



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

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

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Etude de l'effet des déchets organiques sur la biomasse d'*Aspergillus niger* et la production d'acide citrique

Présenté par :

- Redjimi Aya

Le :21/06/2025

- Benboulakhras Ibtihel

Jury d'évaluation :

- Président: Dr. ZAAMOUCI A (MCB– Université Constantine1 Frères Mentouri.)
- Encadrant : Dr. DERABLI Bisma (MCB – Université Constantine1 Frères Mentouri.)
- Examineur(s): Dr. MEDJEMADJ M (MCB– Université Constantine1 Frères Mentouri.)

Année universitaire 2024–2025

Remerciements

Nous exprimons notre gratitude à Allah pour nous avoir guidés et
facilité l'achèvement de ce travail.

Nous remercions sincèrement les membres du jury Dr. ZAAMOUCI
et Dr. MEDJEMADJ pour leur présence et pour l'attention particulière
qu'ils ont portée à la lecture de notre mémoire.

Notre profonde gratitude va également à notre encadrante DERABLI
pour sa confiance, ses efforts inlassables et ses précieux conseils qui
nous ont permis de progresser.

Nous remercions nos enseignants pour leur contribution à notre
formation, ainsi que toute la promotion 2024-2025.

Enfin, un grand merci à toutes les personnes qui ont contribué de près
ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Ce travail est dédié à tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à
surmonter les difficultés rencontrées tout au long de ce parcours.

À ma chère famille :

À ma mère bien-aimée, dont les prières silencieuses ont été la lumière

qui a éclairé mon chemin,

À mon père, qui m'a transmis la force, la

sagesse et la patience, À mon frère, Islam

toujours présent et d'un soutien indéfectible

À mes sœurs : Chourouk, Feryal, toujours présentes et bienveillantes.

À mes amis, en particulier : Laib Lina Imen,

Grendou Zeyneb Mes remerciements les plus

sincères à : Ilham, Youssra,

Merci à vous tous d'avoir rendu ce chemin plus doux et plus supportable.

Avec toute ma gratitude et mon profond respect.

Ibtihel

Dédicaces

Au profond de mon cœur, Je dédie ce mémoire à tous ce qui me sont chers

À Allah

Chaque page de ce mémoire a été
écrite sous Ton regard, Et chaque
étape franchie grâce à Ta volonté.
À maman

À celle dont l'amour, discret mais inébranlable, a été le socle de mes pas.

À celle qui m'a transmis, par sa tendresse et sa force silencieuse, le
goût de l'effort et la dignité du cœur.

À mon père

Pour sa sagesse
transmise sans
bruit, Pour sa force
offerte sans
condition,
Pour son regard discret mais toujours présent.

À mes sœurs

À Amira,
Afef, Fatima,
Salsabile Pour
leur présence
constante,
Leur soutien
discret,
Et l'amour fraternel qui m'a portée plus loin que je ne l'aurais cru.

Aya

Résumé

L'étude a porté sur l'évaluation de six types de déchets organiques pour la croissance d'*Aspergillus niger* et la production d'acide citrique. Deux isolats distinctes ont été testées dans un protocole expérimental basé sur une incubation à 37°C pendant 7 jours. Les analyses ont été centrées sur trois paramètres principaux : la biomasse (DO à 650nm), le pH du milieu et le dégagement de CO₂. L'enrichissement par 15 % d'extrait de levure a montré une amélioration significative de la croissance, en particulier sur la citrouille. La isolat 1 a atteint un maximum de DO (5,98) sur un mélange complexe de six déchets (carotte, citrouille, pomme de terre, banane, orange, artichaut). En comparaison, l'isolat 2 a obtenu un DO (6,56) en présence de seulement trois substrats (carotte, citrouille, pomme de terre), démontrant ainsi une efficacité supérieure en termes de rendement biomasse-substrat. En ce qui concerne la production d'acide, mesurée indirectement via le pH et l'observation de dégagement gazeux, la isolat 2 a montré une acidification plus marquée du milieu (pH \approx 2), surtout sur les substrats à base de carotte, pomme de terre et artichaut. Ces résultats suggèrent que malgré un éventail de substrats plus restreint, la souche 2 est plus efficace, ce qui suggère des mécanismes enzymatiques plus ciblés pour certains types de fibres végétales.

Mots-clés : *Aspergillus niger*, biomasse, déchets organiques, acide citrique.

المخلص

شملت الدراسة تقييم ستة أنواع من النفايات العضوية لنمو أسبرجيلوس نيجر وإنتاج حمض الستريك. تم اختبار سلالتين مميزتين ضمن بروتوكول تجريبي قائم على حضانة عند 37 درجة مئوية لمدة 7 أيام. تم تركيز التحاليل على ثلاثة معايير رئيسية: الكتلة الحيوية (الكثافة البصرية عند 650 نانومتر)، القيمة الحمضية للوسط، وانبعاث ثاني أكسيد الكربون. أظهرت إضافة 15 بالمئة من مستخلص الخميرة تحسناً ملحوظاً في النمو، لا سيما على اليقطين. وصلت السلالة الاولى إلى قيمة قصوى للكثافة البصرية تصل إلى 5.98 على خليط معقد من ستة نفايات (جزر، يقطين، بطاطا، موز، برتقال، خرشوف). بالمقارنة، حققت السلالة الثانية كثافة بصرية حوالي 6.56 في وجود ثلاث ركائز فقط (جزر، يقطين، بطاطا)، مما يدل على كفاءة أعلى من حيث مردودية الكتلة الحيوية بالنسبة للركيزة. فيما يتعلق بإنتاج الحمض، الذي تم قياسه بطريقة غير مباشرة من خلال القيمة الحمضية وملاحظة انبعاث الغاز، أظهرت السلالة الثانية تحمّضاً أكبر للوسط (القيمة الحمضية ≈ 2)، خصوصاً على الركائز المكونة من الجزر، البطاطا، والخرشوف. تُبرز هذه النتائج أنه، رغم استخدام مجموعة أقل تنوعاً من الركائز، فإن السلالة الثانية أكثر كفاءة، مما يشير إلى وجود آليات إنزيمية أكثر تخصصاً تجاه أنواع معينة من الألياف النباتية.

الكلمات المفتاحية: أسبرجيلوس نيجر، الكتلة الحيوية، النفايات العضوية، حمض الستريك.

Abstract

This study focused on evaluating six types of organic waste for the growth of *Aspergillus niger* and the production of citric acid. Two distinct strains were tested using an experimental protocol based on incubation at 37°C for 7 days. The analyses targeted three main parameters: biomass (optical density at 650 nm), medium pH, and CO₂ release. The addition of 15% yeast extract significantly enhanced fungal growth, especially on pumpkin-based substrates. Strain 1 reached a maximum OD of 5.98 on a complex mix of six wastes (carrot, pumpkin, potato, banana, orange, and artichoke). In contrast, strain 2 achieved a higher OD of 6.56 using only three substrates (carrot, pumpkin, and potato), demonstrating superior biomass-substrate efficiency. Regarding acid production—assessed indirectly through pH drop and gas emission—strain 2 induced more pronounced acidification (pH \approx 2), particularly on carrot, potato, and artichoke substrates. These findings highlight that despite using fewer substrates, strain 2 was more efficient, suggesting more specialized enzymatic mechanisms for certain plant fiber types.

Keywords: *Aspergillus niger*, biomass, organic waste, citric acid.

Liste des abréviations

A .niger : Aspergillus niger

AC : Acide citrique

DO : Densité optique

FDA : *Food and drug administration*

GRAS : *Generally recognized as safe*

PDA : *Potato-dextrose-agar*

RSM : *Response Surface Methodology*

SSF : *Solid state fermentation*

Liste des tableaux

Tableau 01. générées par le modèle Plackett-Burman	21
.Tableau 02 . Suivi des changements dans l’aspect des pelures des carottes	24
Tableau 03. Suivi des changements dans l’aspect des pelures des citrouilles	25
Tableau 04. Suivi des changements dans l’aspect des feuilles d’artichaut	25
Tableau 05. Suivi des changements dans l’aspect des pelures de bananes	26
Tableau 06. Suivi des changements dans l’aspect des pelures des oranges	27
Tableau 07. Suivi des changements dans l’aspect des pelures des pommes de terre	27
Tableau 08. Observation macroscopique des changements organoleptiques de l’isolat 1 d’<i>Aspergillus niger</i> sur les déchets organiques	30-32
Tableau 9. Observation macroscopique des changements organoleptiques de l’isolat 2 d’<i>Aspergillus niger</i> sur les déchets organiques	33-35
Tableau 10. Suivi du dégagement de CO₂ des deux souches sur les déchets Organiques	37
Tableau 11. Observation macroscopique des changements organoleptiques de la souche 1d’<i>Aspergillus niger</i> sur les sources de carbone	40
Tableau 12. Observation macroscopique des changements organoleptiques de la Isolats 2 d’<i>Aspergillus niger</i> sur les sources de carbone	41
Tableau 13. Suivi du dégagement de CO₂ des deux isolats sur les sources de carbone	42
Tableau 14. Résultats du modèle Plackett-Burman pour l 1’isolat	44
Tableau 15.Résultats de Plackett-Burman pour l’isolat 2 (DO)	44
Tableau 16.Suivi du dégagement de CO₂ des deux isolas sur les déchets	46
Tableau 17.Suivi du pH des deux souches sur les déchets des manipulations de plackett-Burman	46

Liste des figures

Figure 1. Formule de l'acide citrique ; caractérisée par trois groupes - COOH	3
Figure 2. Parts de marché des applications	4
Figure 3.. Marché d'acide citrique	5
Figure 4. Observation macroscopique et microscopique d'<i>Aspergillus niger</i>	7
Figure 5. Voie de biosynthèse de l'acide citrique par le cycle de Krebs chez <i>Aspergillus niger</i>	9
Figure 6. Observation macroscopique d'<i>Aspergillus niger</i> (isolat 1) : variant noir et blanc	28
Figure 7. Observation macroscopique d'<i>Aspergillus niger</i> (isolat 2) : variant noir et blanc	28
Figure 8. Mycéliums de l'isolat 1 sur différents substrats	36
Figure 9. Mycéliums de l'isolat 2 sur différents substrats	37
Figure 10. Comparaison des densités optiques entre les isolats sur différents déchets	38
Figure 11. Comparaison du pH entre les isolats 1 et 2 sur différents déchets	39
Figure 12. Comparaison des densités optiques entre les isolats 1 et 2 sur différentes sources de carbone	42
Figure 13. Comparaison du pH entre les isolats 1 et 2 sur différentes sources de carbone	43
Figure 14. Observation macroscopique des changements organoleptiques de la souche 1 et 2 d'<i>Aspergillus niger</i> sur les déchets organique après Plackett- Burman	45
Figure 15. l'effet de levure sur les déchets de citrouille des deux isolats	47

TABLE DES MATIÈRES

Résumé

ملخص

Abstract

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 01

Synthèse bibliographique 02

Acide citrique 03

1. Applications industrielles de l'acide citrique 04

2. Marché mondial d'acide citrique 05

3. Production d'acide citrique 05

3.1. Extraction à partir de sources naturelle 05

3.2. Fermentation microbienne 05-06

Aspergillus niger 07

1. Mécanismes de production d'acide citrique par *Aspergillus niger* 09

2. Facteurs clés influant sur la production d'acide citrique 09

3. Amélioration des isolats d'*Aspergillus niger* 10

Valorisation de déchets organiques 10

1. Prétraitement des déchets organique 11

2. Avantages de l'utilisation des déchets organiques 11-12

3. Optimisation de la production d'acide citrique	12
Optimisation des conditions de culture	13
1. Optimisation des paramètres physicochimiques	13
2. Modes de fermentation et technologies de production	13
3. Stratégies d'optimisation par plans d'expériences	14
4. Récupération et purification de l'acide citrique	14
Défis et perspectives	15
1. Défis techniques et scientifiques actuels	15
2. Innovations et perspectives d'avenir	15
Matériel et méthodes	
Lieu d'étude	18
Période de la pratique	18
Objectif de l'étude	18
1. Collecte des déchets organiques	18
1.1. Préparation des substrats	18
2. Isolement d'<i>Aspergillus niger</i>	19
2.1 Isolement d'<i>Aspergillus niger</i> (isolat 1) à partir d'un melon jeune	19
2.2 Isolement d'<i>Aspergillus niger</i> (isolat 2) à partir de la surface d'un téléphone portable	19
3. Criblage des milieux de fermentation	20
3.1. L'effet des déchets organiques sur la biomasse des deux isolats d'<i>Aspergillus niger</i> et de la production de gaz	20

3.2. L'effet des sources de carbone sur la biomasse des deux isolats d' <i>Aspergillus niger</i> et la production de gaz	20
3.3. Criblage des déchets organique utilisant le modèle plackett-Burman	20
3.4. L'effet d'extrait de levure sur la croissance et le pH d' <i>Aspergillus niger</i>	21
4. Méthodes analytiques	21
4.1. Mesure de la biomasse	21
4.2. Production de CO ₂	21
4.3. Mesure du pH	22
5. visuliation des données	22
Résultats et discussion	
1. Collecte des déchets organiques	24
1.1 Pelures des carottes	24
1.2 Pelures de citrouille	24
1.3 Feuilles d'artichaut	26
1.4. Peau des bananes	26
1.5. Peau des oranges	26
1.6. Peau de la pomme de terre	27
2.1. Isolement d' <i>Aspergillus niger</i>	28
2.1.1. Isolement d' <i>Aspergillus niger</i> à partir de melon	28
2.1.2. Isolement d' <i>Aspergillus niger</i> à partir de la surface d'un téléphone portable	28
3. Criblage des milieux de fermentation	29
3.1. L' effet des déchets organiques sur la biomasse	29

3.2. L' effet de sources de carbone sur la biomasse des 2 isolats	39
3.3. Criblage des déchets organique utilisant le modèle plackett-Burmen	43
4. Effet d extrait de levure sur la croissance d'<i>aspergillus niger</i>	47
5.discussion	48
Conclusion	50
Références bibliographiques	52-57

Introduction

Introduction

La production de déchets alimentaires, en particulier ceux provenant de fruits et légumes non transformés, constitue une problématique mondiale préoccupante. Les quantités générées par les marchés de gros et de détail sont particulièrement élevées, ce qui accentue la nécessité de mettre en place des stratégies de valorisation efficaces.(Chavan et *al.*, 2022).

