



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
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 : Ecologie Microbienne

Intitulé :

Traitement des grignons d'olive par les moisissures

Présenté et soutenu par : *Meziadi Oussama*

Le : 30/06/2020

Haddad Rayane

Jury d'évaluation :

Président du jury : *M^{me} MOUAS ThomaNardjes* (MCA - UFM Constantine).

Rapporteur : *M^{me} BOUCHERIT Zeyneb* (MAA - UFM Constantine).

Examineur : *M^{me} ABDELAZIZ Wided* (MCB - UFM Constantine).

Année universitaire
2019 - 2020

Remerciement

On remercie DIEU le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force et la volonté d'accomplir ce travail.

Nous tenons tous particulièrement à adresser nos remerciements les plus vifs au notre encadreur Madame BOUCHERIT Zeyneb pour sa disponibilité, son aide, son support, ces conseils et son sérieux dans le travail. Merci pour la correction et l'amélioration de la qualité de notre travail.

Notre grande gratitude va également aux membres du jury :

Madame MOUAS Thoma Nardjes (Maître de conférences A - UFM Constantine) pour avoir accepté de présider ce jury.

Et Madame ABDELAZIZ Wided (Maître de conférences B - UFM Constantine) d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Merci d'avoir accepté d'évaluer notre travail.

Dédicace

On dédie ce modeste travail et notre profonde gratitude à nos familles et nos amis.

Merci pour votre encouragement et votre soutien dans nos moments difficiles.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

INSTRUCTION	1
CHAPITRE 1 : LES MOISSURES.....	2
1. Définition	2
2. Caractéristique et morphologie des moisissures.....	2
3. Cycle de vie	2
4. Classification	3
4. 1. Les zygomycètes (Classe phycomycètes).....	4
4.2. Les Ascomycètes	4
4.3. Les Basidiomycètes (champignons communs).....	4
4.4. Les Deutéromycètes.....	4
5. Conditions de croissance	5
5. 1. Eléments nutritifs	5
5.2. Les facteurs physico-chimiques.....	5
5. 2. 1. La température.....	6
5. 2. 2. L'humidité et l'activité d'eau	6
5. 2. 3. Teneur en oxygène	6
5. 2. 4. pH.....	6
6. Intérêt des moisissures	6
6. 1. Secteur agroalimentaire	6
6. 2. Secteur médical et pharmaceutique	7
6. 3. Secteur environnementale.....	7

6. 3. 1. Les pesticides, insecticides.....	7
6. 3. 2. Les métaux lourds	7
6. 3. 3. Les biocarburants	8
6. 3. 4. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP).....	8
6. 3. 5. Sous-produits des industries agroalimentaires	8
CHAPITRE 2 : LES DECHETS OLEICOLES	10
1. Généralités sur les déchets oléicoles.....	10
2. Les principaux sous-produits des déchets oléicoles	10
2.1. Déchets liquides (margines).....	10
2.2. Déchets solides (grignons d'olive)	11
3. Les différents types de grignons d'olive	12
4. Caractéristiques microbiologiques.....	12
5. Caractéristiques physiques	12
6. Caractéristiques chimiques.....	13
6.1. Cellulose brute	14
6.2. Matières minérales (cendre).....	14
6.3. Matières grasses (lipides).....	14
6.4. Matières azotées totales	15
6.5. Polyphénols.....	15
7. Impacts environnementaux du grignon d'olive	17
8. Biodégradabilité du grignon d'olive	17
9. Valorisation du grignon d'olive.....	17
9.1. Extraction d'huile de grignon	17
9.2. Le compostage	18
9.3. Production de métabolites.....	18
CHAPITRE 3 : TRAITEMENT DES GRIGNONS D'OLIVES PAR LES	
MOISSISSURES.....	19

1. Les types de fermentation	19
1. 1. Fermentation liquide ou Submerged Fermentation (SmF)	19
1. 1. 1. Définition	19
1. 1. 2. Avantages	19
1. 1. 3. Inconvénients	19
1.2. La fermentation solide ou Solid-State Fermentation (SSF).....	19
1. 2. 1. Définition	19
1. 2. 2. Avantages	20
1. 2. 3. Inconvénients	20
2. Traitement des grignons en culture solide	21
3. La mycodégradation des grignons.	22

CONCLUSION	23
-------------------------	-----------

RESUMES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Liste des figures

Figure 1 : Structure de l'hyphe. (A) hyphe coénocytiques, (B) hyphe cloisonné.	2
Figure 2 : Reproduction d'une moisissure (a) Cycle asexué, (b) Cycle sexué.....	3
Figure 3 : Présentation générale des moisissures.	5

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition chimique générale des margines.....	11
Tableau 2 : Les différents composants du grignon d'olive	13
Tableau 3 : Composition chimique des différents types de grignons	13
Tableau 4 : Les composants minéraux des cendres ainsi que leurs teneurs respectives (%)	14
Tableau 5 : Composition moyenne en matière azotée totale des grignons d'olive bruts et épuisés selon plusieurs auteurs	15

Liste des abréviations

°C : degré Celsius

PH : potentiel d'Hydrogène

HR : l'humidité relative

HAP : hydrocarbures aromatiques polycycliques

% : pourcentage

Kg : kilogramme

G : gramme

Mg/g : milligramme par gramme

DBO : demande biochimique en oxygène

DCO : demande chimique en oxygène

kO : potassium

NaO : sodium

MgO : magnésium

CaO : calcium

Fe : fer

PO : phosphore

SO : soufre

Cu : cuivre

Zn : zinc

Mn : manganèse

C : carbone

FAO : Food Agricole Organisation

E : extrait

SmF : fermentation liquide submergée ou Submerged Fermentation

SSF : fermentation solide ou Solid State Fermentation

Introduction

La production d'huile d'olive a un impact vital sur le développement socioéconomique dans la plupart des pays méditerranéens avec 97.5% de la production d'huile d'olive. (Munir et al., 2016) L'Algérie fait partie de ces principaux pays, elle se positionne après l'Espagne, l'Italie, la Grèce et la Tunisie qui sont par ordre d'importance, les plus gros producteurs d'huile d'olive, avec un taux de production de 45 mille tonnes par an en comptant environ 1532 huileries (Tsagariki et al., 2007).

L'industrie oléicole génère en plus de l'huile d'olive deux autres sous-produits ; un rejet liquide connu sous le nom « margine » et un autre solide connu sous le nom « grignon ». La mise en décharge de ce type de déchets n'est pas autorisée par la législation Algérienne mais malgré les différentes voies de valorisations existantes, ces déchets oléicoles sont soit brûlés, soit rejetés dans l'environnement, sans traitement préalable réel. Dû à leur toxicité pour l'environnement, elles peuvent contaminer les sols, les nappes phréatiques et les cours d'eau (Rizoun, 2013).

Le grignon d'olive possède toutes les caractéristiques propices pour qu'il devienne, en subissant au préalable des traitements chimiques et thermiques, un matériau adsorbant utilisable dans divers domaines en raison de sa structure physique, de sa richesse en constituants carbonés (Benrachedi et al., 2001).

La bioconversion ou la biodégradation des déchets oléicoles, lorsqu'elle est possible est la conversion de la matière organique toxique (Polyphénols) en produits utilisables comme source d'énergie par des processus ou des agents biologiques, tels que certains champignons comme (*Aspergillus niger*, *Trichoderma spp* ...).

Dans ce cadre, cette étude théorique comporte trois parties :

- Le premier chapitre s'intéresse à donner des informations sur les moisissures, leur caractéristique morphologique, cycle de vie, classification et leur intérêt dans différents domaines y compris l'environnement.
- Le deuxième chapitre contient tout ce qui concerne les déchets oléicoles, les margines et les grignons, les différents types, caractéristiques microbiologiques, physiques, chimiques, impacts environnementaux et leur valorisation.
- Le troisième chapitre est consacré à étudier le traitement des grignons par les moisissures et leur biodégradation.

Revue
Bibliographique

I. Les moisissures

II. Les déchets oléicoles

III. Traitement des grignons d'olives
par les moisissures

Chapitre 1 : Les moisissures

1. Définition

Les moisissures sont des champignons pluricellulaires, microscopiques, ubiquistes à croissance filamenteuse et hétérotrophes. Certains vivent en symbiose avec des végétaux, d'autres sont des parasites des végétaux ou des animaux, d'autres encore sont des saprophytes qui se développent sur des déchets organiques ou contaminent les produits alimentaires ce qui provoque une croissance cotonneuse visible à l'œil nu (**Meyer et al., 2004**).

2. Caractéristique et morphologie des moisissures

Les moisissures se présentent sous forme d'un amas de filaments enchevêtrés et ramifiés dans tous les sens appelés hyphes, l'ensemble d'hyphes constitue le mycélium ou thalle qui représente l'appareil végétatif d'un mycète, d'où l'appellation de thallophytes des champignons. Les thalles filamenteux peuvent être siphonnés ou cloisonnés (figure 1). Les siphonnés sont des champignons inférieurs (zygomycètes), ils ne comportent pas de cloisons et se présentent en organismes coénocytiques. Les champignons supérieurs (septomycètes) ont des thalles cloisonnés (septé) par la septation transversale de leur paroi cellulaire, les septa (pluriel de septum) formés restent parfois en leur centre ce qui permet la circulation du flux cytoplasmique et même des noyaux entre les différents compartiments hyphaux (**Bousseboua, 2005**).

