



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biochimie-Microbiologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Biotechnologie

Option : Biotechnologie Microbienne

Thème

Culture d'isolats fongiques sur les margines

Réalisé par :

M^{lle} BOUDAHA Myriam

M^{lle} BOUDJEMAA Melissa

M^{lle} GHEBRAOUI Nacera

Devant le jury composé de :

Président : M^{me} BENAHMED DJILALI A. Professeur à l'UMMTO.

Promotrice : M^{me} DERMECHE S. Maître de Conférences à l'UMMTO.

Examinatrice : M^{me} BENZAOUZ K. Maître de Conférences à l'UMMTO.

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

Au terme de ce travail et après avoir rendu grâce à DIEU. Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué à finir ce mémoire.

Nous exprimons en premier lieu nos profonds remerciements pour notre promotrice : M^{me} **DERMECHE Samia** pour sa patience, ses conseils et ses orientations pour mener à bien notre travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury
M^{me} **BENAZZOUZ Kinza** et M^{me} **BENAHMED DJILALI Adiba**
pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre travail.

À M^{me} **TALBI NACIRA** qui a eu la gentillesse de nous fournir les isolats fongiques utilisées dans notre étude.

On remercie également le personnel des laboratoires où nous avons pu effectuer notre travail : laboratoire de chimie organique de la faculté des sciences, laboratoire commun de physico-chimie et laboratoire LABAB plus particulièrement son Directeur, Monsieur **HOUALI Karim** et les ingénieures.

A nos familles et nos amis qui par leurs encouragements et leur confiance, on a pu surmonter tous les obstacles.

Enfin, on remercie tous ce qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail.

Dédicaces

Aujourd'hui, j'ai réussi à finir ce modeste travail grâce à DIEU, qui m'a donné la force, la patience, la détermination et le courage pour y parvenir.

Je tiens à dédier ce mémoire à mes chers parents, qui ont grandement contribué à ma réussite, qui m'ont soutenu tout au long de mes études par tous les moyens et à qui je témoigne toute ma reconnaissance.

À ma chère meilleure amie SARAH qui n'a jamais cessé de m'encourager.

Et je dédie toute ma famille, tantes et cousines qui toujours m'envoient leur positivité et bienveillance.

Enfin, je dédie tous mes camarades qui ont contribué à rendre mes années d'études agréables.



Myriam

Dédicaces

A l'aide de dieu j'ai pu réaliser ce modeste travail
que je dédie à mes plus chers êtres au monde

Tout d'abord et spécialement à ma chère mère pour son chaleureux encouragement,
sa tendresse, sa douceur, sa disponibilité et ses sacrifices durant toute ma vie .

A mon cher père , pour son soutien son aide et sa compréhension.

A mes chers frères GHILES et LYES ma fierté dans cette vie.

A la mémoire de ma grande mère DAHBIA qui été toujours fière de moi.

A ABDLKRIM une personne trop cher a mon cœur .

A mes très chères camarades (MYRIAM, OUIZA, AMIRA, DALILA, LILA..)

A mes professeurs.

A mes amis.

A vous ...



Melissa

Dédicaces

A ma très chère mère, Je dédie ce modeste travail à l'être le plus cher à mes yeux, à la femme qui ma toujours soutenu et encouragé durant toutes ces années d'études, à ma source de force et d'affection, à ma raison de vivre, sans toi j'aurai jamais pu réussir mes études, quoi que je dise ou que je fasse je ne saurai te remercier ...

A mon cher père, Je te remercie d'avoir été toujours la pour moi de m'avoir encourager à aller de l'avant , merci pour tous les conseils, pour tous les encouragements et pour tous les incommensur ables sacrifices consentis pour toute ma formation.

A mes chers frères Ramedane & Mayes , les meilleurs des frères. A ma chère sœur Fatima ; ma moitié , qui ma toujours soutenue et encouragé .

A ma deuxième maman ; ma grand mere maternelle MALHA, que j'aime énormément, longue vie à elle.

Je tiens aussi à remercier mes binômes Myriam & Melissa, pour leurs patience et soutenance morale..