Les déchets issus de l'industrie agroalimentaire constituent une source abondante de biopolymères tels que la cellulose, la chitine et l'amidon. Ces composés présentent des propriétés intéressantes, notamment leur biocompatibilité, leur biodégradabilité ainsi qu'une faible toxicité. Grâce à cette richesse en composants bioactifs, ces résidus représentent une ressource renouvelable, peu coûteuse et respectueuse de l'environnement, parfaitement adaptée comme substrat dans divers procédés biotechnologiques (Nath et *al.*, 2024).

La valorisation réfléchie des résidus agricoles permet non seulement de réduire leur impact environnemental, mais également de développer des solutions innovantes et durables. (Xie et *al.*, 2021).

L'approche adoptée repose sur l'hypothèse que ces substrats non traités peuvent à la fois soutenir la croissance fongique (biomasse) et induire une acidification du milieu, traduisant une production potentielle d'acide citrique. Ainsi, la question centrale de notre travail est la suivante : comment valoriser efficacement ces déchets organiques issus du gaspillage domestique pour optimiser la croissance d'*A. niger* et, indirectement, favoriser la production d'acide citrique ?

Ce travail a été divisé en deux parties : une partie théorique, qui aborde les concepts clés et les recherches antérieures sur la production d'acide citrique par *A. niger*, et une partie pratique, où des expériences ont été menées pour optimiser la croissance du champignon à partir de déchets organiques, en évaluant l'impact des différents substrats et conditions environnementales sur la croissance mycélienne.

Synthèse

Bibliographique

Acide citrique

L'acide citrique (AC) également connu sous le nom acide 2-hydroxy-propane -1, 2, 3- tricarboxylique trouve son origine dans le mot latin citrus, qui fait référence aux agrumes (Latif et *al.*, 2025). Joue un rôle clé en tant qu'intermédiaire dans le cycle des acides tricarboxyliques, une voie métabolique essentielle chez les organismes aérobies (Behera et *al.*, 2021). L'AC est un acide organique faible de formule chimique $C_6H_8O_7$. Possédant trois groupes carboxyle (-COOH) attachés à une chaîne carbonée, lui confère trois valeurs de pKa distincts 3,1 ; 4,7 et 6,4 (Behera et *al.*, 2021). Sa structure semi développée présentée sur la figure 1 (Sinko, 2023) lui confère des propriétés acides, son aspect incolore et sa grande solubilité dans l'eau à l'état libre (Dhillon et *al.*, 2011 ; Show et *al.*, 2015). L'AC existe sous deux formes principales : la forme monohydratée (avec une molécule d'eau) ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) et la forme anhydre (sans eau) ($C_6H_8O_7$) (Show et *al.*, 2015 ; West, 2023). A température idéale, l'AC est solide (poudre blanche et cristalline) et présente un point de fusion $153^\circ C$ et une température d'ébullition $310^\circ C$ (Soccol et *al.*, 2018 ; Behera et *al.*, 2021 ; Książek, 2023).

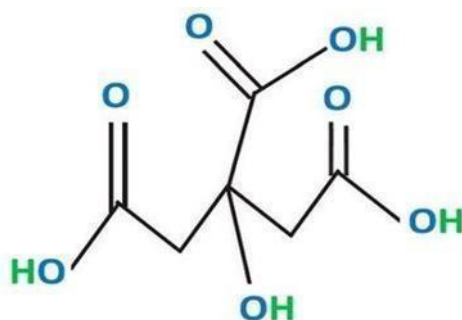


Figure 1 : Formule de l'acide citrique ; caractérisée par trois groupes -COOH (Show et *al.*, 2015).

Ces propriétés physico-chimiques le rendant particulièrement adapté à diverses applications dans les domaines de l'alimentation, des cosmétiques, des produits nutraceutiques et pharmaceutiques. La diversité de ses utilisations témoigne de sa grande polyvalence (Ciriminna et *al.*, 2017 ; Behera et *al.*, 2021).

La production mondiale d'AC a connu une croissance significative, passant d'environ 0,5 million de tonnes en 1989 à plus de 2 millions de tonnes en 2015. Les prévisions de marché indiquaient une expansion annuelle d'au moins 3,7% jusqu'en 2020 (Behera et *al.*, 2021).

1. Applications industrielles de l'AC

Grâce à la présence des groupes carboxyle et hydroxyle, l'AC, le monomère non toxique, dispose d'une grande polyvalence dans les industries cosmétique, alimentaire et pharmaceutique utilisant l'AC comme acidifiant, anti mousse, adoucissant, plastifiant, exhausteur de goût, antioxydant, conservateur, émulsifiant et agent chélatant (Deme et *al.*, 2020 ; Chilakamarry et *al.*, 2022 ; Latif et *al.*, 2025). Sur la production totale annuelle, environ 70% est consommée par l'industrie alimentaire, 12% par les industries pharmaceutiques tandis que le reste est utilisé dans d'autres industries selon Deme et *al.* en 2020. En 2024, selon le rapport: Citric Acid Market Size, Growth & Demand Report by 2033 environ 61.10% est consommée par l'industrie alimentaire, 19% est consommée par l'industrie pharmaceutique et 19,9% est consommée par d'autres industries (Figure 2).

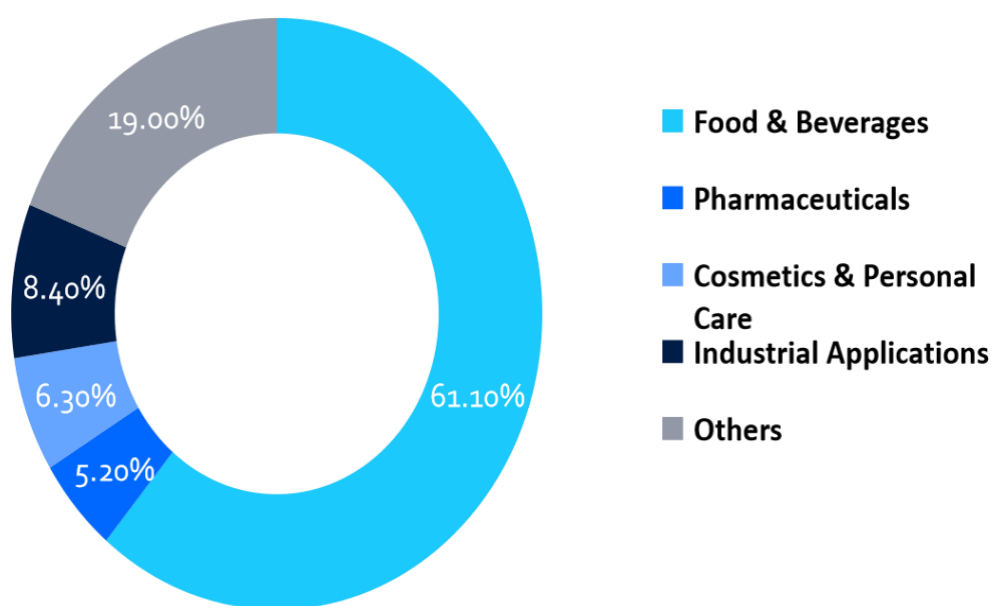


Figure 2. Parts de marché des applications (Report: Citric Acid Market Size, Growth & Demand Report by 2033).

2. Marché mondial d'AC

Grâce à son large éventail d'applications dans diverses industries (Książek et *al.*, 2024). La taille du marché d'AC a été évaluée à 3 626,11 millions USD en 2024. Il devrait passer de 3 776, 95 millions USD en 2025 à 5 232,99 millions USD d'ici 2030, affichant un taux de croissance annuel composé (TCAC) de 4,2% au cours de la période de prévision selon (Report: Citric Acid Market Size, Growth & Demand Report by 2033).

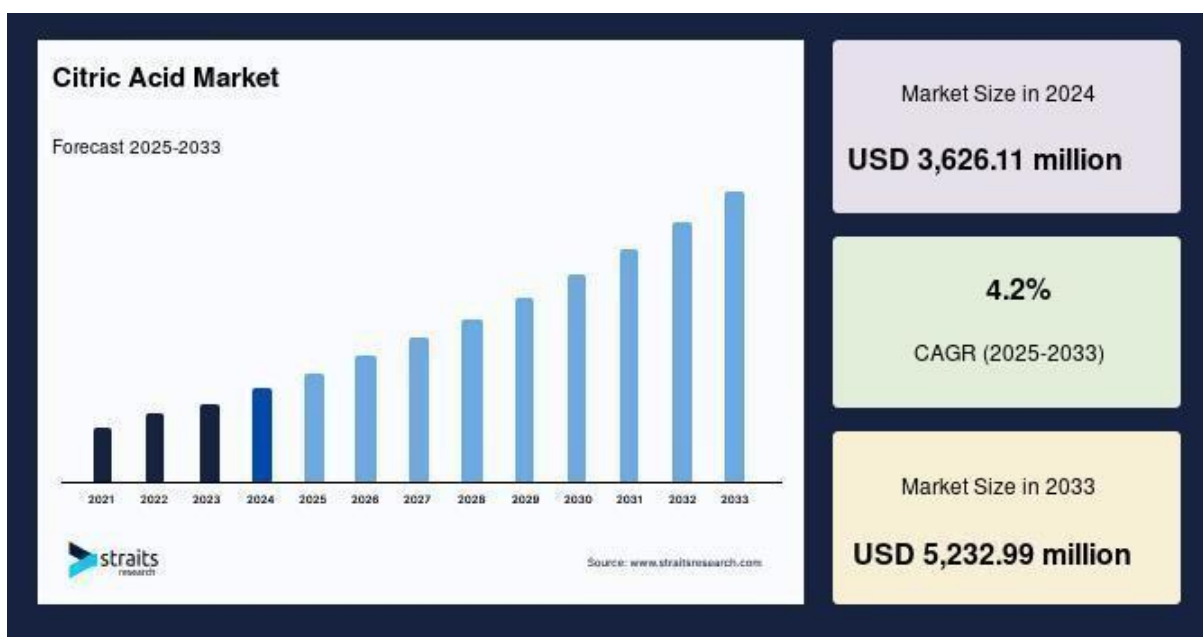


Figure 3. Marché d'AC (Report: Citric Acid Market Size, Growth & Demand Report by 2033).

3. Production de l'AC

3.1. Extraction à partir de sources naturelle

Initialement, l'AC était extrait du jus des agrumes. Cependant, cette méthode est aujourd'hui peu utilisée par rapport à sa faible rentabilité et la demande croissante d'AC (Dhillon et *al.*, 2011).

3.2. Fermentation microbienne

Actuellement, la majeure demande (90%) en AC est assurée par fermentation (Deme et *al.*, 2020 ; Börekçi et *al.*, 2021) ce qui présente de nombreux avantages : un processus

Synthèse bibliographique

simple et stable. La production est divisée en trois étapes selon Deme et *al.*, 2020 : la préparation de la matière première, la fermentation et la récupération du produit.

De plus, l'AC est sécrété principalement par les moisissures et les levures (Soccol et *al.*, 2018). Tel que, les espèces de *Candida* sp. (Börekçi et *al.*, 2021), *Yarrowialipolytica* (Cavallo et *al.*, 2017 ; Carsanba et *al.*, 2019 ; Kamzolova, 2023 ; Książek, 2023), En production industrielle, les champignons filamenteux, principalement *A. niger* sont utilisés. Car, ces microorganismes offrent plusieurs avantages, notamment leur capacité à s'adapter et à croître sur divers substrats (Abu yazid et *al.*, 2017 ; Książek, 2023). La production d'AC peut être réalisée par trois manières :

- La fermentation en surface : désigne le processus dans lequel les microorganismes se développent sous forme d'un tapis mycélien épais flottant à la surface du milieu ;

- La fermentation submergée (ou en profondeur) : est le processus dans lequel la croissance et la dégradation anaérobie ;

- La fermentation en milieu solide (solid-state fermentation SSF) : les microorganismes se développent sur des substrats solides, insolubles et humides qui leur servent de nutriments et de support. Le tout, en l'absence ou quasi- absence d'eau libre (Deme et *al.*, 2020).

Synthèse bibliographique

Aspergillus niger

Aspergillus niger (*A. niger*) est un champignon filamenteux l'une des espèces fongiques les plus courante et importante, et omniprésent dans divers environnements (Yu et *al.*, 2021) est capable de sécréter un cocktail d'enzymes hydrolytiques pour dégrader rapidement des polymères complexes présents dans des substrats bon marché (comme les matières premières) en sucres fermentescibles (Tong et *al.*, 2019). Est largement utilisé dans l'industrie pour produire des enzymes, des acides organiques et d'autres métabolites (Salomi et *al.*, 2023). Il est capable de générer le pigment mélanine ; est un composant essentiel de la paroi cellulaire fongique qui protège les champignons du stress environnemental adverse (Xu et *al.*, 2022). Le biofilm fongique filamenteux est une communauté microbienne structurée composée de mycélium enveloppé dans une matrice extracellulaire (MEC) qui adhère les uns aux autres (Sun et *al.*, 2021).

A.niger présente un grand nombre d'avantages par rapport à d'autres microorganismes, tels qu'une capacité élevée d'accumulation d'AC, une manipulation facile, un rendement élevé en AC, la capacité de traiter divers substrats pour la fermentation, et un faible cout (Latif et *al.*, 2025). La souche peut être conservée à 4°C et se développe efficacement entre pH 2,5 et 3,5 (Ozidal et Kurbanoglu, 2019).