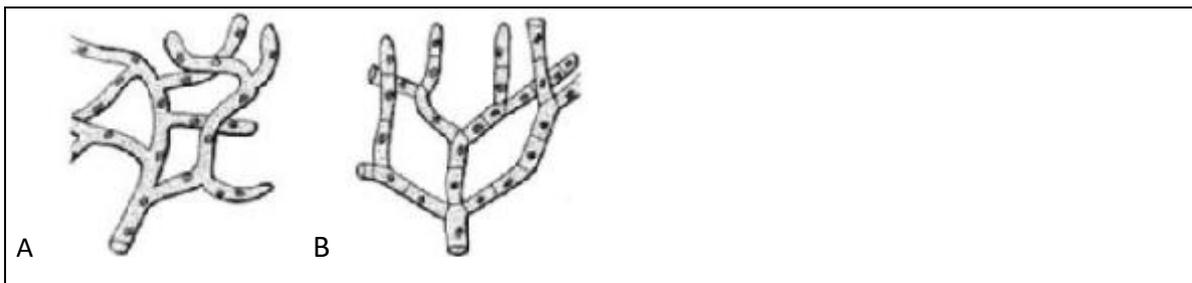


Figure 1 : Structure de l'hyphe. (A) hyphe coénocytiques, (B) hyphe cloisonnée (**Chabasse et al., 2002**).

3. Cycle de vie

Le développement des moisissures comprend deux phases : une phase végétative et une phase reproductive.

A. Cycle asexuée : Cette forme de reproduction est appelée la sporulation, La structure végétative ramifiée, le mycélium est obtenu à partir d'une spore par bourgeonnement est donne des hyphes (figure 2 a). La croissance hyphale est

strictement apicale, des ramifications latérales apparaissent à quelques dizaines ou centaines de micromètres de l'apex c'est le phénomène qui conduit à l'envahissement observé macroscopiquement.

B. Cycle sexué : La reproduction sexuée se base sur la fusion de deux gamètes haploïdes (n) donnant un zygote diploïde (2n). Une structure (+) à n chromosomes (anthéridie) rencontre une autre structure (-) (ascogone) qui s'apparient dans l'ascogone, la fusion des cytoplasmes donne naissance à un nouveau mycélium à 2n chromosomes (Figure 2 b) c'est la caryogamie.

Ensuite les noyaux diploïdes subissent une méiose et donnent naissance à 8 noyaux haploïdes qui se développent dans une ascospore donnant un asque à l'extrémité de l'hyphe, les ascospores germent ultérieurement pour donner un mycélium binucléé ou multi-nucléé et le cycle reprend (Meyer et al, 2004).

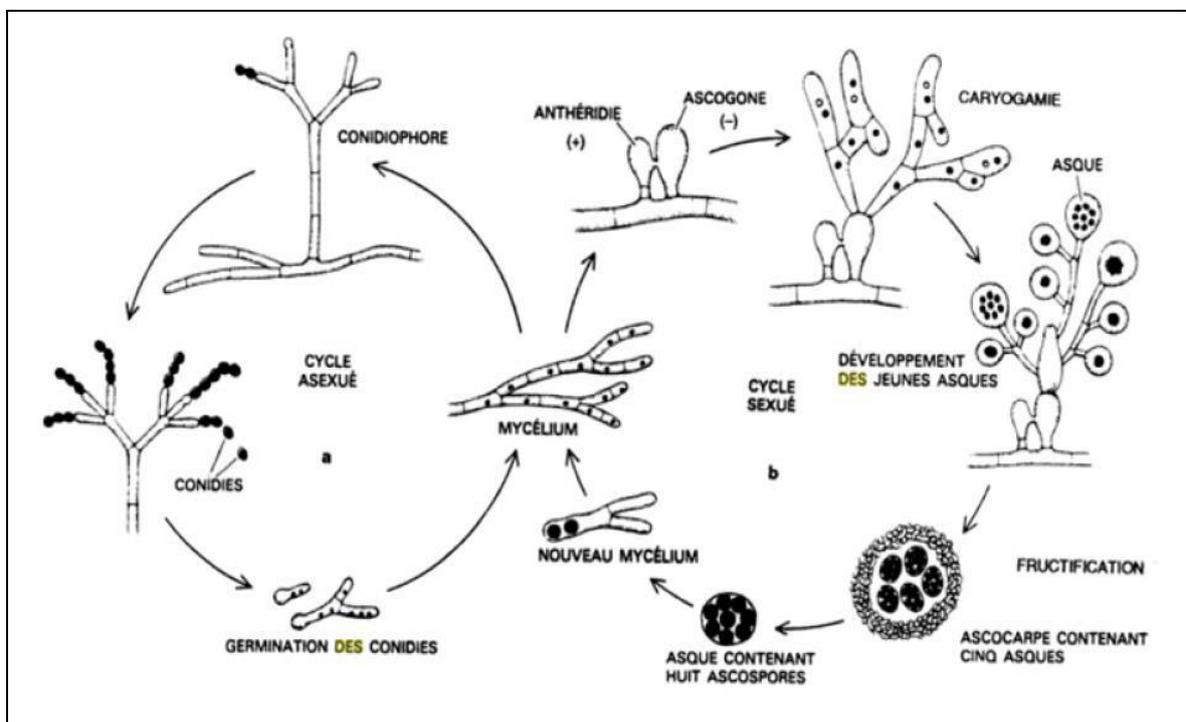


Figure 2 : Reproduction d'une moisissure (a) Cycle asexué, (b) Cycle sexué (M.A Bedrane)

4. Classification

La classification des moisissures, est basée sur le mode de reproduction sexuée autrement appelée « phase téléomorphe » et selon la morphologie. Ce critère définit quatre divisions des mycètes, les Zygomycotina, les Basidiomycotina et les Ascomycotina. Certaines moisissures sont le plus souvent ou exclusivement rencontrées à des stades de multiplication asexuée dits « anamorphes », et sont alors classées d'après le mode de

production des spores asexuées ou conidies dans la cinquième division des Deutéromycotina ou Fungiimperfecti (Figure3).

4. 1. Les zygomycètes (Classe phycomycètes)

La majorité de ces moisissures sont pluricellulaires, Elles possèdent un thalle mycélien non cloisonné dont leur mode de reproduction est asexuée par les spores ou sexuée par conjugaison, Elles se trouvent dans les milieux terrestres (le sol) ou sur la pourriture (plantes mortes) ex : *Rhizopus*.

4.2. Les Ascomycètes

Reconnu sous le nom des « champignons sacs » parce que plusieurs produisent des sacs qui contiennent des spores sexuelles, nommé « ascospores » ou peuvent produire aussi des spores asexuées. Ce sont des champignons pluricellulaires avec quelques espèces unicellulaires et la majorité sont des pathogènes, Elles se trouvent dans les milieux terrestres et aquatiques et caractérisées par un thalle mycélien cloisonné, ex : *Saccharomyces* (levure), *Morchella* (Morille).

4.3. Les Basidiomycètes (champignons communs)

Ces moisissures se trouvent beaucoup plus dans les milieux terrestres, se sont généralement pluricellulaires et pathogènes, Elles sont caractérisées par un thalle mycélien septé et un mode de reproduction sexuée par l'union des hyphes (basidiospores) ex : *Amanita*.

4.4. Les Deutéromycètes

Elles sont connues par le nom de moisissures imparfaites, caractérisées par un thalle mycélien cloisonné et un mode de reproduction sexuée inconnu ou asexuée connu par les spores, les Deutéromycètes sont des parasites qui causent des maladies et vivent surtout dans les milieux terrestres, ex : *Penicillium* (**Kailey, 2013**).

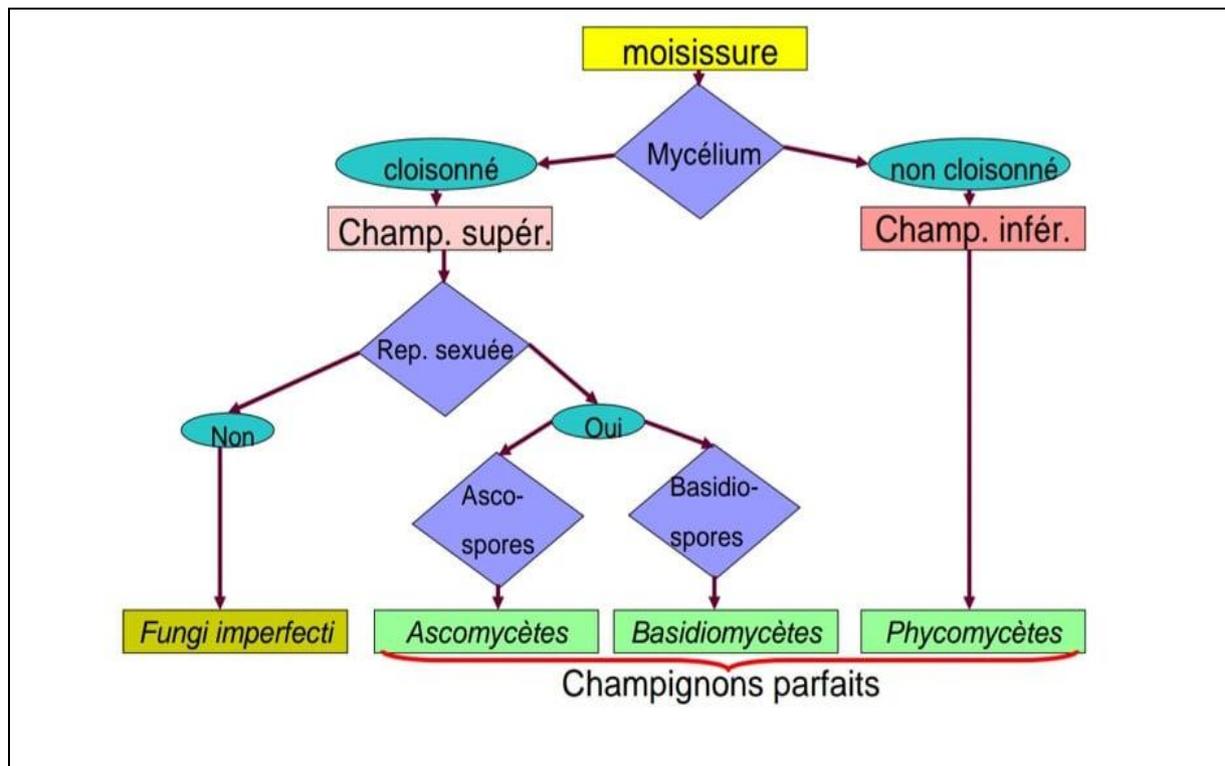


Figure 3 : Présentation générale des moisissures (A.Tantaoui Elaraki, 2014)

5. Conditions de croissance

Le développement et la survie des moisissures est dépendant de facteurs nutritifs et environnementaux, Les champignons filamenteux hétérotrophes synthétisent la matière organique à partir du gaz carbonique atmosphérique. Elles doivent donc puiser dans le milieu ambiant l'eau, les substances nutritives et les éléments minéraux nécessaires à la synthèse de leur propre matière. Elles les absorbent à travers la paroi de leur appareil végétatif. On dit qu'elles sont absorbotrophes.

