Maroc, p: 175-192.

Ruiz, J.C., Teresa, R., Perez, J., Lopez, M. J. (2002). Effect of olive oil mill wastewater on extracellular ligninolytic enzymes produced by *Phanerochaete flavido-alba*. *FEMS Microbiology Letters*. p: 212, 41-45.

S

Sahraoui, H., Jrad, A., Mellouli, H. J. (2012). Epannage des margines sur les sols agricoles : impacts environnementaux Microbiologiques. *Afrique SCIENCE* 08(1) p: 97-106.

Samuel, S. (2012). Les besoins Nutritifs Des Champignons (Du Mycélium). *Blogsdna* [en ligne], 3 (1) (page consulté le (4/11/2012)). <http://champignonscomestibles.com>

Sayadi, S and Ellouz, R. (1995). Roles of lignin peroxidase and manganese peroxidase from *phanerochaete chrysosporium* in the decolorization of olive mill wastewaters. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol.61, No.3, p: 1098-1103

Sayadi, S., Allouch, N., Jaoua, M., Alaoui, F. (2000). Detrimental effect of high molecular-mass polyphenols on olive mill wastewater biotreatment. *Process Biochem*. p: 35(7), 725-735.

Senesi, N. (1989). Composted materials as organic fertilizers. *Sci.Tot.Environ*, p: 81-82, 521-542.

Smithers, G.W. (2008). Whey and whey proteins from 'gutter-to-gold'. *Int Dairy J*. p: 18, 695-704.

T

Tortora, G. J., Funke, B.R., Case, C.L. (2001). *Introduction à la microbiologie*. 5757, rue cypriot, Saint-laurent (québec) H4S 1R3 : Addison Wesley Longman. p: 362.

Toscano, P. et Montemurro, F. (2012). Olive mill by-products management. In: *Olive Germplasm – The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry in Italy*, Dr.: I. Muzzalupo (Eds), *Agricultural and Biological Sciences*, p: 174-200.

U

Uchikoba, T., Mase, T., Arima, K., Yonezawa, H. and Kaneda, M. (2001). Isolation and characterization of a trypsin-like protease from *Trichoderma viride*. *Biol. Chem.* 382. p: 1509-1513.

Urbanek, H., Yirdaw, G. (1984). Hydrolytic ability of acid protease of *Fusarium culmorum* and its possible role in phytopathogenesis. *Acta Microbiol. Pol.* 33 (2) p: 131.

V

Venkateswarlu, G., Let, M.B., Meyer, A. S and Jacobsen, C (2004). Modeling the sensory impact of defined combinations of volatile lipid oxidation products on fishy and metallic off-flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 52 (6) p: 1635-1641.

Y

Yaakoubi, A., Chahlaoui, A., Rahmani, M., Elyachioui, M., Oulhote, Y. (2009). Effet de l'épandage des margines sur la microflore du sol. *Agrosolutions*, vol. 20(1), p: 35-43.

Yaakoubi, A., Chahlaoui, A., El Yachioui M. et Chaouch A. (2010). Traitement des margines a pH neutre et en condition d'aérobic par la microflore du sol avant épandage. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux.* 149. p: 43-56.

Yahyaoui, N. (2012). Etude de l'adsorption des composés phénoliques des margines d'olive sur carbonate de calcium, hydroxyapatite et charbon actif. *Mémoire de magister. Université de Mouloud Mammeri. Tiziouzou.* p: 129.

Z

Zenjari, I. (2000). Etude écotoxicologique des effluents liquides des huileries de la ville de Marrakech, impact sur les milieux récepteurs. *Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences, université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc.* p: 149.

Zenjari, B. et Nejmeddine, A. (2001). Impact of spreading olive mill wastewater on soil characteristics: laboratory experiments. *Agronomy.* 21. p: 749-755.

Zenjari, I., El Hajjouji, H., Ait-Baddi, G., Bailly, J.R., Revel, J.C., Nejmeddine, A., Hafidi, M. (2006). Reduction of toxic compounds during the composting of olive mill wastewater-straw mixture. - *J. Hazard. Mat, A.* p: 138, 433-437.

Annexes

Annexe 1 : Malt Extrat Agar (MEA)

Extract de malt	20g
Peptone	1g
Glucose.....	20g
Agar.....	20g
Eau distillé.....	1000ml

Résumé

La présente étude a pour objectif le traitement des margines, par une technique biologique en utilisant le genre *Aspergillus*. Ces margines sont utilisées à différentes dilutions et pH (25% pH 4, 25% pH 5, 50% pH 4, 50% pH 5). On a suivi leur impact, en analysant certains paramètres physicochimiques.

Les résultats de ces analyses montrent une diminution de la matière organique (37.20%), de la matière minérale (6.7%), de l'absorbance de la couleur (0.160) et de teneurs en produits aromatiques (15.1) et en produits phénoliques (22.25). Aussi une augmentation légère de pH 5.81 et des teneurs en conductivité électrique (18.7). Les résultats obtenus ont révélés que la souche *Aspergillus* a donné une excellente dégradation de ces effluents.