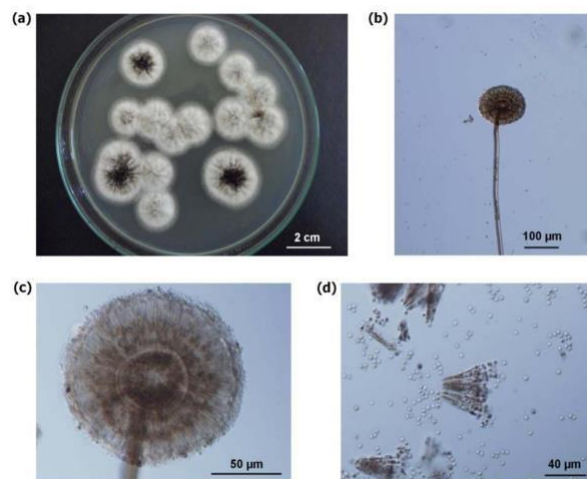


Figure :04 Observation macroscopique et microscopique d'*Aspergillus niger*(senawong et *al.*,2014)

En raison de son potentiel métabolique exceptionnel, *A. niger* est largement utilisé dans les biotechnologies industrielles, ayant obtenu le statut *Generally Recognized As Safe* (GRAS)

Synthèse bibliographique

par *Food and Drug Administration* (FDA) (Latif et *al.*, 2025). Cette reconnaissance permet son utilisation dans la production d'enzymes comme les amylases, les pectinases et les protéases, ainsi que dans la synthèse d'acides organiques dont l'AC, gluconique et oxalique (Książek, 2023).

1. Mécanismes de production d'AC par *A. niger*

La production d'AC par *A. niger* résulte d'une accumulation anormale de citrate pendant le cycle des acides tricarboxyliques (cycle de Krebs) comme le montre la figure 5, principal mécanisme de génération d'énergie en aérobiose (Behera et *al.*, 2021). Dans des conditions normales, le citrate produit par l'isocitrate synthase est métabolisé par l'aconitase pour former l'isocitrate, puis suit le cycle complet. Cependant, dans des conditions spécifiques de carence en nutriments et de stress métabolique, plusieurs mécanismes conduisent à l'accumulation et à l'excrétion du citrate (Tong et *al.*, 2019).

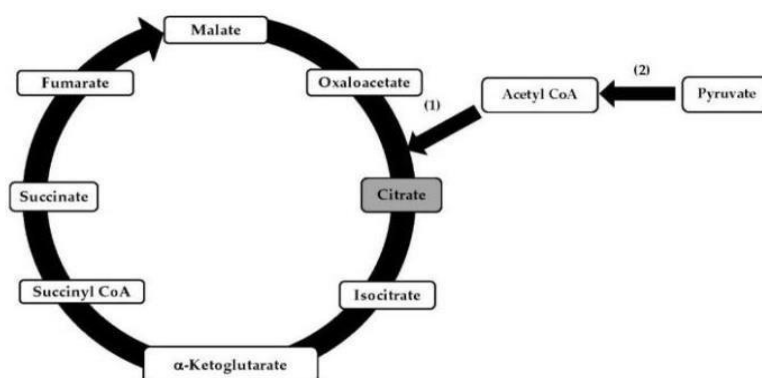


Figure 5 : Voie de biosynthèse de l'acide citrique par le cycle de Krebs chez *A. niger*

(West, 2023).

2. Facteurs clés influant sur la production d'acide citrique

La capacité d'*Aspergillus niger* à produire de l'acide citrique a été découverte en 1917 par James Currie, qui a montré que ce champignon pouvait générer de fortes concentrations d'acide citrique lorsqu'il était cultivé sur un milieu sucré (Timothy et *al.*, 2018). La production d'acide citrique est influencée par plusieurs facteurs cruciaux. D'après Show et *al.*, 2015, la source de carbone (comme les polysaccharides), le type de source d'azote (tel que le nitrate d'ammonium) et la source de phosphate impactent directement le rendement.

De plus, un pH initial optimisé du milieu est essentiel, devant être adapté au micro-organisme, au substrat et à la technique de production. La présence de méthanol a un effet fortement positif sur la formation d'acide citrique à partir de diverses sources de carbone.

Les ions métalliques divalents (manganèse, zinc, cuivre, magnésium, fer) jouent également un rôle significatif. Enfin, la nature hautement aérobie de cette bioproduction rend la quantité d'oxygène fournie un facteur critique, tout comme l'ajout de certains lipides, comme l'huile d'arachide.

3. Amélioration des souches d'*Aspergillus niger*

Bien que les champignons filamenteux possèdent une capacité de production prometteuse, les outils de génie génétique disponibles pour ces organismes accusent un certain retard par rapport à ceux développés pour des modèles plus couramment étudiés comme *E. coli* ou *S. cerevisiae* (Fuller et *al.*, 2015 ; Sarkari et *al.*, 2017).

Cependant, l'émergence de la technologie d'édition génomique CRISPR/Cas9 a considérablement fait progresser la recherche en mycologie. Initialement introduite chez *Saccharomyces cerevisiae* par (Dicarlo et *al.*, 2013), cette méthode a rapidement été adaptée à d'autres champignons, notamment *Trichoderma reesei* par (Liu et *al.*, 2015), et aux champignons modèles *N. crassa* et *A. nidulans* par (Matsu-ura et *al.*, 2015) et (Nodvig et *al.*, 2015) respectivement (Song et *al.*, 2019).

Dans le sillage de ces avancées, les travaux de Sarkari et son équipe en 2017 ont permis de développer une stratégie d'ingénierie génétique particulièrement efficace pour l'insertion de cassettes d'expression hétérologues dans des régions spécifiques du génome d'*A. niger*. Cette avancée ouvre de nouvelles perspectives pour l'amélioration ciblée de ces souches industrielles.

Valorisation des déchets organiques

La valorisation des déchets organiques attire de plus en plus l'attention. (Selon Lizundia et *al.*, 2022), les matières premières de déchets organiques d'origine aquatique, qu'il s'agisse d'écosystèmes d'eau douce ou marins (algues, crevettes...), d'origine agricole et forestière (marcs de fruits, cosses, lignocellulose...) ou d'origine animale terrestre (coquilles d'œufs, plumes...), sont particulièrement adaptées à la valorisation.

Les déchets de fruits, ayant une abondance de glucides fermentescibles et une faible teneur en protéines, sont des substrats appropriés pour la production fermentaire de bioénergie, car leurs rapports carbone/azote (C/N) élevés sont favorables à l'obtention de rendements élevés en bioénergie (Saha et *al.*, 2016).

1. Prétraitement des déchets organiques

Les déchets alimentaires représentent une matière première prometteuse pour la production d'acide citrique par fermentation.

Avant d'être utilisés dans divers processus biologiques, les déchets alimentaires doivent subir un prétraitement. Plusieurs stratégies (physiques, physico-chimiques, chimiques et biologiques) ont été tentées pour libérer les fractions fermentescibles de la biomasse (glucose, xylose, arabinose,...). Le prétraitement physique incluent le broyage, l'extrusion, les ultrasons et les micro-ondes (Gallego-Garcia et *al.*, 2023). L'application d'acides minéraux forts pour le prétraitement de la biomasse, comme l'acide sulfurique, a été bien établie dans plusieurs études récentes. La lignine (un polymère phénolique tridimensionnel insoluble dans l'eau), la cellulose (homopolymère de glucose) et l'hémicellulose (hétéropolymère d'hexose et de pentose) dans la biomasse lignocellulosique nécessite des méthodes de prétraitement comparativement fortes pour la libération des sucres fermentescibles solubles, mais les environnements acides entraînent la perte de sucres fermentescibles sous forme de furfural et de 5-hydroxyméthylfurfural (Saha et *al.*, 2016; Baruah et *al.*, 2018 ; Banu et *al.*, 2020 ; Woźniak et *al.*, 2025).

2. Avantages de l'utilisation des déchets organiques

Les déchets organiques, notamment les résidus agro-industriels comme les pelures de fruits, représentent une source de substrat abondante et peu coûteuse pour la production d'acide citrique par *Aspergillus niger* (West, 2023).

Synthèse bibliographique

Ces coproduits sont souvent disponibles gratuitement ou à très bas prix, ce qui en fait une solution économiquement avantageuse (Satheeshkumar et *al.*, 2019). Du point de vue environnemental, cette approche contribue à diminuer la pollution liée à l'élimination conventionnelle des déchets organiques, qui génère souvent des émissions de Méthane et de d'effluents contaminants (Zhang et *al.*, 2021).

La valorisation des déchets peut réduire le réchauffement climatique associé aux ressources perdues, car les déchets organiques post-consommation enfouis génèrent environ 12 % des émissions mondiales de CH₄ (Lizundia et *al.*, 2022). L'agriculture intensive avec des espèces végétales hybrides et épuisantes peut nécessiter une grande quantité de macronutriments majeurs, tels que l'azote et le phosphore. Une quantité significative d'azote mondial a été perdue par le biais du gaspillage alimentaire (Sarker et *al.*, 2024).

3. Optimisation de la production d'acide citrique

Plusieurs études ont tentées d'optimiser la production d'AC. Le travail de (Fernandes et *al.*, 2022), a optimisé l'extraction d'acide citrique des écorces d'agrumes par ultrasons, en utilisant un plan expérimental couplé à la méthode des surfaces de réponse (RSM), combinant l'effet de trois variables indépendantes.

Ces modèles ont prédit la récupération de 6,4 g et 3,4 g d'acide citrique pour 100 g d'écorces sèches d'orange et de lime, respectivement. Les travaux de (Chergui et *al.*, 2021) ont utilisés deux variétés de dattes comme substrat pour la production d'AC.

Optimisation des conditions de culture

1. Optimisation des paramètres physicochimiques

Le pH du milieu de fermentation est crucial pendant les phases de sporulation et de production. Le pH initial d'un milieu doit être optimisé en fonction du micro-organisme, du substrat et de la technique de production. Les activités métaboliques d'*Aspergillus* réduisent rapidement le pH en dessous de 3 (Show et *al.*, 2015).

La température est un autre paramètre qui affecte l'activité enzymatique, les systèmes de transport microbiens et, par conséquent, l'efficacité de la biosynthèse de l'acide citrique. Dans la production d'acide citrique, la température optimale se situe généralement entre 28 °C et 30 °C (Książek, 2023).

La présence de divers éléments chimiques est cruciale pour la croissance fongique et l'efficacité de la production d'AC. L'azote, par exemple, est un nutriment vital. Des sources telles que l'urée, la peptone, l'extrait de malt et les sels d'ammonium (dont le sulfate et le nitrate d'ammonium) sont couramment employées pour l'apport en azote. De même, la présence de phosphore dans le milieu de culture influence significativement la biosynthèse de l'acide citrique. Les meilleures sources de phosphore identifiées sont le K₂HPO₄ et le KH₂PO₄. Enfin, les oligo-éléments sont un facteur déterminant pour l'efficacité de la biosynthèse de l'acide citrique. Parmi eux, le manganèse, le zinc, le cuivre et le fer revêtent une grande importance (Książek, 2023 ; Latif et *al.*, 2025).''

L'aération et l'agitation sont particulièrement importantes pour *A. niger*, un organisme strictement aérobic dont la demande en oxygène est élevée durant la phase de production. Un taux d'oxygène dissous supérieur à 25% de saturation est généralement recommandé (Latif et *al.*, 2025). La concentration optimale en sucre dans le milieu se situe entre 14 et 22%, avec une préférence pour le glucose ou le saccharose. Des concentrations inférieures limitent le rendement final, tandis que des concentrations excessives peuvent provoquer un stress osmotique inhibiteur (Chergui et *al.*, 2021).

2. Modes de fermentation et technologies de productions

Deux principaux types de procédés de fermentation sont généralement utilisés pour la production d'AC : les procédés en milieu liquide (consiste à cultiver les microorganismes dans un milieu liquide) et en milieu solide. La fermentation en substrat liquide est ensuite divisée en fermentation submergée et en surface (Show et *al.* , 2015 ; Behera et *al.*, 2020 ; Latif et *al.*, 2025). Actuellement, l'AC est principalement produit par fermentation submergée (80%) à l'aide d'*A. niger* en culture discontinue (Jin et *al.*, 2021 Latif et *al.*, 2025).

Synthèse bibliographique

La fermentation continue, bien que moins répandue pour l'AC, offre des avantages en termes de productivité volumétrique et de qualité constante du produit. Elle nécessite cependant une optimisation pour maintenir la stabilité des souches sur de longues périodes (Jin et *al.*, 2021). Les technologies de SSF constituent une alternative prometteuse pour la valorisation des déchets agricoles, avec des avantages comme la réduction des risques de contamination bactérienne, la diminution des besoins en eau et en énergie, et la simplification des étapes de récupération du produit (Chilakamarry et *al.*, 2022).

3. Stratégies d'optimisation par plans d'expériences

L'application de plans d'expériences, tels que le design Box–Behnken, permet de modéliser statistiquement l'influence simultanée de paramètres tels que la concentration en substrat, le pH et la température sur la production d'acide citrique par *Aspergillus niger*. Dans une étude, l'optimisation a identifié des conditions idéales : 50 g/L de substrat, pH 2,0 et température de 25 °C, aboutissant à une production de 31,96 g/L d'acide citrique – le modèle prédictif correspondant ayant efficacement prédit et confirmé ces résultats expérimentaux (Amenaghawon et *al.*, 2013)

4. Récupération et purification de l'acide citrique

La récupération et la purification de l'AC constituent une étape critique représentant jusqu'à 30-40% du coût total de production. Le processus conventionnel débute par la séparation de la biomasse fongique par filtration ou centrifugation, suivie d'une précipitation du citrate sous forme de sel de calcium par addition d'hydroxyde de calcium ou de carbonate de calcium (West, 2023). L'AC est ensuite libéré par traitement à l'acide sulfurique, formant un précipité de sulfate de calcium facilement séparable. Les étapes suivantes comprennent la décoloration par charbon actif, la concentration par évaporation, et la cristallisation finale (Dhillon et *al.*, 2011).