5. 1. Eléments nutritifs

Les éléments nutritifs les plus importants sont le carbone et l'azote comme composés organiques, les ions minéraux comme le potassium, le phosphore, le magnésium, le fer ou le soufre. Les acides aminés peuvent pénétrer dans la cellule sans transformation, alors que des molécules complexes comme l'amidon, la cellulose ou les protéines nécessitent une digestion enzymatique préalable. Cette digestion s'effectue par production d'enzymes ou d'acides par les moisissures, permettant ainsi une altération du substrat (Aurélié, 2013).

5.2. Les facteurs physico-chimiques

Le développement des moisissures est également dépendant de l'environnement. Les facteurs physico-chimiques les plus importants sont : la température, l'humidité, l'activité d'eau, l'oxygène et le ph (Aurélié, 2013).

5. 2. 1. La température

Les champignons sont majoritairement mésophiles c'est-à-dire qu'elles se développent aux alentours de (20-25°C), mais il existe certaines moisissures dites thermophiles (35 à 40°C), thermotolérantes (15 à 40°C) ou psychrophiles (0 à 17°C). Il y'a aussi des champignons dits thermorésistants pouvant se développer jusqu'à 80°C comme *Aspergillus fischeri* (Conner et Beuchat., 1987).

5. 2. 2. L'humidité et l'activité d'eau

L'humidité relative (HR) représentant l'activité de l'eau, c'est-à-dire la disponibilité en eau d'un substrat. La majorité des moisissures se développent pour une activité de l'eau comprise entre 0,85 et 0,99 (Roquebert, 2002).

5. 2. 3. Teneur en 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* (Botton et al., 1999., Bourgeois et al., 1989).

5. 2. 4. pH

Le pH peut avoir une influence sur la croissance et le développement des moisissures. Elles peuvent se développer avec un pH compris entre 4,5 et 8, bien que le pH optimum soit compris entre 5,5 et 7,5.

6. Intérêt des moisissures

Les moisissures présentent un intérêt au sein de l'environnement humain, de manière bénéfique ou néfaste, avec des conséquences économiques. Ils sont impliqués dans différents domaines tels que l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et médicale, ainsi que dans le secteur environnemental.

6. 1. Secteur agroalimentaire

Au sein de l'industrie agroalimentaire, certaines moisissures sont utilisées pour la production de fromage comme le roquefort (*Penicillium roqueforti*) ou le camembert (*Penicillium camemberti*) (Cortes et Vapnik, 1995). Elles peuvent également servir à la synthèse des acides organiques comme l'acide citrique ou l'acide gluconique (*Aspergillus niger*). Ces deux types d'acides sont utilisés comme additifs alimentaires. (Schölkopf et al., 1999). Certaines moisissures sont utilisées pour la synthèse d'enzymes telles la maltase

et la dextrinase servant à transformer le maltose et l'amidon en alcool (*Rhizopus oryzae*) pour la fabrication de l'alcool de riz (Shapaval, 2013).

6. 2. Secteur médical et pharmaceutique

Au sein de l'industrie pharmaceutique, certaines moisissures sont utilisées pour la synthèse de médicaments, notamment d'antibiotiques telles la pénicilline (*Penicillium chrysogenum*) ou les céphalosporines (*Cephalosporium acremonium*) (Meyer et al., 2004).

Les moisissures ont servi à la fabrication d'autres médicaments comme les alcaloïdes de l'ergot de seigle, pour l'usage thérapeutique comme l'hémorragie utérines (méthylergométrine), la migraine (ergotamine), les perturbations fonctionnelles neuropsychiques et psychomotrices (dihydroergotamine)...etc., ainsi que les immunodépresseur tel que la cyclosporine A synthétisée par *Tolypocadium inflarum* qui a révolutionnée la transplantation des organes par le blocage de la synthèse de l'interleukine 2 inhibant le phénomène de rejet (Meyer et al., 2004).

6. 3. Secteur environnementale

La mycorémédiation qui est une forme de bioremédiation dans laquelle la technologie basée sur les champignons est utilisée pour décontaminer l'environnement ; Les champignons filamenteux se sont révélés d'être un moyen très efficace et respectueux de l'environnement pour aider à éliminer un large éventail de toxines des environnements endommagés (les métaux lourds, les polluants organiques persistants, les colorants textiles, les produits chimiques et les eaux usées de l'industrie, les carburants pétroliers, les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les pesticides et les herbicides)...etc (Ariji, 2018).

6. 3. 1. Les pesticides, insecticides

La dégradation des pesticides peut être coûteuse et difficile. Les champignons filamenteux comme *Fusarium oxysporum* (Caldeira, 2013) utilisent pour la dégradation de ces substances des enzymes ligninolytiques extracellulaires comme la laccase et la peroxydase de manganèse qui sont capables de dégrader une grande quantité de ces composants (Mougin, 1996).

6. 3. 2. Les métaux lourds

Les champignons sont également bons pour la bioaccumulation des métaux lourds. Beaucoup des espèces peuvent adsorber le cadmium, le cuivre, le plomb, le mercure et le zinc par leur mycélium et leurs spores. Parfois la paroi des champignons morts se lie

mieux que les champignons vivants. L'espèce *Rhizopus arrhizus* a été utilisée pour le traitement de l'uranium et thorium (**Bosco et Mollea, 2019**).

6. 3. 3. Les biocarburants

Le *Trichoderma reesei* est une espèce de champignon filamenteux qui a la capacité de produire une grande quantité d'enzymes cellulolytiques. Il devient alors une référence dans la transformation de cellulose végétale en sucres simples à partir desquels on peut obtenir de l'éthanol, carburant sans pétrole. Donc l'obtention de biocarburants de seconde génération à destination des moteurs à essence (**Audrey, 2014**).

6. 3. 4. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), molécules à multiples noyaux carbonés, dérivent de la combustion incomplète de matières organiques. Leur origine peut être à la fois naturelle (par exemple brûlage à ciel ouvert, pertes naturelles de pétrole et activités volcaniques) et principalement anthropique (par exemple chauffage résidentiel, gazéification du charbon, noir de carbone, activités dans les raffineries de pétrole). La contamination par les HAP correspond à 13% : ces composés ont tendance à se lier aux particules du sol et à rester absorbés. Les champignons ligninolytiques et non ligninolytiques sont capables de dégrader les HAP au moyen du système enzymatique extracellulaire dégradant la lignine, qui contribue à la première attaque contre les HAP, et de la monooxygénase dont des espèces appartenant à *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Cladosporium* et *Trichoderma* (**Pinedo-Rivilla et al., 2009**).

6. 3. 5. Sous-produits des industries agroalimentaires

Les déchets des industries agroalimentaire sont un impact environnemental néfaste contribué à la perte de la biodiversité, leur valorisation par les moisissures est le processus le moins coûteux pour la production des métabolites et des enzymes utilisées en biotechnologie industrielle, les différents genres fongiques utilisés dans ce processus sont : *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Trichoderma* et certaines espèces de *Penicillium* (**Manpreet et al., 2005**).

On prend l'exemple de l'*Aspergillus oryzae* qui secrète des quantités importantes des enzymes y compris les amylases et les protéases pour briser les complexes d'amidons en sucres simples et les protéines en peptides/acides aminés qui sont présents dans les déchets de tomates par exemple (graines, peaux, pulpe) ce qui pourrait améliorer substantiellement la qualité des protéines des aliments tels les produits de céréales (**Belmessikh et al., 2013**).

Le lactosérum (un sous-produit de l'industrie fromagère) a été utilisé comme milieu de culture pour plusieurs moisissures. *Penicillium camemberti* a permis la production des protéases acides, neutres et alcalines. *Aspergillus niger* a utilisé aussi ce sous-produit comme milieu de base pour la production de la cellulase et de variété de métabolites tel que l'acide citrique, l'acide oxalique (additifs alimentaires) et certains composés organiques volatile et des enzymes (**Leghlimi, 2004**), la moisissure *Rhizopus oryzae* produit les acides organiques et de différentes enzymes comme de l'alpha-amylase nécessaire pour la transformation du lactosérum (**Aït Kaki, 2004**).

Chapitre 2 : les déchets oléicoles

1. Généralités sur les déchets oléicoles

L'industrie oléicole est l'un des activités importantes pour l'homme à cause de sa production de l'huile d'olive, cette dernière se concentre principalement dans les pays du pourtour méditerranéen dont la production de ces pays représente 94% de la production mondiale (Sbai et Loukili, 2015).