Afin d'avoir un modèle idéal, on a utilisé le logiciel Minitab, en basant sur l'outil d'analyse de régression des résultats du plan Plackett-Burman pour les produits phénoliques. Cet analyse a été optimisé et confirmé par la mise en place d'une expérience avec les valeurs des facteurs optimales : pH = 4, $\text{NH}_4\text{NO}_3 = 1.5 \text{ g/l}$ et dilution = 37.5%. Les résultats obtenus ont donnés un bon taux d'abattement de la toxicité des produits phénoliques.

Les mots clés : margine, *Aspergillus*, plan Plackett-Burman, optimisation, produits phénoliques.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى معالجة الزيبار (بقايا الزيتون السائلة) ، عن طريق تقنية بيولوجية باستخدام السلالة *Aspergillus*. هذا الزيبار أستخدم بتخفيف و pH مختلفان (التخفيف 25 % و pH 4 , التخفيف 25 % و pH 5, التخفيف 50 % و pH 4 , التخفيف 50 % و pH 5). تابعنا تأثيره من خلال تحليل بعض العوامل الفيزيائية والكيميائية.

تظهر نتائج هذه التحليلات انخفاضا في المادة العضوية (37.20%) ، والمواد المعدنية (6.7 %) ، وامتصاص اللون (0.160) ومحتويات المنتجات العطرية (15.1) وفي منتجات الفينول (22.25). أيضا زيادة طفيفة في درجة الحموضة 5.81 ومحتويات الناقلية (18.7). و منه السلالة *Aspergillus* أعطت تفكيكا و تحليلا جيدا لهذه المخلفات السائلة.

من أجل الحصول على نموذج مثالي ، استخدمنا برنامج Minitab ، استناداً إلى أداة تحليل انحدار نتائج مخطط Plackett-Burman لمنتجات الفينول. تم تحسين هذا التحليل وتأكيدته من خلال إعداد تجربة بقيم العوامل المثلى: pH = 4 ، $\text{NH}_4\text{NO}_3 = 1.5$ لتر/ غرام والتخفيف = 37.5%. أعطت النتائج التي تم الحصول عليها معدل جيد للحد من سميّة منتجات الفينول.

الكلمات المفتاحية: الزيبار ، *Aspergillus* ، مخطط Plackett-Burman ، التحسين ، منتجات الفينول.

Summary

The present study aims at the Treatment of liquid effluents margines, by a biological technique using the genus *Aspergillus*. These margines are used at different dilutions and pH (25% pH4, 25% pH 5.50% pH4, 50% pH 5). We followed their impact, through analyzing some physicochemical parameters.

The results of these analyzes show a decrease of the organic matter (37.20%), the mineral matter (6.7%), the absorbance of the color (0.160) and the contents in aromatic products (15.1) and in phenolic products (22.25). Also a slight increase of pH 5.81 and electric conductivity levels (18.7). The results obtained revealed that the *Aspergillus* strain gave an excellent degradation of these effluents.

In order to have an ideal model, we used the Minitab software, based on the Plackett-Burman plan regression of results analysis tool for phenolic products. This analysis was optimized and confirmed by the setting up of an experiment with the values of the optimal factors: pH = 4, $\text{NH}_4\text{NO}_3 = 1.5 \text{ g/l}$ and dilution = 37.5%. The results obtained gave a good rate of reduction of the toxicity of the phenolic products.

Key words: margine, *Aspergillus*, Plackett-Burman plan, phenolic products, optimization

Intitulé : **Etude de certains paramètres physico-chimiques du déchet oléicole après traitement biologique par *Aspergillus***

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en **Mycologie et Biotechnologie fongique**

Résumé:

La présente étude a pour objectif le traitement des margines, par une technique biologique en utilisant le genre *Aspergillus*. Ces margines sont utilisées à différentes dilutions et pH (25% pH4, 25% pH 5, 50% pH4, 50% pH 5). On a suivi leur impact, en analysant certains paramètres physicochimiques.

Les résultats de ces analyses montrent une diminution de la matière organique (37.20%), de la matière minérale (6.7%), de l'absorbance de la couleur (0.160) et de teneurs en produits aromatiques (15.1) et en produits phénoliques (22.25). Aussi une augmentation légère de pH 5.81 et des teneurs en conductivité (18.7). Les résultats obtenus ont révélés que la souche *Aspergillus* a donné une excellente dégradation de ces effluents.

Afin d'avoir un modèle idéal, on a utilisé le logiciel Minitab, en basant sur l'outil d'analyse de régression des résultats du plan Plackett-Burman pour les produits phénoliques. Cet analyse a été optimisé et confirmé par la mise en place d'une expérience avec les valeurs des facteurs optimales : pH = 4, $\text{NH}_4\text{NO}_3 = 1.5 \text{ g/l}$ et dilution = 37.5%. Les résultats obtenus ont donnés un bon taux d'abattement de la toxicité des produits phénoliques.

Mots clés : margine, *Aspergillus*, plan Plackett-Burman, optimisation, produits phénoliques.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biologie et Environnement (LBE). Université des Frères Mentouri Constantine.

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Mme MOUAS Nardjess (Maître de conférences A - UFM Constantine).

Rapporteur : Mme BOUCHERIT Zeyneb (Maître Assistant A - UFM Constantine).

Examinatrice : Mme BENHAMDI Asma (Maître de conférences B - UFM Constantine).

Date de soutenance : 08/07/2019