Des technologies alternatives comme l'extraction liquide-liquide utilisant des solvants organiques (octanol, tributylphosphate) permettent d'extraire directement l'acide citrique du bouillon de fermentation, réduisant les étapes intermédiaires et la consommation de réactifs (Zhang et *al.*, 2023). Les procédés membranaires comme l'ultrafiltration, la nano-filtration et l'électrodialyse offrent des approches plus écologiques, avec une consommation réduite d'énergie et de produits chimiques (Wang et *al.*, 2020). Les techniques chromatographiques, notamment la chromatographie d'échange d'ions, permettent d'obtenir des produits de haute pureté pour les applications pharmaceutiques et alimentaires haut de gamme (Siagian et *al.*, 2023).

Défis et Perspectives

1. Défis techniques et scientifiques actuels

La présence d'inhibiteurs dans certains substrats, comme les composés phénoliques dans les résidus lignocellulosiques ou les métaux lourds dans les déchets industriels, peut compromettre la performance d'*A. niger* et nécessiter des prétraitements coûteux (Zhang et al., 2021).

L'optimisation de la fermentation en milieu solide à l'échelle industrielle reste problématique en raison des difficultés liées au contrôle précis des paramètres (température, humidité, transfert d'oxygène) au sein d'une matrice solide hétérogène (Soccol et al., 2018). La récupération efficace de l'AC à partir de matrices complexes comme les déchets fermentés représente un défi technique, les méthodes conventionnelles étant souvent peu adaptées aux impuretés spécifiques de ces substrats (Behera et al., 2021). Les aspects énergétiques demeurent préoccupants, particulièrement dans les étapes de concentration et de cristallisation qui consomment une part importante de l'énergie totale du procédé, réduisant la durabilité environnementale et économique (Becker et al., 2020).

2. Innovations et perspectives d'avenir

L'intégration de la production d'AC dans des bio-raffineries multi-produits représente une évolution stratégique majeure, permettant la valorisation complète des déchets organiques et améliorant la viabilité économique globale (West, 2023). De nouvelles technologies de séparation inspirées des principes de la chimie verte, comme l'extraction par liquides ioniques biodégradables ou les systèmes bi-phasiques aqueux, promettent de réduire l'impact environnemental et les coûts énergétiques des étapes de purification (Zhang et al., 2023). L'approche d'économie circulaire, intégrant la réutilisation des sous-produits de la fermentation comme la biomasse fongique (riche en protéines et chitine) et les résidus solides (utilisables comme amendements agricoles ou pour la production de biogaz), permet d'optimiser la chaîne de valeur complète tout en minimisant l'impact environnemental (Ewing et al., 2022).

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

Objectifs de l'étude

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de microbiologie (laboratoire 09) du département de microbiologie, à la faculté des sciences biologiques de l'Université Frères Mentouri _Constantine.

La collecte des déchets a été effectuée durant le mois du Ramadan 2025, Le stage s'est déroulé sur une période d'un mois, allant du 27 avril au 28 mai 2025

Cette étude vise à optimiser la croissance et la production d'acide citrique à partir de deux isolats d'*Aspergillus niger* (*A. niger*) en utilisant divers déchets organiques qui n'ont subi aucun traitement thermique, chimique ou biologique préalable. Pour ce faire,

- Collecter et classer les déchets organiques issuent de gaspillage domestique ;
- Isoler deux souches distinctes d'*A. niger*,
- Comparer leur capacité de croissance des variantes sur les déchets organiques non traités ;
- Optimiser de la croissance d'*A. niger* en testant divers substrats organiques.

1. Collecte des déchets organiques

La collecte des déchets organiques domestiques, tels que les épluchures de fruits et légumes, est une excellente démarche pour réduire le gaspillage et valoriser ces ressources pour la production des produits à haute valeur ajoutée.

1.1 Préparation des substrats

Durant le mois du ramadan 2025 les activités de collecte des déchets organiques et de préparation des substrats ont été réalisées selon les étapes suivantes :

- **Nettoyage**

Les feuilles d'artichaut, pelures d'orange, banane, pomme de terre, carotte et de citrouille sont soigneusement lavées pour éliminer les impuretés, les saletés et les résidus chimiques. Cette étape est essentielle pour garantir la propreté du substrat et éviter toute contamination.

Matériel et méthodes

- **Séchage à l'air libre**

Après le nettoyage, les déchets sont étalés en une couche uniforme sur des grilles ou des plateaux et exposés au soleil. Cette méthode de séchage naturel permet de réduire l'humidité du substrat à un niveau optimal.

- **Broyage**

Une fois nettoyés et séchés, les déchets sont broyés à l'aide d'un broyeur électrique. Cette étape permet d'obtenir des particules plus fines, ce qui facilite les étapes suivantes du processus de fermentation.

- **Tamissage**

Après le séchage, les substrats ont été soumis un tamissage manuel par un passoire dans le but de séparer les particules grossières (débris) et la poudre fine.

2. Isolement d'*A. niger*

Le matériel biologique employé dans cette étude est un champignon filamenteux appartenant à la classe des *Ascomycètes*, plus précisément l'espèce *A. niger*.

2.1 Isolement d'*A. niger* (isolat 1) à partir d'un melon jeune.

Une moisissure a été observée sur un melon, indiquant la présence possible d'*A. niger*. Le prélèvement a été réalisé à l'aide d'une anse de platine, en frottant doucement la zone contaminée. L'échantillon a étéensemencé sur des milieux de culture *Potato-dextrose- agar* (PDA) (Annexe 02) en duplicate. Après une incubation de 07 jours et à 30°C, *A. niger* a été identifié basant sur des critères morphologiques macroscopiques :

Croissance rapide des colonies matures, ils sont d'abord blanches puis deviennent rapidement noires, la colonie est cotonneuse avec une texture poudreuse, la couleur est noir charbon.

Le champignon a ensuite été repiqué sur un nouveau milieu PDA pour obtenir une culture pure.

2.2 Isolement d'*A. niger* (isolat 2) à partir de la surface d'un téléphone portable

Le deuxième isolat d'*A. niger* a été isolé lors des manipulations du TP des microorganismes pathogènes au sein de laboratoire pédagogique 8. Le prélèvement a été réalisé à l'aide d'un écouvillon. L'échantillon a étéensemencé sur des milieux de culture PDA (Annexe 02) en duplicate. Après une incubation de 07 jours et à 30°C, *A. niger* a été identifié basant sur des critères morphologiques macroscopiques .

3. Criblage des milieux de fermentation

3.1 L'effet des déchets organiques sur la biomasse des deux isolats d'*A. niger* et de la production de gaz

Pour chaque essai de fermentation, 7,5 % (p/v) (show et *al.*, 2015) de substrat (débris/poudre fine) ont été introduits dans des tubes à essai propres et stériles et incubés à 30°C pendant une semaine.

3.2 L'effet des sources de carbone sur la biomasse des deux isolats d'*A. niger* et la production de gaz

Afin de comprendre l'effet des sucres simples ou complexes présent dans les milieux de fermentation sur la biomasse d'*A. niger* ; 7,5% (p/v) (show et *al.*, 2015) de glucose, fructose, pectine, amidon et saccharose ont été testés.

3.3. Criblage des déchets organique utilisant le modèle plackett-Burman

A partir des résultats de la section 3.1., un modèle de Plackett-Burman a été proposé. Ce plan factoriel fractionnaire permet d'identifier rapidement et avec un nombre minimal d'expériences les facteurs les plus influents parmi un nombre de variables sur la réponse mesurée (la biomasse).

Le tableau (01) présente les douze manipulations à réaliser, chacune avec deux (+/-) correspond à la présence ou à l'absence des variables.

Matériel et méthodes

Tableau 01 : Manipulations générées par le modèle Plackett-Burmen.

	Débris de banane	Poudre d'orange	Poudre d'artichaut	Poudre pomme de terre	Carotte	Citrouille
01	—	+	+	—	+	—
02	—	—	+	+	+	—
03	—	+	—	—	—	+
04	+	+	—	+	+	—
05	—	—	—	—	—	—
06	+	—	+	—	—	—
07	—	—	—	+	+	+
08	—	+	+	+	—	+
09	+	—	+	+	—	+
10	+	+	+	—	+	+
11	+	—	—	—	+	+
12	+	+	—	+	—	—

3.4. L'effet d'extrait de levure sur la croissance et le pH d'*A.niger*

Afin de déterminer l'effet d'extrait de levure sur la croissance d'*A.niger* et la production d'acide citrique.

Trois tubes ont été préparés, chacun contenant 7,5 g/L de déchets de citrouille. À ces tubes ont été ajoutées différentes concentrations d'extrait de levure (5,10 et 15%) (w/v).

Chaque tube a ensuite été inoculé avec les deux souches d'*A. niger*. Les tubes ont été incubés dans une étuve à 30°C pendant 7 jours.

4. Méthodes analytiques

4.1. Mesure de la biomasse

La biomasse fongique a été quantifiée au moyen d'un spectrophotomètre UV-Vis, à une longueur d'onde de 650nm .

4.2. Production de CO₂

La production de CO₂ est déterminée visuellement par l'observation de bulles d'air. La mesure est purement qualitative à l'œil nu.

Matériel et méthodes

4.3. Mesure du pH

La mesure du pH est effectuée par pH mètre à 25°C. Le pH de milieu a été mesuré une seule fois en fin de fermentation j7 après homogénéisation de la culture par vortex.

5. Visualisation des données

Le plan de Plackett-Burman a été généré à l'aide du logiciel Minitab, et les représentations graphiques ont été créées avec Excel.

Résultats et discussion




Résultats et discussion

1. Collecte des déchets organiques

1.1 Pelures des carottes

Le séchage des pelures de carottes (83g) permettant de réduire le volume des déchets (11g) après 6 jours (allant de 18/03/2025 jusqu'au 24/03/2025) de séchage à l'air libre avec une réduction de 87% (Tableau 02).

Tableau 02 : Suivi des changements dans l'aspect des pelures des carottes




		
Pelures des carottes avant séchage	Pelures des carottes après séchage	Poudre de pelures des carottes après tamisage
83g	11g	6g

1.2 Pelures de citrouille

Le séchage des pelures de citrouille (215g) permettant de réduire le volume des déchets (15g) après 3 jours (allant de 18/03/2025 jusqu'au 21/03/2025) de séchage à l'air libre avec une réduction de 93% (Tableau 03).

Résultats et discussion





Tableau 03 : Suivi des changements dans l'aspect des pelures des carottes

		
Pelures des citrouilles avant séchage 215 g	Pelures des citrouilles après séchage 15g	Pelures de citrouille après tamisage 10g

1.3 Feuilles d'artichaut

Le séchage des pelures des artichauts (395g) permettant de réduire le volume des déchets (88g) après 7 jours (allant de 21/02/2025 jusqu'au 28/02/2025) de séchage à l'air libre avec une réduction de 78% (Tableau 04)

Tableau 04 : Suivi des changements dans l'aspect des feuilles d'artichaut

			
feuilles d'artichaut avant séchage 395g	Feuilles d'artichaut après séchage 88g	Feuilles d'artichaut après tamisage (débris) 32g	Feuilles d'artichaut après tamisage (poudre) 50g

Résultats et discussion

1.4 Peau des bananes

Le séchage des pelures de bananes (933g) permettant de réduire le volume des déchets (111g) après 6 jours (allant de 15/03/2025 jusqu'au 25/04/2025) de séchage à l'air libre avec une réduction de 88% (tableau 05)

Tableau 05 : Suivi des changements dans l'aspect des feuilles d'artichaut

			
Les pelures de bananes avant séchage 933g	Les pelures de bananes après séchage 111g	Les pelures de bananes après tamisage (débris). 22g	Les pelures de bananes après tamisage (poudre) 78g

1.5 Peau des oranges

Le séchage des pelures d'oranges (680g) permettant de réduire le volume des déchets (171g) après 13 jours (allant de 08/03/2025 jusqu'au 21/03/2025) de séchage à l'air libre avec une réduction de 75% (tableau 06)

Résultats et discussion





Tableau 06 : Suivi des changements dans l'aspect de la peau des oranges

			
Les pelures des oranges avant séchage	Les pelures des oranges après séchage	Les pelures des oranges après tamisage (le débris)	Les pelures des oranges après tamisage (la poudre)
680 g	171 g	43g	106 g

1.6 Peau de la pomme de terre

Le séchage des pelures des pommes de terre (1185g) permettant de réduire le volume des déchets (105g) après 12 jours (allant de 06/03/2025 jusqu'au 18/04/2025) de séchage à l'air libre avec une réduction de 91% (tableau 07)

Tableau 07 : Suivi des changements dans l'aspect de la peau de la pomme de terre

			
Pelures de pomme de terre avant séchage 1185g	Pelures de pomme de terre après séchage 105g	Pelures de pomme de terre après tamisage (débris) 27g	Pelures de pomme de terre après tamisage (poudre) 69 g

Résultats et discussion

2. Isolement d'*A. niger* à partir des deux lots

2.1 Isolement d'*A. niger* à partir de melon

La Figure 05 illustre deux variantes morphologiques d'*A. niger* isolés du melon (isolat 1). A gauche présente un isolat noir montrant une colonie à pigmentation foncée caractéristique, avec des conidiophores ramifiés et des têtes conidiennes globuleuses noirâtres, typiques des souches productrices de mélanine. En revanche, la figure à droite révèle un variant blanc de morphologie mycélienne similaire mais dépourvu de pigmentation mélanisée, résultant en une colonie blanchâtre.