En effet. L'extraction de l'huile d'olive pose des problèmes des résidus l'un liquide : les margines (eaux contenues dans l'olive) et l'autre solide : les grignons (résidus de la pulpe) sans aucun traitement préalable, La gestion de ces déchets est devenue un enjeu important pour la préservation de l'environnement et de la santé humaine (Benrachedi et al., 2001).

2. Les principaux sous-produits des déchets oléicoles

2.1. Déchets liquides (marges)

Les margines, l'ensemble de déchets liquides, sont constituées en fonction du système de séparation utilisé dans l'opération 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 d'huile et des eaux de végétation de l'olive elle-même. Ces déchets posent un sérieux problème de contamination pour tous les pays oléicoles. Il est en relation avec l'industrie et l'environnement sachant qu'un habitant correspond environ à 54 g de DBO par jour, 1 mètre cube de marge équivaut à la pollution engendrée par 1200 habitants. 25 à 40 millions de mètres cubes de marges sont produits annuellement, dont 90% sont localisés dans le bassin méditerranéen et déversés dans la nature sans traitement préalable. De plus, le nouveau système d'extraction à trois phases de l'huile multiplie par 3 la quantité d'eau utilisée et donc de marge (Nefzaoui, 1991).

Tableau 1 : Composition chimique générale des margines (**Benyahia et al., 2003**).

Composant	Teneur (%)
Eau	83-88
Matière organique	10.5-15
Matière minérale	1.5-2
Matières azotées totales	1.25-2.4
Matières grasses	0.03-1
Polyphénols	1.0-1.5

2.2. Déchets solides (grignons d'olive)

Le grignon d'olive est un résidu solide de couleur brune, résultant du processus de production d'huile d'olive, par pressage mécanique des fruits d'oliviers, sans aucun traitement chimique. Il se compose de la coque du noyau réduit en morceaux, de la peau et de la pulpe de l'olive ; il contient encore une certaine quantité de matières grasses et une importante quantité d'eau variable selon la variété des olives et surtout du procédé d'extraction utilisé (**La Rubia-Garcia et al., 2012 ; Meziane, 2013 ; Ferhat et al., 2014**).

En moyenne, la trituration de 100kg d'olive produit 20kg d'huile, selon les cas et en fonction des systèmes d'extraction. Il produit également les quantités suivantes de grignon :

- 40kg de grignon (taux d'humidité d'environ 50%), si l'on utilise le système traditionnel (**Amirante et al., 1993**).
- 55kg de grignon (taux d'humidité de 50%), si l'on utilise le système continu à trois phases (**Tamburino et al., 1999**).
- 70kg de grignon (avec une teneur en humidité de l'ordre de 60%), si l'extraction est effectuée par le système en continu à deux phases (**DiGiovacchino, 1996**).

3. Les différents types de grignons d'olive

Les grignons d'olives sont disponibles en quantités importantes dans de nombreux pays méditerranéens. En fonction du procédé d'extraction il est possible de distinguer trois types de grignons :

a) **Le grignon brut** : issus des huileries utilisant le système traditionnel de presses hydrauliques, ses teneurs relativement élevés en eau (24%) et en huile (9%) favorisent son altération rapide lorsqu'il est laissé à l'air libre.

b) **Le grignon épuisé** : C'est le résidu obtenu après déshuilage du grignon brut par un solvant, généralement l'hexane (El hachemi, 2010).

c) **Le grignon partiellement dénoyauté** : Il résulte de la séparation partielle des débris de noyau de la pulpe par tamisage ou ventilation ; Il est dit 'gras' si son huile n'est pas extraite par solvant ou est dit 'dégraissé ou épuisé' si son huile est extraite par solvant (Nefzaoui, 1987).

4. Caractéristiques microbiologiques

Dans les effluents d'huileries d'olive, seuls quelques microorganismes arrivent à se développer. Ce sont essentiellement des levures comme l'espèce de *Trichosporon cutaneum* et des moisissures comme l'espèce *Aspergillus niger*. Dans la plupart des cas, il y a absence de microorganismes pathogènes et ils ne posent alors aucun problème de point de vue sanitaire. Le pouvoir antimicrobien des effluents d'huileries d'olive est lié essentiellement à l'action exercée par les phénols et les pigments bruns (Hamdi et Ellouz, 1993). Ces effluents agissent sur les bactéries en dénaturant les protéines cellulaires et en altérant les membranes (Ranalli, 1991).

5. Caractéristiques physiques

La composition physique des grignons dépend étroitement de la variété des olives, de leur degré de maturation et du système employé lors de l'extraction de l'huile. Les grignons bruts renferment la coque du noyau réduite en morceaux, la peau et la pulpe broyée. Ils renferment aussi une certaine humidité et une quantité d'huile résiduelle (Tableau 2). Tandis que les grignons épuisés diffèrent essentiellement par une plus faible teneur en huile et une teneur en eau réduite du fait qu'ils ont été déshydratés au cours du processus d'extraction.

Tableau 2 : Les différents composants du grignon d'olive (Sansoucy, 1981).

Composants	Olive (%)	Grignon brut (%)	Grignon épuisé (%)
Eau	49	27	17
Huile	27	9	2
Coque	14	43	55
Pulpe	9	21	26

6. Caractéristiques chimiques

La composition chimique des grignons d'olive varie dans de très larges limites selon le stade de maturité des olives, le procédé d'extraction de l'huile, l'épuisement par les solvants.

Les grignons d'olives sont assez riches en eau, en cellulose et en matière grasse. Ils sont caractérisés par leur faible teneur en protéines, en minéraux et en carbohydrates solubles.

Tableau 3 : Composition chimique des différents types de grignons (D.P.V., 2009).

Type de grignon	Matière Sèche	Matières minérales (%)	Matière Azotées Totales (%)	Cellulose brute (%)	Matières Grasses (%)
Grignon brut	75-80	3-5	5-10	35-50	8-15
Grignon gras partiellement dénoyauté	80-95	6-7	9-12	20-30	15-30
Grignon épuisé	85-90	7-10	8-10	35-40	4-6
Grignon épuisé partiellement dénoyauté	85-90	6-8	9-14	15-35	4-6

(%) : Pourcentage de la matière Sèche

6.1. Cellulose brute

En moyenne, les grignons contiennent 10% d'hémicellulose, 15% de cellulose et 27% de lignine. La digestibilité de l'hémicellulose (50-60%) est presque le double de celle de la cellulose (26-43%). Ces paramètres permettent de classer ce produit en un substrat hautement lignifié et à paroi de très faible digestibilité. L'analyse des fibres par la méthode de **Van Soest et coll** (1975) a révélé que les teneurs en constituants pariétaux de grignon d'olive : la lignine, la cellulose, et l'hémicellulose sont très élevées (**Mennane et al., 2010**).

6.2. Matières minérales (cendre)

La teneur en matière minérale est généralement faible, son excédent est dû à la contamination au contact avec le sol (3 à 5%). Le tableau 4 résume les différentes teneurs.

Tableau 4 : Les composants minéraux des cendres ainsi que leurs teneurs respectives (%) (**Perrin, 1992**).

KO	NaO	MgO	CaO	Fe	PO	SO	Cu	Zn	Mn
12.40	0.40	1.20	8.50	1.90	2.70	1.30	0.44	0.33	1.08

6.3. Matières grasses (lipides)

La teneur en matière grasse est relativement élevée et demeure tributaire du mode d'extraction de l'huile. Elle représente de 8 à 15% de la matière sèche (**Sansoucy, 1984**).

La matière grasse des grignons est très riche en acides gras en C16 et C18 insaturés et qui constituent 96% du total des acides gras. Celles du grignon brut peuvent constituer un apport d'énergie important, mais dans le cas des grignons épuisés, cet apport est limité (**Alibes et al., 1984**).

6.4. Matières azotées totales

Leurs teneurs varient selon le type de grignon mais restent relativement modestes (Tableau 5). L'azote protidique constitue plus de 95% de l'azote total et sa solubilité est particulièrement faible (3%). D'ailleurs, une grande partie des protéines (80 à 90%) est liée à la fraction lignocellulosique (**Nefzaoui, 1984**).

Tableau 5 : Composition moyenne en matière azotée totale des grignons d'olive bruts et épuisés selon plusieurs auteurs (**Moussaoui, 2007**).

Type de grignon	Teneur en M.A.T/M. S	Auteurs
Grignon brut	4,42-9,10%	Loussert et Brousse, 1978
Grignon épuisé	10,38%	
Grignon brut	5,0-10,3%	Nefzaoui, 1984
Grignon épuisé	12,4-16,2%	
Grignon brut	5,0-10,3%	F.A.O, 1984
Grignon épuisé	8-10%	
Grignon brut	0,96%	Arce, 1993
Olive entière	0,24%	Cheftel, 1980

6.5. Polyphénols

Les effets nocifs de grignon d'olive sont dus en grande partie à leur contenu en polyphénols difficilement biodégradables (**Milanese et al., 2014**). Ces derniers proviennent de l'olive dont les composés phénoliques représentent 0,3% à 5%, mais également de la dégradation de la lignine en fonction du traitement subi (**Vasquez-Roncero et al., 1974**).

Les polyphénols naturels regroupent un vaste ensemble de substances chimiques, plus de 10000 sont actuellement connus (**Djadoun S, 2010**). Ils peuvent aller de molécules simples, le cas des acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés, de plus de 30000 Daltons, comme les tanins. La grande diversité de ces substances actives rend donc leur classification très compliquée. Cependant les polyphénols sont communément

subdivisés en : Acides phénoliques, flavonoïdes, alcools phénoliques, lignanes et les tanins (D'Archivio M et al., 2007).

➤ Acides phénoliques

Cette classe implique tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Robbins RJ, 2003). On en trouve deux grands groupes : les acides hydroxy benzoïques et les acides hydroxy cinnamiques.