Nacira

Résumé

Les sous-produits oléicoles sont des déchets produits lors de la trituration des olives. Ces effluents, regroupent 98% des composés phénoliques et seulement 2% rejoignent l'huile d'olive. Ils sont généralement rejetés dans la nature sans aucune prise en charge. Le traitement des margines par les micro-organismes semblent être non seulement une solution écologique pour la protection de l'environnement, mais également une voie de leur valorisation lorsqu'elles sont biotransformées en produits d'intérêt. Dans ce contexte, des souches fongiques ont été testées à savoir, une levure isolat et quatre souches de champignons filamenteux : *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavipes*, *Penicillium sp*, *Fusarium sp*, en vue d'évaluer leurs capacités à croître sur les margines dans des conditions aérobies, en tenant compte de deux facteurs importants, l'agitation et la dilution des margines.

Dans un premier temps, l'évaluation de quelques caractéristiques physico-chimiques des margines utilisés, démontre une teneur en eau, en matière sèche, en matière organique et en minéraux de 79,16%, 20,6%, 12,1% et de 8,5 respectivement. En effet, ce sont des effluents très riches en source de carbone et en minéraux nécessaires pour le développement des souches fongiques. Ces dernières ont été mises en culture sur une série agitée (M-AA) et sur une autre série non agitée (M-SA), les deux sur des margines brutes et diluées. La biomasse fongique la plus importante résulte de la culture M-SA des margines brutes avec *Fusarium sp*. Le dosage des polyphénols totaux a permis d'estimer la quantité des polyphénols qui se retrouve dans les extraits obtenus de chaque culture fongique, la concentration en polyphénols sait avérer augmenté dû à la dégradation des CP plus complexes. La teneur la plus élevée est enregistrée pour la culture M-SA diluée conduite avec *Fusarium sp*, suivie de celle d'*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavipes*, la levure isolat et de la culture mixte. Les résultats des tests DPPH et ABTS effectués sur les extraits obtenus par les cultures fermentées ont démontré pour la plupart d'entre eux des activités antioxydantes faibles par rapport aux témoins. L'analyse infrarouge a permis de noter des variations au niveau des pics spectraux après fermentation des margines.

La diminution ou l'augmentation notée pour l'activité antioxydante des extraits, par rapport au témoin, ainsi que la variabilité des pics obtenus avec l'analyse infrarouge, sont révélateurs de la biotransformation ou la dégradation des antioxydants.

Les résultats obtenus sont encourageants, à cet effet, la présente étude mérite d'être approfondie.

Mot clés : Polyphénols, margines, champignons, levure, biodégradation, DPPH, ABTS, oléicoles.

Abstract

Olive by-products are wastes produced during the crushing of olives. These effluents, rich in organic compounds, contain 98% of the phenolic compounds and only 2% reach the olive oil. They are generally rejected in nature without any treatment. The treatment of olive mill wastewater by micro-organisms seems to be not only an ecological solution for the protection of the environment, but also a way of their valorisation when they are biotransformed into products of interest. In this context, fungal strains were tested, namely, a yeast isolate and four strains of filamentous fungi: *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavipes*, *Penicillium sp*, *Fusarium sp*, in order to evaluate their capacity to grow on olive mill wastewater under aerobic conditions, taking into account two important factors, agitation and dilution of olive mill wastewater.

Firstly, the evaluation of some physico-chemical characteristics of the olive mill wastewater used, shows a water, dry matter, organic matter and mineral content of 79.16%, 20.6%, 12.1% and 8.5% respectively. Indeed, these effluents are very rich in carbon and minerals necessary for the development of fungal strains. The latter were cultured on a stirred series (M-AA) and on another unstirred series (M-SA), both on raw and diluted olive mill wastewater. The most important fungal biomass resulted from the M-SA culture of raw olive mill wastewater with *Fusarium sp*. The determination of total polyphenols made it possible to estimate the quantity of polyphenols found in the extracts obtained from each fungal culture, the concentration of polyphenols known to be increased due to the degradation of the more complex PCs. The highest content is recorded for the diluted M-SA culture conducted with *Fusarium sp*, followed by *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavipes*, the yeast isolate and the mixed culture. The results of DPPH and ABTS tests performed on the extracts obtained by the fermented cultures showed for most of them low antioxidant activities compared to the controls. Infrared analysis showed variations in the spectral peaks after fermentation of the olive mill wastewater.