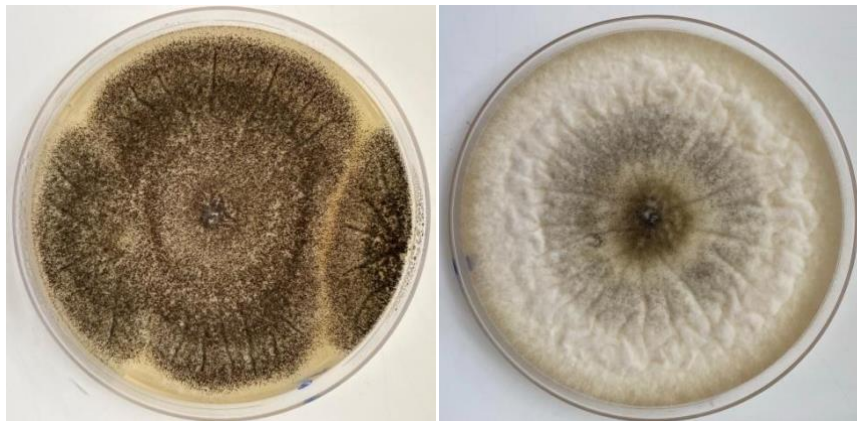


Figure 06: Observation macroscopique d'*A. niger* (isolat 1) à gauche noire et à droite blanc

2.2 Isolement d'*A. niger* à partir d'un écran portable

La Figure 06 montre des isolats d'*A. niger* issus d'un écran portable. La Figure a gauche montre un isolat noir à pigmentation intense, croissance mycélienne dense et sporulation abondante, tandis que la Figure à droite présente un variant blanc de structure similaire mais sans pigmentation, formant une colonie blanc-crème.



Figure 07 : Observation macroscopique d'*A. niger* (isolat 2) à droite blanc et à gauche noir

Résultats et discussion

3. Criblage des milieux de fermentation

Afin de tester la capacité d'un champignon à croître sur des substrats complexes. Un criblage a été réalisé par le suivi de la biomasse et la production de gaz sur différents déchets organiques (poudre/débris).

3.1 Etude de l'effet des déchets organiques sur la biomasse




Les tableaux 08 et 09 présentent les changements organoleptiques des deux souches, démontrant leur capacité à se développer sur tous les déchets organiques après 7 jours d'incubation à 30°C.

Après tamisage, les déchets récupérés sont classés en deux catégories : les débris (partie retenue par la passoire) et la poudre (la partie qui passe à travers la passoire).



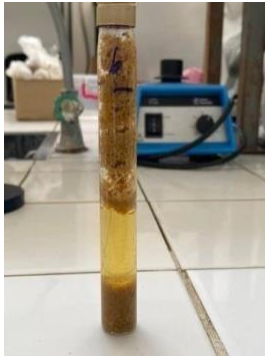

L'isolat 01 montre une activité intense sur les débris de banane (liquide jaune trouble, dépôt solide), la peau des oranges (liquide orange vif) et les feuilles d'artichaut (couleurs brun-vert foncé). Tandis que, l'isolat 02 présente des motifs différents : couche noire sur les pelures de banane, liquides jaune-orange troubles sur substrats orangés et couleurs brun clair sur les feuilles d'artichaut.

Résultats et discussion




Tableau 08 : Observation macroscopique des changements organoleptiques de l'isoalt 1 d'*A. niger* sur les déchets organiques.

Substrat	Observation	Image
Pelures de banane (débris)	Couleur noire en bas, liquide jaune trouble, dépôt solide, Mycélium visual	
Peau des oranges (débris)	Liquide orange vif	
Peau des oranges (Poudre)	Liquide très jaune homogène	

Résultats et discussion




Peau de la pomme de terre (débris)	Couleur brun-jaune, Particules solides visibles.	
Peau des bananes (poudre)	Liquide brunâtre foncé, dense.	
Feuilles d'artichaut (Poudre)	Brun-vert, très foncé, Particules solides abondantes	
Feuilles d'artichaut (débris)	Marron clair, moins dense	

Résultats et discussion

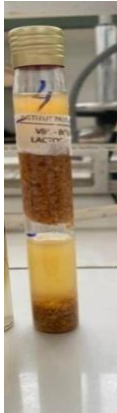

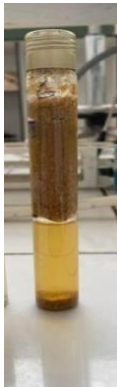

Peau de la pomme de terre (poudre)	Liquide clair avec dépôt brun Clair	
Pelures de citrouille	Brun-vert, Particules solides abondantes	
Pelures des Carottes	Liquide orangé homogène	

Résultats et discussion

Tableau 9: Observation macroscopique des changements organoleptiques de l'isolat 2 d'*A.niger* sur les déchets organiques.

Substrat	Observation	Image
Pelures de banane (débris)	Couche noire au fond, liquide brun-jaune, dépôt compact, mycélium dense visible	
Peau des oranges (débris)	Liquide jaune-orange trouble, dépôts épais au fond, mousse légère	
Peau des oranges (poudre)	Liquide homogène orange vif, dépôt fin, peu de mycélium visible	

Résultats et discussion

Peau de la pomme de terre (débris)	Liquide brun foncé, dépôt solide brun clair	
Peau des bananes(proudre)	Liquide brun-orange trouble, dépôt présent, mycélium très dense	
Feuille d'artichaut (poudre)	Liquide brun clair, dépôt preste	
Feuille d'artichaiut (débris)	Liquide jaune clair, dépôt marron au fond, mycélium en surface	

Résultats et discussion

Peau de la pomme de terre (poudre)	Liquide jaune pâle, dépôt granuleux	
Pelures de Citrouille	Liquide vert-brun, dépôt dense	
Pelures de Carotte	Liquide orange foncé, dépôt épais	

On observe un mycélium sur la surface des tubes, la figure 08 montre la présence de mycélium de l'isolat 1 sur les débris de banane, la poudre d'orange, les débris d'artichaut. En revanche, la figure 08 illustre que le mycélium de l'isolat 2 sur les débris de banane, la pectine et l'amidon.

Le mycélium (1) se présente sous forme d'une grande colonie noire, homogène et très dense. Sa surface est parfaitement recouverte de spores, ce qui témoigne d'une croissance pleinement mature. Cette morphologie est caractéristique d'un

Résultats et discussion

développement optimal d'*A. niger*. Le mycélium (2), quant à lui, montre une colonie de forme irrégulière, brunâtre et pâteuse, sans aucune sporulation visible. Cet aspect suggère soit un stade immature de développement, soit la présence possible d'une contamination. Le mycélium (3) forme une colonie circulaire, compacte, d'un noir profond, à texture poudreuse. Ce profil est typique d'un *A. niger* bien sporulé. La pigmentation centrale très dense indique une phase avancée de sporulation. Le mycélium (4) montre une colonie noire, compacte et à surface irrégulière. Son apparence dense et sombre, avec des têtes conidiennes foncées et des conidiophores bien développés, reflète une sporulation avancée propre à *A. niger*. Le mycélium (5) se distingue par un aspect clair, une texture pâteuse et l'absence de pigmentation noire. Cela correspond à un stade précoce de croissance, avant l'apparition de la sporulation. Enfin, le mycélium (6) présente une zone brun jaunâtre, légèrement humide et floconneuse. Cette morphologie peut être le signe d'un début de sporulation ou d'une contamination. Il est fréquent qu'*A. niger* débute sous forme de colonies crème avant de noircir progressivement.



(1)

(2)

(3)

Figure 08 Les mycéliums de la souche 1 avant le séchage ;(1) mycélium de débris de bananes, (2) mycélium de poudre d'orange, (3) mycélium de débris d'artichaut.

Résultats et discussion

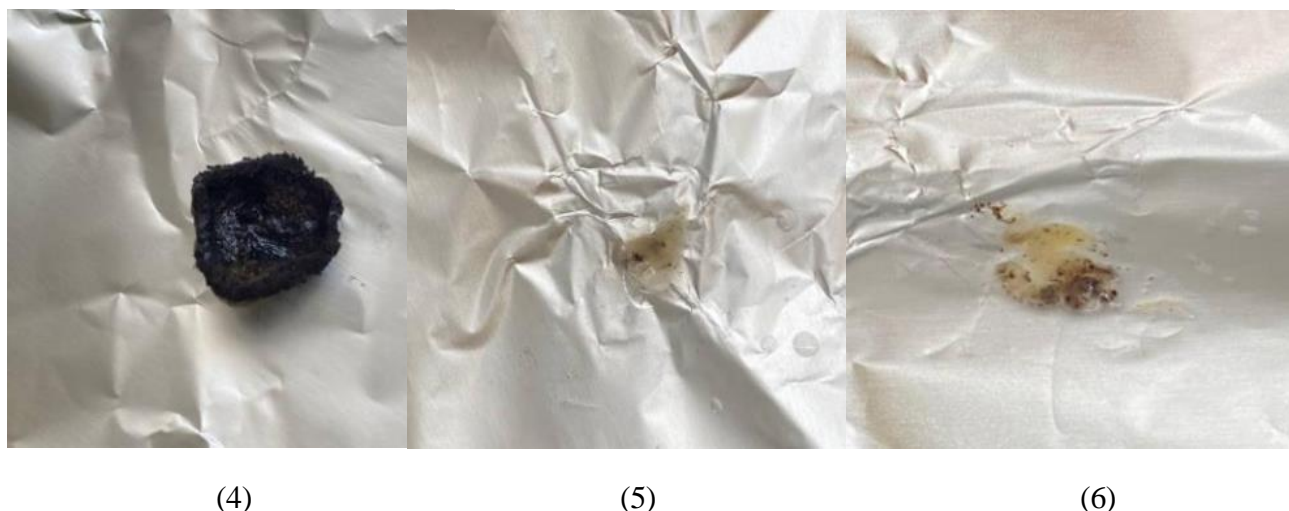


Figure 09. Les mycéliums de l'isolat 2 avant le séchage ;(4) mycélium de bananes, (5) mycélium de pectine et (6) mycélium d'amidon

La croissance d'*A. niger* est associée à la libération de CO₂, mise en évidence par l'observation visuelle de bulles gazeuses. Les données présentées dans le tableau 10 révèlent une émission de CO₂ plus importante pour les deux isolats, présence de la poudre de la peau d'orange, des feuilles d'artichaut et des pelures des carottes.

Tableau 10: Suivi de dégagement de CO₂ des deux isolats sur les déchets organiques

	Peau de banane (débris)	Peau des oranges (débris)	Peau des oranges (poudre)	Peau de la pomme de terre (débris)	Peau des bananes (poudre)	Feuilles d'artichaut (poudre)	Feuilles d'artichaut (débris)	Peau de la pomme de terre (poudre)	Pelures de citrouille	Pelures des carottes
Isolat 1	+	+	++	+	+	++	+		+	++
Isolat 2	+	+	++	+	+	++	+	++	+	++

(-) : Absence de dégagement de CO₂ (+)

: présence de dégagement de CO₂

(++) : Présence avec grand dégagement de CO₂

La figure 10 : illustre le changement de la biomasse des deux souches, mesuré par la spectrophotométrie.

L'isolat 1 d'*A. niger* a mieux poussé que l'isolat 2. On constate que l'isolat 1 est capable de croître sur les débris de la peau de banane (2,59), de la peau de la pomme de terre (4,65) et de feuilles d'artichaut (1,41). Les débris sont riches en fibres alimentaires, donc l'isolat 1 a la capacité de dégrader la matière complexe de la paroi végétale des déchets organiques.

L'isolat 1 d'*A. niger* présente une meilleure croissance que l'isolat 2 sur

Résultats et discussion

tous les substrats, avec des densités optiques de 4,65 (pomme de terre), 2,59 (banane) et 1,41 (artichaut).

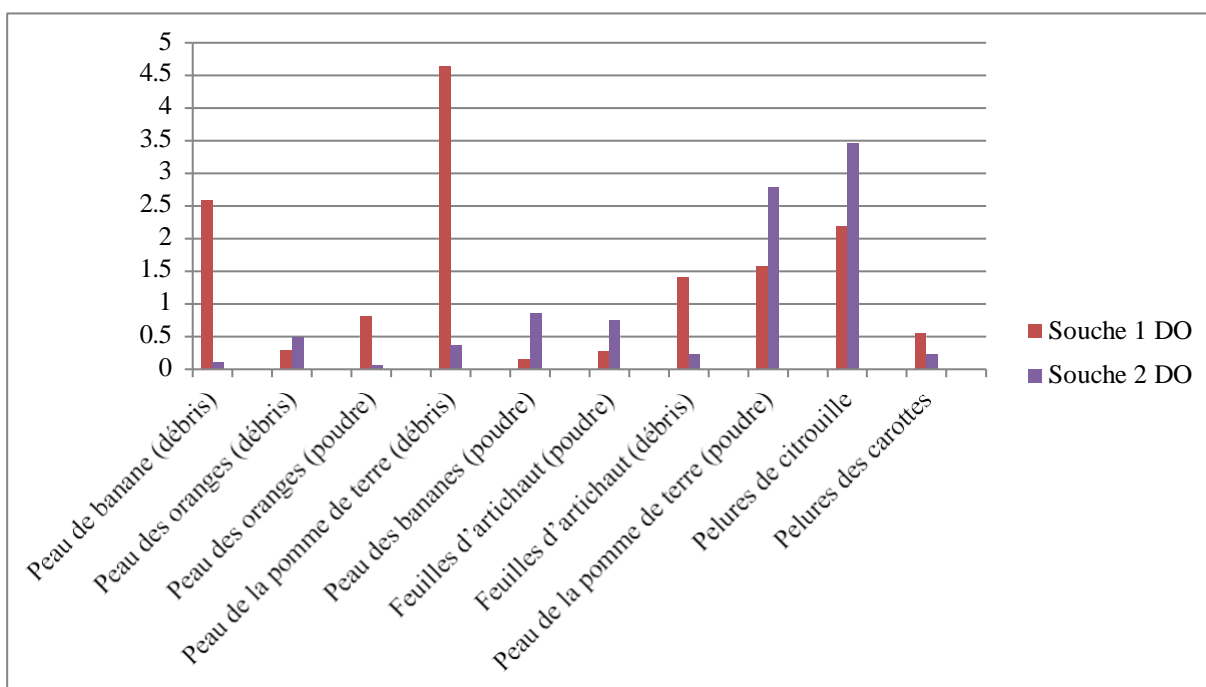


Figure 10. Comparaison entre les DO des deux isolats 1 et 2 sur les déchets organiques

La figure 11 illustre le changement du pH des deux isolats, mesuré par le pH mètre.

L'isolat 2 d'*A. niger* a mieux produit des acides organiques que l'isolat 1.