Les principaux acides phénoliques des grignons d'olive sont : l'acide vanillique (0,67mg/g d'extrait (E)), l'acide caféique (0,03mg/g d'E) et l'acide rosmarinique (0,73mg/g d'E) (Rubio et al., 2012).

➤ Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent une classe très importante de la famille des polyphénols et sont des molécules très répandues dans le règne végétal (Paris et Hurabeille, 1981). Rencontrés dans les feuilles, le pollen et les fruits. Il se répartissent en plusieurs catégories, dont les plus importantes sont les flavanols, les flavones, les flavanones et les anthocyanidines (Pietta et Simonetti, 1999).

Les différents flavonoïdes des grignons d'olive sont : l'apigénine (0,04mg/g d'Extrait (E)), la lutéoline (0,49mg/g d'E), le naringénine (0,02mg/g d'E) et le taxifoline (0,02mg/g) (Rubio et al., 2012).

➤ Alcools phénoliques

Un alcool phénolique est un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique. Le tyrosol (4-hydroxyphenylethanol) et l'hydroxytyrosol (3,4-dihydroxyphenylethanol), sont les principaux alcools phénoliques des grignons d'olive, contenus à raison de 0,27 et 2,77mg/g d'E respectivement (Rubio et al., 2012).

➤ Tanins

Les tanins, utilisés depuis l'antiquité par l'homme pour le traitement des peaux d'animaux, sont des formes phénoliques condensés, de structures variées, qui sont capables de se lier aux protéines en solution et de les précipiter (Macheix et al., 1990).

Les tanins sont classés en deux groupes, différent à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition, en tanins hydrolysables et en tanins condensés (Vermerris et Nicholson, 2006).

7. Impacts environnementaux du grignon d'olive

Les déchets de l'industrie oléicole sont directement déversés dans l'environnement sans aucun traitement préalable. Ces résidus sont toxiques pour l'environnement et peuvent contaminer les sols, les plantes, les cours d'eau ...etc.

7.1. Impact sur les eaux

Les effluents d'huileries d'olive sont peu dégradables à cause des substances phytotoxiques et antimicrobiennes (phénols, acides gras, etc.) et nuisent fortement à la qualité des eaux de surfaces. La très forte charge en DCO et surtout en DBO empêche les eaux de s'auto-épurer et la pollution peut s'étendre sur de très longues distances (**EL HADJOUJJI, 2007**).

7.2. Impact sur le sol

La décharge directe de ces effluents sur les sols provoque un colmatage des sols et une diminution de leur qualité. Ces déchets sont à l'origine de l'augmentation de la salinité des sols et de la diminution du pH, qui pourrait être à l'origine du changement des caractéristiques physicochimiques. Ainsi, des substances telles que les phénols peuvent inhiber l'activité microbienne et détruire la microflore du sol (**EL HADJOUJJI, 2007**).

8. Biodégradabilité du grignon d'olive

Le grignon d'olive est très hautement ligno-cellulosique et présente une dégradabilité très lente (**Nefzaoui, 1983**). La lignine est l'un des principaux composants et la fraction la plus résistante dans les produits du compostage. Elle est étroitement associée aux fibres de cellulose et entrave la dégradation des polysaccharides (**Hall, 1980**). D'autre part, la dégradabilité des matières azotées contenues dans le grignon est très faible. Ceci s'explique par le fait que 70 à 80% de l'azote est lié à la fraction lignocellulosique entraînant une faible solubilité de l'azote (**Nefzaoui, 1991**).

9. Valorisation du grignon d'olive

Le grignon d'olive, qui est un déchet, peut aussi être considéré comme une ressource renouvelable, Il existe différents procédés de valorisation de ce dernier.

9.1. Extraction d'huile de grignon

L'huile du grignon est obtenue par traitement aux solvants ou d'autres procédés physiques. La première étape de valorisation des grignons bruts, quand ils ne sont pas destinés à la fermentation. Cette technique permet la récupération d'au moins 6% d'huile appelée souvent « huile de grignons » (**Yacoub, 1997**).

9.2. Le compostage

Il a été prouvé que le compostage des déchets oléicoles donne un compost de très bonne qualité. Il s'agit d'une dégradation de la matière organique dans des conditions contrôlées en présence d'oxygène, avec une température et une humidité optimale (**AMIC et DALMASSO., 2003**).

9.3. Production de métabolites

Il existe d'autres filières de valorisation des grignons d'olives comme : La production de composés d'arômes d'intérêt dans les domaines agroalimentaire, cosmétique et même pharmaceutique, en effet, la fermentation des grignons d'olives en milieu solide par des champignons thermophiles et filamenteux produit une panoplie de composés (**Kademi et al., 2003**).

La production du méthane par la fermentation anaérobie des lisiers de vaches avec des grignons d'olives (57 - 65% du biogaz produit). Ce méthane est utilisé comme une source d'énergie pour le chauffage de l'eau (direct) et en production d'électricité à usage domestique (indirect) (**Hammad et al., 1999**).

Chapitre 3 : Traitement des grignons d'olives par les moisissures

1. Les types de fermentation

La fermentation est un procédé utilisé pour produire des biomolécules comme les enzymes, les acides organiques, les métabolites secondaires et la biomasse. Il existe deux types de fermentation : la SmF (fermentation liquide submergée ou *Submerged Fermentation*) et la SSF (fermentation solide ou *Solid State Fermentation*) (**Rani Singhania, 2011**).

1. 1. Fermentation liquide ou *Submerged Fermentation* (SmF)

1. 1. 1. Définition

C'est une technique dans laquelle les microorganismes sont en suspension dans un milieu aqueux contenant les éléments nutritifs dissous (**Sumantha et al., 2006**). La fermentation liquide utilise des microorganismes qui nécessitent une humidité élevée tels que les bactéries *Rhodothermus marinus* (**Shah et al., 2019**), et la majorité des espèces de *Bacillus* qui sont produites par les fermentations liquides (**Sandhya, 2005**). La fermentation liquide est utilisée aussi pour la production de divers composés bioactifs : les enzymes, les antibiotiques, les antioxydants, les agents antitumoraux, les biosurfactants et les peptides bioactifs (**Subramaniyam et Vimala, 2012**).

1. 1. 2. Avantages

La SmF a été utilisée dans le contrôle des paramètres de la fermentation, la récupération facile des métabolites, des mycéliums ou des spores et fournit de bons rendements en enzymes (extraits enzymatiques plus stables) (**Batache, 2014**).

1. 1. 3. Inconvénients

L'application des microorganismes fongiques dans la fermentation liquide possède des inconvénients non négligeables. Leur développement sous forme micellaire altère les transferts thermiques et de la matière au sein des fermenteurs. Elle augmente la viscosité. Les systèmes d'agitation mis en place qui affectent le développement de ces microorganismes, Dans le cas de la production de spores de moisissures, la sporulation est plus facile à obtenir en fermentation en milieu solide tandis qu'elle est difficile à obtenir et à contrôler en fermentation submergée (**Fergani et Lakhel, 2015**).

1.2. La fermentation solide ou *Solid-State Fermentation* (SSF)

1. 2. 1. Définition

La fermentation en milieu solide est définie comme une croissance microbienne sur des particules solides humides, qui jouent le rôle d'un support physique et source de nutriments

en l'absence (ou quasi absence) d'eau libre. La quantité d'eau doit être suffisante pour la croissance et le métabolisme des microorganismes (**Mitchell et al., 2002**).

Les microorganismes ne se développent pas seulement sur ou à proximité de la surface de la matière solide, mais aussi elles pénètrent profondément dans les espaces intercellulaires et intracellulaires du support, montrant un contact étroit ou associé (**Dominguez, 2003**). Parmi les différents groupes de microorganismes utilisés dans SSF, les moisissures tels que *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp*, etc ... qui sont les espèces les mieux adaptées dans des plusieurs recherches et applications in vitro. Ceci est dû à leur capacité à croître sur des surfaces de substrats variables et de pénétrer dans les espaces inter-particulaires des substrats solides, tandis que les bactéries comme *Rhodothermus marinus* et les levures tels *Candida boidinii*, *Yarrowia lipolytica* sont largement cultivées dans SmF (**Shah et al., 2019**).

Les facteurs qui influencent la SSF sont : la nature du support et de ses propriétés (taille des particules, capacité de rétention d'eau), les microorganismes (type, taille de l'inoculum et période de culture) et les paramètres physiques (température, oxygène, taux de dégagement de dioxyde de carbone) (**Salihu et al., 2012**).

1. 2. 2. Avantages

La SSF est connu depuis l'Antiquité mais a gagné l'attention scientifique actuelle en raison de plusieurs avantages environnementaux et économiques apparents offerts. Elle présente des opportunités potentielles pour développer des « processus verts » utilisant des résidus agro-industriels. Le coût de production de plusieurs enzymes lorsqu'elles sont produites en SSF est inférieur à celui produit en SmF (**Singhania et al., 2015**). En plus de ça, l'absence d'eau libre permet de réduire le volume des installations de fermentation et les contaminations bactériennes et le manque de stérilisation préalable du substrat réduit considérablement le cout énergétique de la fermentation.

1. 2. 3. Inconvénients

La SSF comporte des inconvénients tels que le choix limité de microorganismes pour le développement des souches dans des conditions d'humidité réduite ainsi que la non séparation des microorganismes du substrat ce qui rends l'estimation de la biomasse délicate .Etant donné la forte concentration des métabolites obtenus, des produits inhibiteurs générés par les microorganismes peuvent s'accumuler en concentration élevée dans le milieu de culture (**Assamoi et al., 2009**).

2. Traitement des grignons en culture solide

Le grignon d'olive est un résidu largement disponible qui nécessite un traitement et une valorisation appropriées, Ses propriétés en font un substrat intéressant pour induire la production des métabolites par des microorganismes qui l'utilisent comme source de carbone (**Oliveira et al., 2016**).