On constate que la souche 2 est capable de produire des acides organiques sur les pelures des carottes (2), sur la poudre des pommes de terre (2) et des feuilles d'artichaut (2) peau de banane (3,15).

Les résultats montrent que la souche 1 d'*A. niger* a mieux poussé sur des substrats riches en fibres comme la peau de pomme de terre, la banane et les feuilles d'artichaut.

En revanche, l'isolat 2 a produit davantage d'acides organiques, notamment sur les pelures de carottes, la poudre de pommes de terre et les feuilles d'artichaut. Cette production est confirmée par une baisse plus marquée du pH.

Résultats et discussion

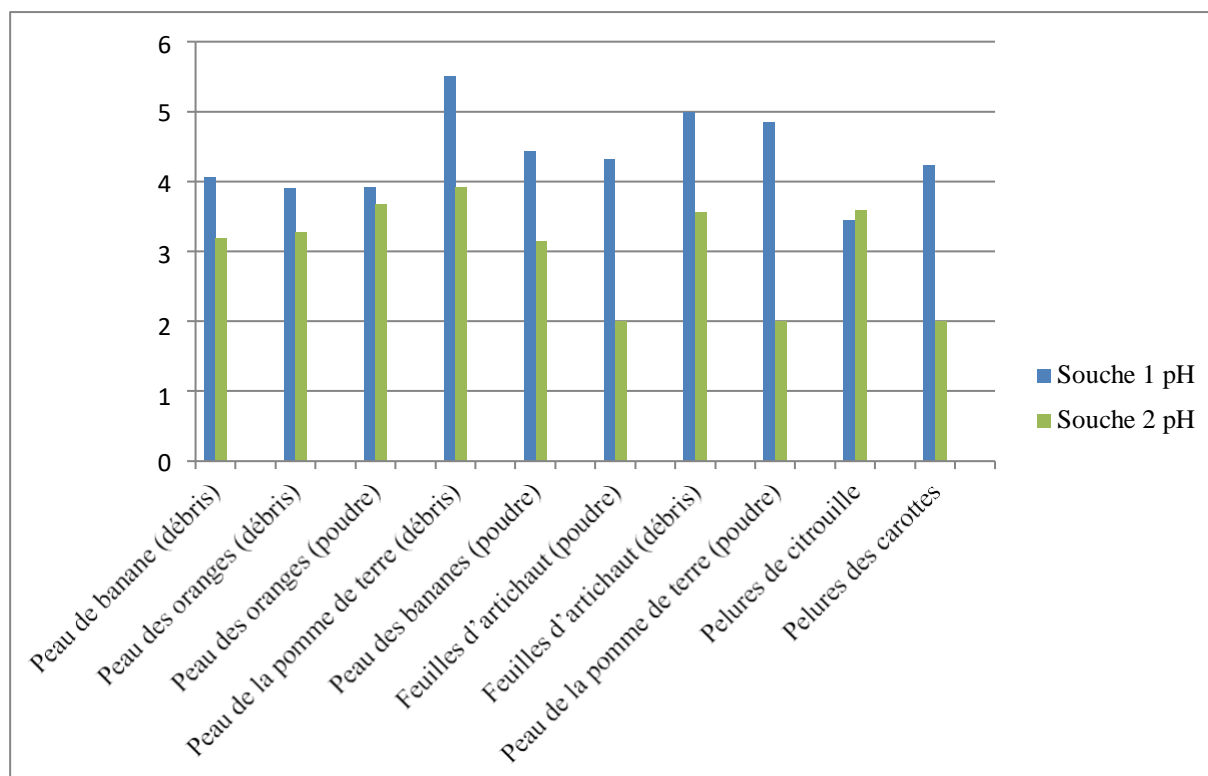


Figure 11. Comparaison entre le pH des deux isolats 1 et 2 sur les déchets organiques





3.2 L' effet de sources de carbone sur la biomasse des 2 isolats

Pour mieux comprendre la capacité d'*A. niger* à se développer sur diverses sources de carbone des déchets organiques riches en carbone tels que le glucose, l'amidon, le saccharose et la pectine ont été testés.

Les résultats présentés dans le tableau 12 révèlent une divergence significative entre les deux isolats quant à leur utilisation des sources de carbone. L'isolat 01 utilise efficacement l'amidon (dépôt blanc laiteux, hydrolyse active), le glucose et saccharose. Tandis que, l'isolat 02 montre une utilisation modérée de la pectine (dépôt brun clair) et de l'amidon (dépôt blanc léger), bien qu'elle soit également efficace sur les sucres simples.


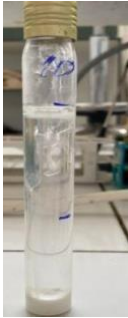
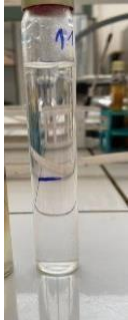

Résultats et discussion

Tableau 11: Observation macroscopique des changements organoleptiques de l'isoalt 1 d'*A. niger* sur les sources de carbone.

Source de carbone	Observation	Image
Pectine	Liquide très clair, peu de dépôt ,Mycélium Visuel	
Amidon	Décantation de l'amidon, mycélium visuel	
Sucre	Transparent, très peude Changement	
Glucose	Clair transparent, très peu de Changement	

Résultats et discussion

Tableau 12: Observation macroscopique des changements organoleptiques de l'isolat 2 d'*A. niger* sur les sources de carbone.

Source de carbone	Observation	Image
Pectine	Liquide translucide, dépôt brun clair au fond, peu de mycélium	
Amidon	Liquide très clair, dépôt blanc léger, mycélium filamenteux discret	
Sucre	Transparent, aucun dépôt, aucun changement visible	
Glucose	Transparent, très faible mycélium en surface, aucun dépôt	

Résultats et discussion

La croissance d'*A. niger* s'accompagne de la production de CO₂, comme en témoigne l'observation visuelle de bulles d'air. Le tableau 13 indique que les deux souches dégagent davantage de CO₂ sur le glucose et le saccharose.

Tableau 13 : Suivi de dégagement de CO₂ des deux isolats sur les sources de carbone.

	Glucose	Saccharose	Amidon	Pectine
Isolat 1	++	++	+	+
Isolat 2	++	++	+	+

(-) => pas de dégagement de CO₂

(+) => dégagement de CO₂

(++) => un grand dégagement de CO₂

La figure 12 illustre le changement de la biomasse des deux isolats, mesuré par la spectrophotométrie.

L'isolat 2 d'*A. niger* a mieux poussée que l'isolat 1. On constate que l'isolat 2 est capable de croître en présence de glucose (0.02) d'amidon (0,21) et de pectine (0.132). Également, l'isolat 2 possède une activité enzymatique importante d'amylase. Tandis que, l'isolat 1 possède une bonne activité enzymatique de pectinase.

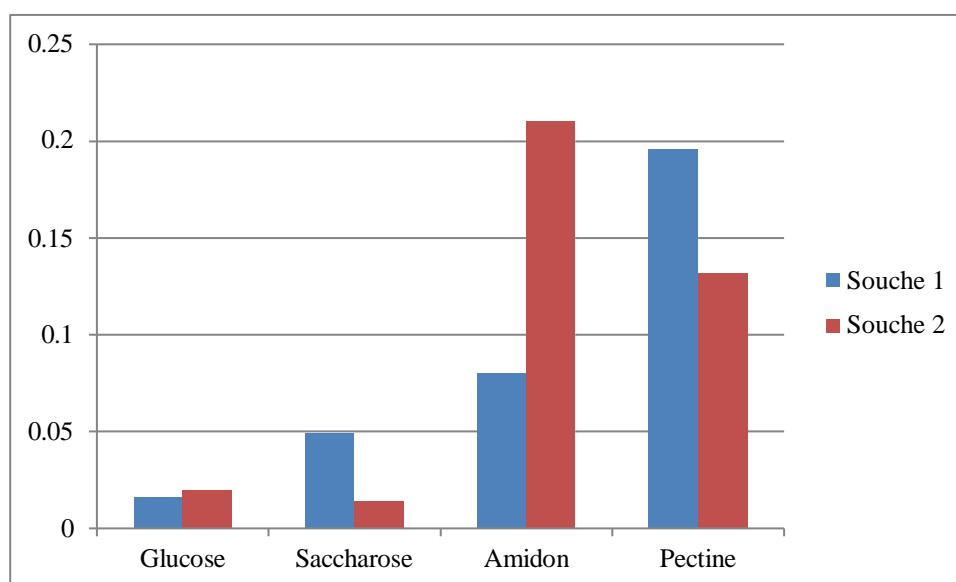


Figure 12. Comparaison entre les DO des deux isolats 1 et 2 sur les sources de carbone.

Résultats et discussion

La figure 13 illustre le changement du pH des deux isolats, mesuré par le pH mètre.

L'isolat 1 d'*A.niger* a mieux produit des acides organiques que l'isolat.

On constate que l'isolat 1 est capable de produire des acides organiques sur le glucose (4,74), sur le saccharose (4,10) , sur l'amidon (3,96) et sur la pectine (4,25).

L'isolat 1 d'*A. niger* a acidifié davantage le milieu, avec des pH plus bas sur le glucose (4,74), le saccharose (4,10), l'amidon (3,96) et la pectine (4,25), indiquant une production supérieure d'acide organique.

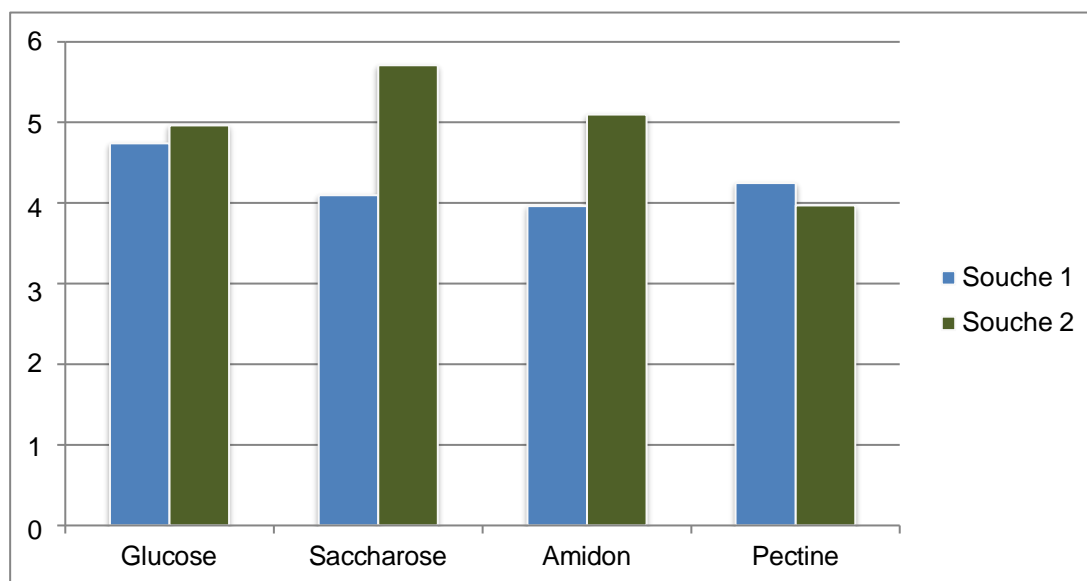


Figure13 : Comparaison entre le pH des deux isolats 1 et 2 sur les sources de carbone.

3.3 Criblage des déchets organique utilisant le modèle plackett-Burman

L'analyse des résultats d'une expérience de Plackett-burman (Tableau 14 et Tableau 15) se concentre sur l'identification des effets principaux de chaque variable sur la croissance des deux isolats.

L'isolat 1 présente une croissance idéale (5,98) sur un milieu riche en débris, Lors du criblage de l'ensemble des substrats avec l'isolat1, des résultats satisfaisants ont été obtenus. En revanche, lorsque seuls les substrats sélectionnés (carotte, citrouille et poudre de pomme de terre) ont été testés avec l'isolat 2, les performances observées se sont également révélées prometteuses.

Le criblage de divers déchets agroalimentaires avec l'isolat 1 d'*A. niger* a permis d'obtenir des résultats globalement satisfaisants, soulignant la capacité de cet isolat à valoriser une large gamme de substrats. En revanche, l'isolat 2, bien que testée

Résultats et discussion

sur un éventail plus restreint de substrats (carotte, citrouille et poudre de pomme de terre), a également montré un bon potentiel de croissance, ce qui indique une affinité sélective pour certains résidus riches en glucides ou en fibres fermentescibles.

Tableau 14: Résultats de la plackett-Burman de l'isolat 1

	Débris	Poudre	Poudre	Poudre	Carotte	Citrouille	Y (DO)
1	–	+	+	–	+	–	2,75
2	–	–	+	+	+	–	1,79
3	–	+	–	–	–	+	0,75
4	+	+	–	+	+	–	0,86
5	–	–	–	–	–	–	0
6	+	–	+	–	–	–	0
7	–	–	–	+	+	+	1,37
8	–	+	+	+	–	+	1,356
9	+	–	+	+	–	+	1,392
10	+	+	+	–	+	+	5,98
11	+	–	–	–	+	+	0,94
12	+	+	–	+	–	–	1,13

Tableau 15 : Résultats de la plackett-Burman de l'isolat 2

	Débris	Poudre	Poudre	Poudre	Carotte	Citrouille	Y (DO)
1	–	+	+	–	+	–	2,64
2	–	–	+	+	+	–	2,02
3	–	+	–	–	–	+	0,54
4	+	+	–	+	+	–	2,29
5	–	–	–	–	–	–	0
6	+	–	+	–	–	–	0,4
7	–	–	–	+	+	+	6,56
8	–	+	+	+	–	+	1,525
9	+	–	+	+	–	+	0,136
10	+	+	+	–	+	+	1,708
11	+	–	–	–	+	+	0,163
12	+	+	–	+	–	–	0,166

Résultats et discussion

- Observation macroscopique des changements organoleptiques de l'isolat 1 et 2 d'*A. niger* sur les déchets organiques après plackett-Burman

La figure 14 Présente les changements organoleptiques des deux isolats, démontrant leur capacité à se développer sur les déchets organiques après 7 jours d'incubation à 37°C.