La fermentation à l'état solide est une technologie qui permet de produire ces enzymes à faible coût, principalement en raison de l'utilisation d'un substrat moins cher comme le grignon d'olive et vu qu'il est riche en sucres, protéines, lipides et sels minéraux a été utilisé aussi comme substrat pour la culture de champignons filamenteux thermophiles par fermentation en milieu solide pour la production de lipases thermostables de *Rhizopus oligosporus*. Les matières grasses résiduelles des grignons d'olive favorisent la production importante de biomasse et des enzymes comme les lipases, pour la production de spores des champignons filamenteux producteurs d'enzymes (lipases et tannases) sur grignons d'olive (**Ismaili-Alaoui et al., 2002**).

Le traitement biologique par les champignons tels que *Aspergillus niger* et *Trichoderma spp*, *Penicillium*, etc par exemple peut être une utilisation efficace de ces déchets pour obtenir des enzymes d'intérêt industriel comme les cellulases, les xylanases.etc afin de produire du bioéthanol (**Kulkarni et al., 1999**).

Le grignon d'olive est principalement utilisé pour le compostage et la production d'aliments pour animaux ; néanmoins, la haute teneur en huile, les composés phénoliques et les teneurs en fibres en plus de sa faible teneur en protéines qui représentent des obstacles majeurs pour les deux applications. Ainsi, des études a été menée pour évaluer le rôle de la fermentation à l'état solide (SSF) dans le grignon d'olive en utilisant la levure *Kluyveromyces marxianus* dans la composition chimique et la teneur en tanin de grignon dans un essai pour sa bioconversion en un aliment pour animaux à valeur ajoutée, La dégradation du tanin pendant la fermentation en culture solide par *Kluyveromyces marxianus* peut être attribuée à la sécrétion de tannase produite lorsque le grignon été utilisé comme seule source de carbone pour *Kluyveromuces marxianus* (**Fathy et al., 2018**).

3. La mycodégradation des grignons.

Le grignon d'olive contient des substrats toxiques tels que les phénols et le dioxyde de soufre qui provoquent des effets négatifs sur les populations microbiennes du sol, les écosystèmes aquatiques et même dans l'air, La toxicité et l'activité antimicrobienne des phénols d'olive sont contributeurs majeurs à cette pollution et entravent le traitement biologique des déchets nécessaires pour réduire leur charge polluante. Le traitement biologique par les champignons peut être une utilisation efficace de ces déchets pour obtenir des enzymes d'intérêt industriel comme les cellulases, les xylanases et les lipases

De nombreux champignons filamenteux comme *Aspergillus* et *Trichoderma spp* ont utilisés le grignon d'olive comme substrat solide pour produire les xylanases et les cellulases qui ont été identifiés comme hydrolyseurs de cellulose et d'hémicellulose (**Oliveira et al., 2016**).

Parmi les champignons, les producteurs de la lipase bien connus sont *Penicillium restrictum*, *Candidarugosa*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Aspergillus niger* et *Sporobolomyces ruberrimus*. Cependant, les niveaux de production de lipase et l'activité changent en fonction de chaque microorganisme et surtout avec les conditions employées dans la culture. Ainsi, il est important d'analyser et d'évaluer les variables et les conditions qui peuvent influencer la production et l'activité de lipase (**Santos et al., 2014**).

Aspergillus niger reste le microorganisme le plus efficace pour dégrader les tanins des effluents d'huileries grâce à sa capacité d'hydrolyser des polymères aromatiques et de dégrader les monomères aromatiques (**Hamdi et al., 1991**).

Environ 50% de la production d'huile d'olive permettent le développement des moisissures tel que *Aspergillus fumigatus* qui joue un rôle important en produisant des métabolites secondaires comme la gliotoxine, l'acide helvoïque et la fumagilline (antibiotiques) (**Lamrani et al., 2008**).

Les propriétés enzymatiques de ces moisissures permettent de les utilisés en biotechnologie fongique pour dégrader les polluants de l'environnement qui contient les polyphénols comme le cas de grignons d'olive et donc utiliser ce déchet pour d'autres applications bénéfiques pour l'homme et pour l'environnement (**Onodera et al., 2001**).

CONCLUSION

CONCLUSION

Notre travail a pour objectif le traitement des grignons d'olive, qui est le résidu solide de la production d'huile d'olive, par un traitement biologique basé sur l'utilisation des moisissures afin de réduire l'impact indésirable de ce déchet à l'environnement. Ce déchet contient des composés organiques lipidiques, aromatiques et toxiques (manifestés surtout par les composés phénoliques) qui le rendent peu dégradable.

La structure mycélienne des moisissures leur permet d'absorber les matières organiques nécessaires pour leur croissance après les dégrader en sécrétant les enzymes et les métabolites secondaires. L'utilisation de ces microorganismes en culture solide de grignon a permis de dégrader ces composants et les utiliser comme substrats carbonés pour leur croissance grâce à leurs propriétés enzymatiques.

Cette étude a révélé que la biodégradation de grignons d'olive par les champignons filamenteux est possible, efficace et peu coûteuse, et donc peut être utilisée dans des applications industrielles bénéfiques et non nocives pour l'environnement.

En perspectives, il sera intéressant d'approfondir ce travail préliminaire et nécessaire par :

- La valorisation des composés toxiques phénoliques des grignons d'olive afin de les utiliser dans des applications industrielles bénéfiques.
- Etudier la capacité des champignons de produire d'autres enzymes et métabolites secondaires pour dégrader les matières organiques polluantes.

Résumé

La présente étude théorique a fait l'objet de traiter les grignons d'olives par les moisissures et de tester leur capacité à dégrader et dépolluer ce sous-produit oléicole en leur utilisant comme substrat carboné.

C'est pour cette raison que notre travail consiste à étudier les caractéristiques morphologiques et physiologiques des moisissures et leur intérêt, ainsi que les propriétés physiques, chimiques et biologique des grignons d'olives et leur valorisation, et enfin démontrer les différents modes de traitement des grignons par les moisissures et leur biodégradation.

A la fin de cette étude on a conclu que la biodégradation de grignons d'olive par les champignons filamenteux est possible, efficace et peu couteuse et donc peut être utilisée dans des applications industriels bénéfiques et non nocifs pour l'environnement.

Mots clés : grignon d'olive, pollution, moisissures, biodégradation, traitement.

Summary

The present theoretical study was the subject of treating olive pomace with molds and of testing their capacity to degrade and depollute this olive oil by-product by using them as a carbon substrate.

It is for this reason that our work consists in studying the morphological and physiological characteristics of molds and their interest, as well as the physical, chemical and biological properties of olive pomace and their development, and finally demonstrating the different modes of treatment of pomace by mold and their biodegradation.

At the end of this study it was concluded that the biodegradation of olive pomace by filamentous fungi is possible, effective and inexpensive and therefore can be used in industrial applications which are beneficial and not harmful to the environment.

Key words: olive pomace, pollution, molds, biodegradation, treatment.

ملخص

هدفت الدراسة النظرية الحالية إلى معالجة ثقل الزيتون بالعفنيات واختبار قدرتها على تحلل ومعالجة المنتج الثانوي لزيت الزيتون باستخدامه كركيزة كربونية.

ولهذا السبب يتكون عملنا من دراسة الخصائص المورفولوجية والفسولوجية للعفنيات واهتماماتها، وكذلك الخصائص الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية لثقل الزيتون وتطورها، وفي النهاية توضيح الطرق المختلفة لمعالجة ثقل بالعفن وتحللها الحيوي.

في نهاية هذه الدراسة تم التوصل إلى أن التحلل الحيوي لثقل الزيتون بواسطة الفطريات الخيطية ممكن وفعال وغير مكلف وبالتالي يمكن استخدامه في التطبيقات الصناعية المفيدة وغير الضارة بالبيئة.

الكلمات المفتاحية: ثقل الزيتون، التلوث، العفنيات، التحلل الحيوي، المعالجة.

Liste des références

- **Aït Kaki, A. (2004).** Isolement de la moisissure *Rhizopusoryzae* et optimisation d'un milieu à base de lactosérum pour la production de l -amylase. Thèse de Magistère. Université Mentouri Constantine.
- **Alibes, X., Berge, P., Martilotti, F., Nefzaoui, A., Zoïopoulos, P. (1984).** Utilisation des sousproduits de l'olivier en alimentation animale dans le bassin Méditerranéen. P : 43.
- **Amic, A., Dalmasso, C. (2013).** Unité de valorisation complète de déchets oléicoles par lombricompostage : production de produits à haute valeur ajoutée : lombricompost, savon, collagène et lombrics. Mémoire de master. Faculté des sciences techniques. Spécialité science de l'environnement terrestre. Institut méditerranéen de biodiversité et d'écologie. Aix Marseille université.
- **Amirante, P., Direnzo, L., Bianchi, B., Catalano, P. (1993).** Evolution technologique des installations d'extraction de l'huile d'olive. *Olivae*. 48.
- **Ariji, S. (2018).** Bioremediation using Fungi-Mycoremediation <https://envibrary.com/bioremediation-using-fungi-mycoremediation/> . 07/03/2020.22:36.
- **Assamoi, A.A., Destain, J., Thonart, P. (2009).** Aspects microbiologiques de la production par fermentation solide des endo- β -1,4-xylanases de moisissures : le cas de *Penicillium canescens*. *Biotech. Agron. Soc. Env.* 13 (2). p: 271-280.
- **Audrey Chabal(2014),** les biocarburants appuient sur les champignons,https://www.liberation.fr/futurs/2014/11/23/les-biocarburants-appuient-sur-le-champignon_1149164, 20/03/2020, 12 :03.
- **Aurélie, L. (2013).** Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle.Université de Reims Champagne Ardenne. Ecole doctorale sciences technologie santé. France. P : 21-22.
- **Batache, I. (2014).** Recherche de nouvelles potentialités de *Yarrowialipolytica*, isolé de différents milieux naturels pour des applications biologiques. Thèse de doctorat : Biotechnologies, Biologie et Environnement/Option : Bioprocédés et Biotechnologies, Applications Mycologiques. Université Constantine 1.p : 89.
- **Belmessikh, A., Boukhalfa, H., Mechakra-Maza, A., Gheribi-Aoulmi, Z., Amrane, A. (2013).** Statistical optimization of culture medium for neutral protease production by *Aspergillus oryzae*. Comparative study between solid and

submerged fermentations on tomato pomace. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 44(3). p: 377–385.