L'isolat 01, Dans le tube 04, on observe un liquide jaune clair avec un mycélium dense, accompagné d'un dépôt brun épais au fond et un fort dégagement de CO₂. Le tube témoin (tube 05) présente un liquide transparent clair, sans présence visible de mycélium, et très peu de dépôt. Le tube 07 montre un liquide jaune trouble avec un mycélium bien développé. Le tube 08 contient un liquide également jaune trouble, avec une importante présence de mycélium et un dépôt brun. Dans le tube 11, le liquide est jaune clair, le mycélium est modérément présent et le dégagement de CO₂ est important. Enfin, le tube 12 renferme un liquide jaune-orangé, un mycélium léger, un dépôt brun uniforme peu mousseux, avec un dégagement marqué de CO₂.

Le tube 01 contient un liquide brun-jaune trouble avec la présence de mycélium et un dépôt dense au fond. Le tube 04 montre un liquide marron foncé avec un mycélium très dense. Le tube témoin (tube 05) présente un liquide clair et transparent, sans mycélium, avec très peu de dépôt. Dans le tube 06, le liquide est jaune clair, le mycélium est légèrement présent avec un dépôt modéré, et un grand dégagement de CO₂ est observé. Le tube 09 montre un liquide jaune-brun trouble avec présence de mycélium. Le tube 11 contient un liquide jaune trouble, sans mycélium, mais avec un dégagement important de CO₂. Enfin, le tube 12 présente un liquide jaune-orangé clair, un mycélium léger et un fort dégagement de CO₂.

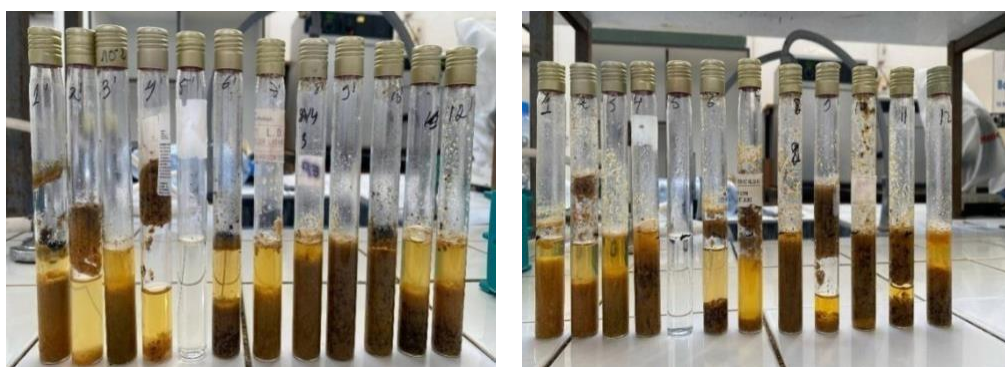


Figure 14: Observation macroscopique des changements organoleptiques de l'isolat 1 et 2 d'*A. niger* sur les déchets organiques après plackett-Burman.

Résultats et discussion

- Mesure la densité optique et le pH, présence de gaz (CO₂)

Tableau 16 : Suivi de dégagement de CO₂ des deux isolats sur les déchets

	Tube 01	Tube 02	Tube 03	Tube 04	Tube 05	Tube 06	Tube 07	Tube 08	Tube 09	Tube 10	Tube 11	Tube 12
isolat 1	-	+	-	++	-	-	-	+	+	-	++	++
isolat 2	+	+	-	+	-	++	+	-	++	-	++	++

(-) : Absence de dégagement de CO₂

(+): Présence de dégagement de CO₂

(++) :Grand dégagement de CO₂

Le tableau 17 montre que l'isolat 1 présente une bonne répartition des valeurs de pH dans la plage optimale, avec une moyenne de 4.12 ± 0.69 , ce qui reflète une certaine stabilité des conditions de fermentation. En revanche, l'isolat 2 affiche une moyenne de pH de 4.04 ± 0.82 .

Tableau 17: Suivi le pH des deux isolats sur les déchets des manipulations de plackett- Burman

	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5	Tube 6	Tube 7	Tube 8	Tube 10	Tube 11	Tube 12	Tube 13
Souche 1	4,6	4,35	2	3,42	5,62	3,33	4,43	4,17	4,49	4,19	3,11	3,59
Souche 2	2	3,29	3,38	2	5,93	3,53	4,05	4,51	3,58	4,68	2	3,45

Résultats et discussion

4.L' effet d'extrait de levure sur la croissance d'*A.niger*.

- Observation macroscopique des deux isolats d'*A. niger*

Les observations macroscopiques réalisées sur les tubes incubés avec deux isolat différentes

d'*A. niger*, pour trois concentrations en levure (5 %, 10 % et 15 % w/v).

L'isolat 1 représentée dans la figure 15 à 5 % un sédiment brun épais se forme au fond du tube, avec un mélange globalement trouble. À 10 %, le sédiment devient plus prononcé et présente une teinte orangée. La concentration de 15 % montre un mélange très épais, accompagné d'un sédiment orange bien marqué.

L'isolat 2 représentée dans la figure 15 à 5 %, on observe une séparation nette entre une couche granulaire jaunâtre en surface et un sédiment orange-brun au fond. À 10 %, cette stratification est toujours présente, mais la couche supérieure devient plus développée. À 15 %, le mélange est dense, avec une croissance jaune importante sur les parois du tube, témoignant d'une forte activité biologique.

Isolat 01 : Une production notable de CO₂ a été observée à 5 % (DO : 0,456) et 10 % (DO :

0,501)

Isolat 02 : Un dégagement modéré a été noté à 5 % (DO : 0,496) et 10 % (DO : 0,505).

Pour les deux isolats, la production maximale a été atteinte à 15 % (DO : 0,843), indiquant une activité fermentaire optimale.

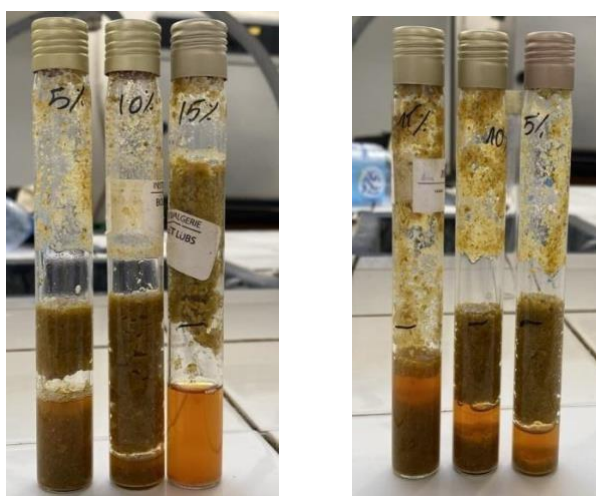


Figure 15 : l'effet de levure sur les déchets de citrouille des deux isolats (isolat 1) à droite et (isolat 02) à gauche.

Résultats et discussion

4. Discussion

Les déchets domestiques représentent des substrats précieux pour la production des produits à haute valeur ajoutée. Pendant le mois de ramadan, des quantités importantes de déchets sont générées. Ces déchets sont principalement composés de polymère de glucose, d'amidon, de fructose et de pectine, constituant une source nutritionnelle riche favorisant la croissance microbienne.

Dans cette étude, deux isolats d'*A. niger* ont la capacité de croître sur l'ensemble des déchets testés, incluant les pelures d'orange, de pomme de terre, des carottes, de citrouille et de banane sans traitement chimique ou biologique préalable. Ces observations concordent avec les résultats obtenus par Tian et Yuan en 2016 sur la production de phytase par *A. ficuum*. De plus, des études antérieures menées par Kareem et Rahman, 2013 et Kamal et al., 2019 ont également mis en évidence la capacité d'*A. niger* à se développer sur la pelure de banane.

Par ailleurs, les deux isolats d'*A. niger* ont la capacité de croître sur le glucose comme source de carbone préférable pour la croissance fongique (Zheng et al., 2023). En outre, ces isolats se sont également développés sur le saccharose, l'amidon et la pectine ces résultats ont accord avec les observations de Pedrolli et al., 2008 concernant la capacité d'*A. giganteus* à métaboliser la pectine d'agrumes.

Enfin, l'enrichissement des pelures de citrouille par un extrait de levure a amélioré la croissance fongique. Ces résultats sont en corrélation avec ceux reportés par Sarkar et al., 2017

Conclusion

Conclusion

Les résultats obtenus au cours de cette étude ont permis de démontrer que les déchets organiques issus du mois de Ramadan, bien qu'habituellement considérés comme inutilisables, présentent un potentiel biotechnologique considérable en tant que substrats pour la culture fongique. La croissance des deux isolats d'*A. niger* sur ces substrats a montré des différences significatives, avec une supériorité notable de la souche 2 qui, avec un mélange simple de trois déchets seulement (carotte, citrouille et pomme de terre), a atteint une densité optique (DO) de 6,56, accompagnée d'une acidification marquée du milieu ($\text{pH} \approx 2$) et d'un dégagement de CO_2 important. Ces résultats suggèrent que cet isolat possède une aptitude métabolique plus ciblée et plus efficace, ce qui la rend particulièrement intéressante pour des procédés de valorisation à faibles coûts. En comparaison, l'isolat 1, bien qu'utilisant un mélange plus complexe, n'a atteint qu'un DO de 5,98, indiquant une efficacité moindre dans les mêmes conditions. Au-delà des performances mesurées, ce travail met en lumière l'importance d'une approche rationnelle et contextuelle de la valorisation des bio-déchets. Il ouvre également la voie à plusieurs perspectives, notamment l'élargissement de la gamme de résidus testés à d'autres déchets agroalimentaires, la recherche d'alternatives économiques à l'extrait de levure utilisé comme source azotée, et l'exploration d'une diversité fongique plus large incluant d'autres isolats ou espèces à fort potentiel enzymatique. L'intégration future de procédés plus avancés comme la fermentation en milieu solide ou l'optimisation par plans d'expériences permettrait d'augmenter le rendement global, tout en renforçant la durabilité et l'applicabilité de ces approches dans des contextes locaux. Ainsi, notre travail constitue une contribution modeste mais significative à la réflexion sur la gestion des déchets et leur revalorisation dans des systèmes biologiques innovants, respectueux de l'environnement et économiquement viables.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abu Yazid, N., Barrena, R., Komilis, D., & Sánchez, A. (2017). Solid-state fermentation as a novel paradigm for organic waste valorization: a review. *Sustainability*, 9(2), 224.
- Ashok, A., & Kumar, D. S. (2017). Different methodologies for sustainability of optimization techniques used in submerged and solid state fermentation. *3 Biotech*, 7, 1-12.
- Banu, J. R., Merrylin, J., Usman, T. M., Kannah, R. Y., Gunasekaran, M., Kim, S. H., & Kumar, G. (2020). Impact of pretreatment on food waste for biohydrogen production : a review. *International Journal of Hydrogubmerged and solid state fermentation. 3 Biotech*, 7, 1- 12.
- Banu, J. R., Merrylin, J., Usman, T. M., Kannah, R. Y., Gunasekaran, M., Kim, S. H., & Kumar, G. (2020). Impact of pretreatment on food waste for biohydrogen production: a review. *International Journal of Hydrogen Energy*, 45(36), 18211-18225.
- Baruah, R., & Deka, S. (2018). Citric acid production by *Aspergillus niger* using solid-state fermentation of agricultural processing coproducts. *Applied Biosciences*, 2(1), 1–13.
- Becker, M. Y., Kohlheb, N., Hunger, S., Eschrich, S., Müller, R., & Aurich, A. (2020). Early-stage sustainability assessment of biotechnological processes: A case study of citric acid production. *Engineering in Life Sciences*, 20(3-4), 90-103.
- Behera, B. C., Mishra, R., & Mohapatra, S. (2021). Microbial citric acid: Production, properties, application, and future perspectives. *Food Frontiers*, 2(1), 62-76.
- Bellaouchi, R., Hasnaoui, I., Idrissi Yahyaoui, M., Bentouhami, N., Hasnaoui, A., Taibi, M., & Asehrou, A. (2024). Improving dietary citric acid production by the wild-type *Aspergillus niger* ASP26 strain isolated from date by-product. *Food Science & Nutrition*, 12(6), 4248-4258.
- Börekçi, B. S., Kaban, G., & Kaya, M. (2021, April 22). Citric acid production of yeasts : An overview. *The EuroBiotech Journal*, 5(2), 79–91

Références bibliographiques

- Cairns, T. C., Nai, C., & Meyer, V. (2018). How a *fungus* shapes biotechnology: 100 years of *Aspergillus niger* research. *Fungal biology and biotechnology*, 5, 1-14.
- Carsanba, E., Papanikolaou, S., Fickers, P., & Erten, H. (2019). Screening various *Yarrowia lipolytica* strains for citric acid production. *Yeast*, 36(5), 319-327.
- Cavallo, E., Charreau, H., Cerrutti, P., & Foresti, M. L. (2017). *Yarrowia lipolytica*: a model yeast for citric acid production. *FEMS yeast research*, 17(8), fox084.
- Chavan, S., Yadav, B., Atmakuri, A., Tyagi, R. D., Wong, J. W., & Drogui, P. (2022). Bioconversion of organic wastes into value-added products: A review. *Bioresource Technology*, 344, 126398.
- Chergui, D., Akretche-Kelfat, S., Lamoudi, L., Al-Rshaidat, M., Boudjelal, F., & Ait-Amar, H. (2021). Optimization of citric acid production by *Aspergillus niger* using two downgraded Algerian date varieties. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(12), 7134-7141.
- Chilakamarry, C. R., Sakinah, A. M., Zularisam, A. W., Sirohi, R., Khilji, I. A., Ahmad, N., & Pandey, A. (2022). Advances in solid-state fermentation for bioconversion of agricultural wastes to value-added products: Opportunities and challenges. *Bioresource technology*, 343, 126065.
- Ciriminna, R., Meneguzzo, F., Delisi, R., & Pagliaro, M. (2017). Citric acid: Emerging applications of key biotechnology industrial product. *Chemistry Central Journal*, 11, 1–9.
- Deme, G. D., Asfaw, B. T., & Gari, M. T. (2020). Fabrication of Citric Acid Using Molasses by *Aspergillus niger*. *Journal of Modern Chemistry & Chemical Technology*, 11(1), 37-58.