- Benrachedi, A., Mekarzia, A., Gazet, A. (2001). Etude de l'adsorption de phénol sur marc de café transformé en charbon actif en poudre. *Journal de la société algérienne de chimie JSAC*, 11(1). P : 25-35.
- Benrachedi, A., Mekarzia, A., Gazet, A. (2001). Etude de l'adsorption de phénol sur marc de café transformé en charbon actif en poudre. *Journal de la société algérienne de chimie JSAC*. 11(1). P : 25-35.
- Benyahia, Nadia., Zein, K. (2003). Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées. Contribution spéciale de « Sustainable Business Associates » à l'atelier « Pollution and Development issues in the Mediterranean Basin », 2ème Conférence Internationale « SwissEnvironmental Solutions for Emerging Countries » (SESEC II). Lausanne, Suisse.
- Bosco, F., Mollea, C. (2019), Mycoremediation in Soil, <https://www.intechopen.com/books/environmental-chemistry-and-recent-pollution-control-approaches/mycoremediation-in-soil> .10/03/2020. 00 :22.
- 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.
- Bousseboua, H (2005). Eléments de microbiologie. 2eme éd. Constantine : Campus-Club. P : 11.
- Chabasse D., Bouchara J-P ; De gentile L., Brun S., Cimmon B., Penn P. (2002). Cahier de formation les moisissures d'intérêt médicale.
- Caldeira, A.T., Rodrigues, S., Teixeira, D., Pinto, P. (2013). *Fusariumoxysporum* strain PP0030. GenBank, NCBI.
- Conner, D.E., Beuchat, L.R. (1987). Heat resistance of ascospores of *Neosartoryafischerias* affected 129 by sporulation and heating medium. *International Journal of Food Microbiology* (4). P : 303-312.
- Cortes, C., Vapnik, V. (1995). Support-vector networks *Machine Learn*. 20 (3). p: 273-297.

- **D.P.V. : direction de la production végétale. (2009). Département lié au ministère de l'agriculture. Rabat, Maroc.**
- **D'Archivio, M., Filesi, C, Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., Masella, R. (2007).Poluphenols, dietary sources and bioavailability. Annalidell'IstitutoSuperiore diSanià.43(4). p:348-361.**
- **Di-Giovacchino L. (1996). L'influence des systèmes d'extraction sur la qualité de l'huile d'olive. Olivea. 63. P :52-63.**
- **Djadoun, S. (2010). Influence de l'exane acidifié sur l'extraction de l'huile de grignon d'olive assistée par microondes. Thèse de magister. Université Mouloud Maameri de Tizi-Ouzou, faculté des sciences, département de chimie.p: 65.**
- **Dominguez, A., Costas, M., Longo, M. A., Sanromán, A. (2003). A novel application of solid state culture: production of lipases by *Yarrowialipolytica*. Biotech. Lett. 25. p: 1225-1229.**
- **El hachemi C. (2010). Effet de differents modes de sechage sur la stabilité des qualities nutritionnelles et microbiologiques du grignon d'olive Durant 3 moins de stockage. Thèse de Doctorat. Université d'oran Es-Senia. P : 118.**
- **El Hadjoudji, H. (2007). Evolution des caractéristiques physico –chimique spectroscopique et éco toxicologiques des défluent d'huileries d'olives au cours de traitements biologique et chimique. Thèse de doctorat. Ecole doctorale : science écologiques, vétérinaires agronomiques et bio ingénieries. Spécialité : écologie et agro systèmes. Institut nationale polytechnique. Toulouse.**
- **Fathy, SA, Mahmoud, AE, Rashad, MM, Ezz, MK., Mohammed, AT. (2018). Amélioration de la valeur nutritive du grignon d'olive par fermentation à l'état solide de *Kluyveromycesmarxianus* avec production simultanée d'acide gallique. Journal international de recyclage des déchets organiques dans l'agriculture.7 (2). p : 135-141.**
- **Fergani, K., Lakhel, R. (2015). Activités cellulolytiques de *Trichodermalongibrachiatum* cultivée sur son de blé. Mémoire master : Biotechnologie des mycètes. Université Constantine 1.p : 56.**
- **Ferhat, R., Laroui, S., Zitouni, B., Lekbir, A., Abdeddaim, M., Smaili, N., Mohammedi, Y. (2014). Experimental study of solid waste olive's mill: extraction modes optimization and physicochemical characterization. J. Nat. Prod. Plant Resour. 4.p : 16-23.**
- **Hall, P. (1980). Enzymatic transformation of lignin: Enzyme and Microbial Technology. p: 170-176.**

- Hamdi , M., Khadiri ,A., Garcia, J.L. (1991). The use of *Aspergillus niger* for the bioconversion of olive mill waste-waters. Laboratoire de Microbiologie ORSTOM, Université de Provence, 3 Place Victor-Hugo, F-13331 Marseille cédex 3, France. p : 828-83.
- Hamdi, M., Ellouz, R. (1993). Treatment of detoxified olive mill wastewater by anaerobic filter and aerobic fluidized bed process. *Environ. Technol.* 19.p: 183-188.
- Hammad, M., Badarneh, D., Tahboub, K. (1999). Evaluating variable organic waste to produce methane. *Energ. Convers. Manage.*40. P : 1463-1475.
- Ismaili-Alaoui, M., Kamal, M., Kademi, A, Morin, A., Roussos, S., Houde, A. (2002). Valorization of moroccan olive cake using solid state fermentation (chapter 4). In *New Horizons in Biotechnology*, Roussos S., Soccol C.R, Pandey A, Augur C. (Eds). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. p: 35-41.
- Kademi, A., Ismaili-Alaoui, M., Houde, A. (2003). Des arômes synthétiques...au naturel. Centre de Recherche et de Développement sur les aliments Saint Hyacinthe, Québec.
- KaileyLefko (2013).Le règne des Mycètes (champignons, moisissures et levures)<https://prezi.com/e4mrhtcaqabf/unite-4-le-regne-des-mycetes-champignons-moisissures-et-levures/> . 02/3/2020, 12 :02.
- Kulkarni, N., Shendye, A., Rao, M. (1999). Molecular and biotechnological aspects of xylanases. *FEMS MicrobiologyReviews.* 23. Division of Biochemical Sciences, National Chemical Laboratory, Pune 411008, India. p: 411–456.
- La Rubia-García, M., Yebra-Rodríguez, Á., Eliche-Quesada, D., Francisco, A., CorpasIglesias., López-Galindo, A. (2012).Assessment of olive mill solid residue (pomace) as an additive in lightweight brick production. *Constr.Build. Mater.*36. P : 495–500.
- Lamrani, K., Lakhtar, H., Ismaili-Alaoui, M., Ettalibi, M., Boiron, P., Augur, C., Gaime-Perraud, I., Roussos, S.(2008). , Production of fumagillin by *Aqpergillusfumigatus* isolated from traditional trituration units, “Maasra” in Morocco. *MicologiaAplicada International.* 20(1). p: 35-41.
- Leghlimi H. (2004). Optimisation de la production de la cellulase d’*Aspergillus niger* ATCC 16 404 cultivé sur un milieu à base de lactosérum : étude comparative entre *Aspergillus niger* ATCC 16 404 et *Aspergillus niger* O.Z isolée localement. Thèse de Magistère. Université Mentouri. Constantine.
- Macheix, JJ., Fleuriet, XX., Billot JA. (1990). Fruit phenolic CRC press Inc, Boca Raton Florida. P: 378.

- **Manpreet, S., Sawraj, S., Sachin, D., Pankaj, & Banejee, U. C. (2005). Influence of process parameters on the production of metabolites in solid-state fermentation. Malaysian Journal of Microbiology., 1 (2). p: 1-9.**
- **Mennane, Z., Tada, S., Aki, I., Faid, M., Hassani S., Salmaoui, S. (2010). Caractérisation physico-chimique et microbiologique des grignons d'olive de 26 huileries traditionnelles de la région de Beni Mellal (Maroc). Technologies de laboratoire. 5(19).**
- **Meyer, A, Deiana, J, Bernard, A. (2004). Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés, 2eme éd. Doin, p : 72.**
- **Meyer, A., Deiana, J, Bernard, A. (2004). Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. 2eme éd. Doin. P : 115**
- **Meyer, A., Deiana, J., Bernard, A. (2004). Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. 2eme éd. Doin. p: 206.**
- **Meziane, S. (2013). Modélisation de la cinétique du séchage convectif du grignon d'olive. Energies Renouvelables.16. p: 379 – 387.**
- **Milanese, M., Arturo, D., Andrea, R., Domenico, L. (2014). Numerical study of anaerobic digestion system for olive pomace and mill wastewater. Energ. Proce. 45. p: 141-149.**
- **Miner, J., Rusan, M., Ammar, R., Albalasmeh, A., Malkawi. (2016). Treated Olive Mill Wastewater Effects on Soil Properties and Plant Growth. Water Air Soil Pollut. p: 227-135.**
- **Mitchell, D.A., Berovic, M., Krieger, N. (2002). Overview of solid state bioprocessing. Biotech. Annu. Rev. 8. p: 183–225.**
- **Mohamed amine BEDRANE. les champignons filamenteux. Agronomie. P : 34.**
- **Mougin, C., Chaplain, V., Rama-Mercier, R., Sohier, L., Sigoillot, J.C., Asther, M.(1996). Utilisation de champignon filamenteux pour la dépollution des sols pollués par des polluants organiques. Unité de phytopharmacie et médiateurs chimiques de /Inra, Krebs. Laboratoire de biotechnologie des champignons filamenteux.**
- **Nefzaoui, A. (1983). Etude de l'utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animal en Tunisie. FAO Animal Production and Health Division, Rome.**
- **Nefzaoui, A. (1984). Importance de la production oléicole et des sous-produits de l'olivier, In : Etude de l'utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale en Tunisie. Etude FAO production et santé animales. P : 43.**