Références bibliographiques

- Dhillon, G. S., Brar, S. K., Verma, M., & Tyagi, R. D. (2011). Utilization of different agro-industrial wastes for sustainable bioproduction of citric acid by *Aspergillus niger*. *Biochemical Engineering Journal*, 54(2), 83-92.
- DiCarlo, J. E., Norville, J. E., Mali, P., Rios, X., Aach, J., & Church, G. M. (2013). Genome engineering in *Saccharomyces cerevisiae* using CRISPR-Cas systems. *Nucleic acids research*, 41(7), 4336-4343.
- Egbe, N. E., Ihediwa, L. I., Abdulsalami, M. S., & Adebayo, A. (2022). Citric acid production from agricultural wastes using *Aspergillus niger* isolated from citrus peels. *Journal of Applied Sciences & Environmental Management*, 26(9), 1531–1536.
- Ewing, T. A., Nouse, N., van Lint, M., van Haveren, J., Hugenholtz, J., & van Es, D. S. (2022). Fermentation for the production of biobased chemicals in a circular economy: a perspective for the period 2022–2050. *Green Chemistry*, 24(17), 6373-6405.
- Fuller, K. K., Chen, S., Loros, J. J., & Dunlap, J. C. (2015). Development of the CRISPR/Cas9 system for targeted gene disruption in *Aspergillus fumigatus*. *Eukaryotic cell*, 14(11), 1073-1080
- Fernandes, F. A., Heleno, S. A., Pinela, J., Carocho, M., Prieto, M. A., Ferreira, I. C., & Barros, L. (2022). Recovery of citric acid from citrus peels: ultrasound-assisted extraction optimized by response surface methodology. *Chemosensors*, 10(7), 257.
- Gallego-García, M., Moreno, A. D., Manzanares, P., Negro, M. J., & Duque, A. (2023). Recent advances on physical technologies for the pretreatment of food waste and lignocellulosic residues. *Bioresource technology*, 369, 128397.
- Jin, S., Sun, F., Hu, Z., Liu, L., Li, J., Du, G., & Chen, J. (2021). Improving *Aspergillus niger* seed preparation and citric acid production by morphology controlling-based semicontinuous cultivation. *Biochemical Engineering Journal*, 174, 108102
- Kamal, M. M., Ali, M. R., Shishir, M. R. I., Saifullah, M., Haque, M. R., & Mondal, S. C. (2019). Optimization of process parameters for improved production of biomass protein from *Aspergillus niger* using banana peel as a substrate. *Food science and biotechnology*, 28, 1693-1702.
- Kareem, S. O., & Rahman, R. A. (2013). Utilization of banana peels for citric acid production by *Aspergillus niger*. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 4(4), 384-387.

Références bibliographiques

- Kamzolova, S. V. (2023). A Review on citric acid production by *Yarrowia lipolytica* yeast: Past and present challenges and developments. *Processes*, 11(12), 3435.
- Książek, E. E., Janczar-Smuga, M., Pietkiewicz, J. J., & Walaszczyk, E. (2023). Optimization of Medium Constituents for the Production of Citric Acid from Waste Glycerol Using the Central Composite Rotatable Design of Experiments. *Molecules*, 28(7), 3268.
- Kumar, M. S., et al. (2021). Citric acid fermentation by *Aspergillus niger*: an overview. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 14(2), 633–638.
- Latif, A., Hassan, N., Ali, H., Niazi, M. B. K., Jahan, Z., Ghuman, I. L., & Saqib, A. (2025). An overview of key industrial product citric acid production by *Aspergillus niger* and its application. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, kuaf007.
- Liu, R., Chen, L., Jiang, Y., Zhou, Z., & Zou, G. (2015). Efficient genome editing in filamentous fungus *Trichoderma reesei* using the CRISPR/Cas9 system. *Cell discovery*, 1(1), 1-11.
- Lizundia, E., Luzi, F., & Puglia, D. (2022). Organic waste valorisation towards circular and sustainable biocomposites. *Green Chemistry*, 24(14), 5429-5459.
- Lu, Y., Zheng, X., Wang, Y., Zhang, L., Wang, L., Lei, Y., Zhang, T., Zheng, P., & Sun, J. (2022). Evaluation of *Aspergillus niger* six constitutive strong promoters by fluorescent-auxotrophic selection coupled with flow cytometry: A case for citric acid production. *Journal of Fungi*, 8(6), 568..
- Matsu-Ura, T., Baek, M., Kwon, J., & Hong, C. (2015). Efficient gene editing in *Neurospora crassa* with CRISPR technology. *Fungal biology and biotechnology*, 2, 1-7.
- Nath, P., Singh, S., Kumar, S., & Verma, A. (2024). Recent advances in production of sustainable and biodegradable polymers from agro-food waste: Applications in tissue engineering and regenerative medicines. *International Journal of Biological Macromolecules*, 259, 1356–1372.
- Nødvig, C. S., Nielsen, J. B., Kogle, M. E., & Mortensen, U. H. (2015). A CRISPR-Cas9 system for genetic engineering of filamentous fungi. *PloS one*, 10(7), e0133085.
- Ozdal M., Kurbanoglu E. B. (2019). Citric acid production by *Aspergillus niger* from agro-industrial by-products: Molasses and chicken feather peptone. *Waste and Biomass Valorization*, 10(3), 631–640.

Références bibliographiques

- Pedrolli, D. B., Gomes, E., Monti, R., & Carmona, E. C. (2008). Studies on productivity and characterization of polygalacturonase from *Aspergillus giganteus* submerged culture using citrus pectin and orange waste. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 144, 191-200.
- Report: Citric Acid Market Size, *Growth & Demand Report by 2033*
<https://straitsresearch.com/report/citric-acid>. Consulté le 23/05/2025.
- Saha, R., & Saha, S. (2016). Citric acid production by *Aspergillus niger* using solid-state fermentation of agricultural processing coproducts. *Applied Biosciences*, 2(1), 1–13.
- Salomi, V., Alfaris, A. A., Saranraj, P., Swetha, M. S., & Gayathri, K. (2023). Extraction of fungal pigment melanin from *Aspergillus niger* and analysis of its antimicrobial activity. *European Chemical Bulletin*, 12(11), 431-438.
- Sarkar, D. (2017). Optimization of citric acid production from *Aspergillus niger* using pineapple waste as feedstock in submerged fermentation. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 6(17), 810–818.
- Sarkari, P., Marx, H., Blumhoff, M. L., Mattanovich, D., Sauer, M., & Steiger, M. G. (2017). An efficient tool for metabolic pathway construction and gene integration for *Aspergillus niger*. *Bioresource technology*, 245, 1327-1333
- Sarker, A., Ahmmed, R., Ahsan, S. M., Rana, J., Ghosh, M. K., & Nandi, R. (2024). A comprehensive review of food waste valorization for the sustainable management of global food waste. *Sustainable Food Technology*, 2(1), 48-69..
- Show, P. L., Oladele, K. O., Siew, Q. Y., Aziz Zakry, F. A., Lan, J. C. W., & Ling, T. C. (2015). Overview of citric acid production from *Aspergillus niger*. *Frontiers in life science*, 8(3), 271-283.
- Siagian, A. A., Manurung, A., & Martgrita, M. M. (2023). Scale-up of citric acid production by utilizing rice husk waste and purification using ion exchange chromatography. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 1187, No. 1, p. 012008). IOP Publishing.
- Siagian, A. E., Siregar, F. B., & Sumarsih, T. (2023). Citric acid production from industrial fruit waste by *Aspergillus niger* in a solid-state fermentation process. *Biotechnology for Biofuels*, 16(4), 108-11
- Song, R., Zhai, Q., Sun, L., Huang, E., Zhang, Y., Zhu, Y., ... & Lu, H. (2019). CRISPR/Cas9 genome editing technology in filamentous fungi: progress and perspective. *Applied microbiology and biotechnology*, 103, 6919-6932.
- Sun, W., Yu, Y., Chen, J., Yu, B., Chen, T., Ying, H., ... & Chen, Y. (2021). Light

Références bibliographiques

- signaling regulates *Aspergillus niger* biofilm formation by affecting melanin and extracellular polysaccharide biosynthesis. *Mbio*, 12(1), 10-1128.
- Tian, M., & Yuan, Q. (2016). Optimization of phytase production from potato waste using *Aspergillus ficuum*. *3 Biotech*, 6(2), 256.
 - Tong, Z., Zheng, X., Tong, Y., Shi, Y. C., & Sun, J. (2019). Systems metabolic engineering for citric acid production by *Aspergillus niger* in the post-genomic era. *Microbial cell factories*, 18, 1-15.
 - Wang, B., Chen, J., Li, H., Sun, F., Li, Y., & Shi, G. (2016). Efficient production of citric acid in segmented fermentation using *Aspergillus niger*. *RSC Advances*, 6(56), 51019–51027.
 - Wang, J., Cui, Z., Li, Y., Cao, L., & Lu, Z. (2020). Techno-economic analysis and environmental impact assessment of citric acid production through different recovery methods. *Journal of cleaner production*, 249, 119315.
 - West, T. P. (2023). Citric acid production by *Aspergillus niger* using solid-state fermentation of agricultural residues. *Applied Biosciences*, 31(4), 215–223.
 - West, T. P., & Wu, C. (2023). Valorization of food waste for citric acid production using *Aspergillus niger*: A novel approach to sustainable biomanufacturing. *Journal of Environmental and Sustainable Development*, 22(1), 1-14.
 - Woźniak, M., & Kowalska, M. (2025). Citric acid production by *Aspergillus niger* using solid-state fermentation of agricultural processing coproducts. *Applied Biosciences*, 2(1), 1–1
 - Xie, H., Ma, Q., & Wei, D. Z. (2018). Transcriptomic analysis of *Aspergillus niger* strains reveals the mechanism underlying high citric acid productivity. *Bioresources and Bioprocessing*, 5, 21.
 - Xu, X., Cao, R., Li, K., Wan, Q., Wu, G., Lin, Y., ... & Wen, G. (2022). The protective role and mechanism of melanin for *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* against chlorine-based disinfectants. *Water Research*, 223, 119039.
 - Yu, R., Liu, J., Wang, Y., Wang, H., & Zhang, H. (2021). *Aspergillus niger* as a secondary metabolite factory. *Frontiers in Chemistry*, 9, 701022.
 - Zhang, H., & Wu, J. (2023). Optimization of alkaline hydrogen peroxide pretreatment and enzymatic hydrolysis of wheat straw for enhancing sugar yields. *Fermentation*, 9(10), 871.

ANNEXES

Annexe 01

1. Matériel biologique utilisées Souche microbienne :

Aspergillus niger isolées de melon et écran de téléphone Substrats :

- Pelures de carotte, de citrouille, de banane, de pomme de terre, d'orange, et d'artichaut.

2. Matériel utilisées

Matériel et appareillage	Produits	Verreries
<ul style="list-style-type: none"> - Etuve - Spectrophotomètre <i>JENWAY 6300</i> - Balance analytique <i>Satorius</i> - Bain marie. - Autoclave. - pH-mètre <i>HANNA</i> <i>instruments</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Eau distillée. - Amidon. - Sucrose. - Pectine. - Glucose. 	<ul style="list-style-type: none"> - Pipettes. - Béchers. - Tube à essai stériles. - Flacons stériles.

Annexe 02

Composition des milieux de culture

1. Composition du milieu *Potato Dextrose Agar* (PDA) (g/l)

Pomme de terre	200
Agar	20
Glucose	20

pH final = 5,6

Année universitaire : 2024-2025	Présenté par : * Redjimi Aya * Benboulakhras Ibtihel
Titre : Etude de l'effet des déchets organiques sur la biomasse d' <i>Aspergillus niger</i> et la production d'acide citrique	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Mycologie et Biotechnologie Fongique	
<p>Résumé</p> <p>L'étude a porté sur l'évaluation de six types de déchets organiques pour la croissance d'<i>Aspergillus niger</i> et la production d'acide citrique. Deux isolats distinctes ont été testées dans un protocole expérimental basé sur une incubation à 37°C pendant 7 jours. Les analyses ont été centrées sur trois paramètres principaux : la biomasse (DO à 650nm), le pH du milieu et le dégagement de CO₂. L'ajout de 15% d'extrait de levure a montré une amélioration significative de la croissance, en particulier sur la citrouille. L'isolat 1 a atteint un maximum de DO (5,98) sur un mélange complexe de six déchets (carotte, citrouille, pomme de terre, banane, orange, artichaut). En comparaison, l'isolat 2 a obtenu un DO (6,56) en présence de seulement trois substrats (carotte, citrouille, pomme de terre), démontrant ainsi une efficacité supérieure en termes de rendement biomasse-substrat. En ce qui concerne la production d'acide, mesurée indirectement via le pH et l'observation de dégagement gazeux, l'isolat 2 a montré une acidification plus marquée du milieu (pH ≈ 2), surtout sur les substrats à base de carotte, pomme de terre et artichaut. Ces résultats mettent en évidence que, malgré un éventail de substrats plus restreint, la souche 2 est plus efficiente, ce qui suggère des mécanismes enzymatiques plus ciblés pour certains types de fibres végétales.</p>	
Mots-clés: <i>Aspergillus niger</i> , biomasse, déchets organiques, acide citrique.	
Laboratoires de recherche: laboratoire 09 du département de microbiologie(U Constantine 1 Frères Mentouri).	
Président du jury : Dr. ZAAMOUCI A (MCB– Université Constantine1 Frères Mentouri.) Encadrant : Dr. DERABLI Bassema (MAB – Université Constantine1 Frères Mentouri.) Examineur(s) : Dr. MEDJEMADJ M (MCB– Université Constantine1 Frères Mentouri.)	