- Nefzaoui, A. (1987). Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par la valorisation optimale des sous-produits, OLIVAE IV Tunisie.
- Nefzaoui, A. (1991). Valorisation des sous-produits de l'olivier. Option méditerranéennes. Série n 16.p : 101-108.
- Nefzaoui, A. (1991). Valorisation des sous-produits de l'olivier. Option méditerranéennes. 16. P :101-108.
- Oliveira, F., Moreira, C., Salgado, J. M., Abrunhosa, L., Venâncio, A., Belo, I. (2016). Olive pomace valorization by *Aspergillus* species: lipase production using solid-state fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(10). p: 3583–3589.
- Oliveira, F., Moreira, C., Salgado, J. M., Abrunhosa, L., Venâncio, A., Belo, I. (2016).Olive pomacevalorization by *Aspergillus* species : lipase production using solid-state fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* .96(10). p: 3583–3589.
- Onodera, Y. KH., Mukumoto, Y., Katsuyaya, Y., Saiganji, A., Tani, Y., (2001). Degradation of polyethylene by a fungus, *Penicilliumsimplicissimum* YK. *Polym. Degrad. Stabil.*72. p: 323-327.
- Paris, M., Hurabeille, M. (1981). *Abrégé de matière médicale, pharmacognosie.* Ed MassonParis. P: 210-215.
- Perrin, J. (1992). *Minor Components and Natural antioxidants of olives and olive oils* .Rev. Franc.
- Pietta, P., Simonettil, P. (1999). *Dietary Flavonoids and Interaction with Physiologic Antioxidants.* ITBA-CNR Milan, Italy tdiSTAM University of Milan Milan, Italy.
- Pinedo-Rivilla, C., Aleu, J., &Collado, I. (2009). *Pollutants Biodegradation by Fungi.* *Current Organic Chemistry*, 13(12). p: 1194–1214.
- Ranalli, A. (1991). *L'effluent des huiles d'olives : propositions en vue de son utilisation et son épuration. Références aux normes italiennes en la matière.* *Olivae.* 39. p : 18-34.
- Rani Singhania, R.(2011). *Production of Cellulolytic Enzymes for the Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass (chap.8).* *Biofuels.* Biological Engineering Department – Polytech Clermont-Ferrand. Université Blaise Pascal, 24 avenues des Landais, BP 206, F-63174 AubièreCedex. France. p: 177–201.
- -Rizoun, L. (2012).*Situation environnementale de l'industrie oléicole en Algérie.* Conférence à Athènes. Source :

<http://www.h2020.net/fr/library/publications/finish/161/1134.html>. 22/06/2020. 15 :23.

- Robbins, R.J. (2003). Phenolics acids in food: An overview of analytical methodology. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 51. P: 2866-2887.
- Roquebert M.-F. (2002). Moisissures contaminant les biens culturels. Collection Patrimoine. HeritageSeries.
- Rubio, I., Motilva, MJ, Macia, A., Ramo, T., Romero, MP. (2012). Development of a Phenol-Enriched Olive oil with Both Its Own Phenolic Compounds and Complementary Phenols from Thyme. *Journal Agriculture. Food Chemistry*. 60. p : 3105-3112.
- Salihu, A., Alam, Md. Z., Abdulkarim, M. I., Salleh, H. (2012). Lipase production: An insight in the utilization of renewable agricultural residues. *Res. Cons. Recy*. 58. p: 36-44.
- Sandhya, C., Nampoothiri, K.M., Pandey A. (2005). Microbial proteases. *Methods Biotechnol. José Luis Barredo*. 17. p: 165–179.
- Sansoucy, R. (1981). L'utilisation des sous-produits de l'olivier pour l'alimentation des animaux. Séminaire sur la valorisation des sous-produits de l'olivier. Monastir, Tunisie, PNUD/FAO/COI. P : 73–78.
- Sansoucy, R. (1984). Utilisation des sous-produits d'olivier en alimentation animale. in séminaire sur la valorisation des sous-produits de l'olivier. Tunisie, PNUD/FAO/COI. 7387.
- Santos, RRD, Muruci, LNM, Damaso, MCT, Silva, JPLD, Santos, LO (2014). Production de lipase par *Aspergillus niger* 11T53A14 dans le son de blé en utilisant la méthodologie de conception expérimentale. *Journal of Food and Nutrition Research*. 2(10). p: 659-663.
- Sbai, G., Loukili, M. (2015). Traitement des margines par un procédé couplant la coagulation floculation et la voie électrochimique. *Laboratoire des Procédés, Energies Renouvelables et Environnement Ecole Supérieure de Technologie. European Scientific Journal*. 11(9) ISSN : 1857-7881.
- Schölkopf, B., Burges, C., Smola, A. (1999). Introduction to support vector learning, *Advances in Kernel Methods-Support Vector Learning*, MIT Press. p: 1-15.
- Shah, F., Ranawat, B., & Mishra, S. (2019). An Approach Toward Cellulase Production, Bioconversion, and Utilization (chap.11). *Advanced Bioprocessing for Alternative Fuels, Biobased Chemicals, and Bioproducts. Technologies and*

Approaches for Scale-Up and Commercialization. Woodhead Publishing Series in Energy. p: 207–223.

- **Shah, F., Ranawat, B., & Mishra, S. (2019). An Approach Toward Cellulase Production, Bioconversion, and Utilization (chap.11). Advanced Bioprocessing for Alternative Fuels, Biobased Chemicals, and Bioproducts. Technologies and Approaches for Scale-Up and Commercialization. Woodhead Publishing Series in Energy. p : 207–223.**
- **Shapaval, V., Schmitt, J., Moretro, T., Suso, H.P., Skaar, I., Asli, A.W. (2013) Characterization of food spoilage fungi by FTIR spectroscopy. J ApplMicrobiol,114. p: 788-796.**
- **Singhania, R. R., Patel, A. K., Thomas, L., Goswami, M., Giri, B. S., Pandey, A. (2015). Industrial Enzymes. Industrial Biorefineries& White Biotechnology, Elsevier, London.p: 473–497.**
- **Subramaniam, R., Vimala, R. (2012). Solid state and submerged fermentation for the production of bioactive substances: a comparative study. Int. J. Sci. Nature. 3(3). p: 480-486.**
- **Sumantha, A., Larroche, C., Pandey, A. (2006). Microbiology and industrial biotechnology of food-grade proteases: a perspective.Food Technol. Biotechnol. 44 (2). p: 211–220.**
- **Tamburino, V., Zimbone, S. M., Quottrone, P. (1999). Accumulation et ecoulement des margines sur le sol agrivole. Olivae. 76. P : 36-45.**
- **Tantaoui Elaraki, A. (2014). Introduction à l'identification des moisissures. Laboratoire de Biotechnologie. Fac. Science dhar el-mehrez, Fès. P: 63.**
- **-Tsagaraki, E., Lazarides, H. N., Petrostos, K. B. (2007). Olive mill wastewater treatment. In: Utilization of By-products and Treatment of Waste in the Food Industry Springer US. p: 133-157.**
- **Vasquez-Roncero, A., Maestro-Duran, R. et Graciani-Constante, E. (1974).Componentesfenolicos de la aceituna. II-Polifenoles tel alpechin. Grasas y Aceites. 25. p: 341-345.**
- **Vermerris, W., Nicholson, R. (2006). Phenolic compound biochemistry. P.O. Box 17, 3300 AA Dordrecht, The Netherlands.**
- **Yacoub, Y. (1997). Valorisation des sous-produits. L'investisseur agricole. 19. p :17-18.**

Traitement des grignons d'olives par les moisissures

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Ecologie Microbienne

La présente étude théorique a fait l'objet de traiter les grignons d'olives par les moisissures et de tester leur capacité à dégrader et dépolluer ce sous-produit oléicole en leur utilisant comme substrat carboné.

C'est pour cette raison que notre travail consiste à étudier les caractéristiques morphologiques et physiologiques des moisissures et leur intérêt, ainsi que les propriétés physiques, chimiques et biologiques des grignons d'olives et leur valorisation, et enfin démontrer les différents modes de traitement des grignons par les moisissures et leur biodégradation.

A la fin de cette étude on a conclu que la biodégradation de grignons d'olive par les champignons filamenteux est possible, efficace et peu coûteuse et donc peut être utilisée dans des applications industrielles bénéfiques et non nocives pour l'environnement.

Mots clés : grignon d'olive, pollution, moisissures, biodégradation, traitement.

Laboratoire de recherche :

Jury d'évaluation :

Président du jury : *M^{me} MOUAS Thoma Nardjes* (MCA - UFM Constantine).

Rapporteur : *M^{me} BOUCHERIT Zeyneb* (Grade - UFM Constantine).

Examineurs : *M^{me} ABDELAZIZ Wided* (MCB - UFM Constantine).

Date de soutenance : 30/06/2020