The decrease or increase in antioxidant activity of the extracts, compared to the control, as well as the variability of the peaks obtained with infrared analysis, are indicative of the biotransformation or degradation of antioxidants.

The results obtained are encouraging, and the present study deserves to be further investigated.

Key words: Polyphenols, olive mill wastewater, fungi, yeast, biodegradation, DPPH, ABTS, oleiculture.

Table des matières

Remerciements

Résumé

Abstract

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale1

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre 1. Généralités sur les sous-produits oléicoles

1. Origine3

1.1 Historique de l'olivier.....3

1.2 Production de l'huile d'olive3

1.2.1 Récolte d'olive..... 3

1.2.2 Olives3

1.2.3 Huile d'olives.....4

1.2.4 Extraction d'huile d'olives4

1.2.4.1 Opérations préliminaires (nettoyage et effeuillage)4

1.2.4.2 Broyage (ou trituration)5

1.2.4.3 Malaxage.....5

1.2.4.4 Séparation des phases.....5

1.2.5 Procédés d'extraction d'huile d'olives6

1.2.5.1 Système discontinu d'extraction par presse6

1.2.5.2 Système continu d'extraction par centrifugation à trois phases.....6

1.2.5.3 Système continu d'extraction par centrifugation à deux phases.....6

2. Généralités sur les margines.....7

2.1 Description7

2.2 Composition8

2.2.1 Minéraux8

2.2.2 Composés phénoliques.....9

2.2.3 Composés organiques	9
2.2.4 Composés vitaminiques	10
Chapitre 2 : Biodégradation des margines	
2.1 Généralités sur la biodégradation.....	11
2.1.1 Définition.....	11
2.1.2 Bioremédiation.....	11
2.1.3 Biodégradabilité.....	12
2.1.4 Compostabilité.....	12
2.1.5 Différents types de biodégradation.....	13
2.1.5.1 Biodégradation aérobie.....	13
2.1.5.2 Biodégradation anaérobie.....	14
2.1.6 Facteurs affectant la dégradation microbienne.....	15
2.2 Micro-organismes impliqués dans la biodégradation et/ou purification des sites pollués	15
2.2.1 Bactéries.....	15
2.2.1.1 Biodégradation des hydrocarbures, pesticides, insecticides et autres composés.....	15
2.2.1.2 Colorants.....	16
2.2.1.3 Métaux lourds.....	16
2.2.2 Micro-organismes fongiques.....	16
2.2.2.1 Levures.....	17
2.2.2.2 Champignons filamenteux.....	17
2.2.3 Microalgues.....	19
2.3 Biodégradation des margines.....	19
2.3.1 Biodégradation aérobie des margines par des champignons.....	19
2.3.2 Biodégradation anaérobie des margines par des bactéries méthanogènes.....	22
Deuxième partie : Etude expérimentale	
1. Matériel et méthodes.....	24
1.1 Matériel.....	24
1.1.1 Matériel biologique.....	24
a) Margines.....	24
b) Souches fongiques utilisées.....	24
1.1.2 Matériel non biologique.....	25

a) Appareils, verrerie, consommable et autres petits matériels.....	25
b) Milieux de culture et autres produits chimiques utilisés.....	25
1.2 Méthodes.....	26
1.2.1 Analyses des margines.....	26
1.2.1.1 Teneur en matière sèche, organique et minérales des margines.....	26
1.2.1.2 Détermination du pH des margines brutes.....	27
1.2.2 Mise en culture des souches des souches fongiques sur les margines.....	27
1.2.2.1 Préparation des précultures.....	27
1.2.2.2 Préparation des margines pour la fermentation.....	28
1. Inoculation des margines.....	29
2. Evaluation de la biomasse fongique humide.....	29
3. Détermination du pH des margines après cultures.....	30
4. Détermination de la densité optique des margines après incubation.....	30
1.2.3 Préparation des extraits de margines avant et après fermentation.....	31
1.2.3.1 Méthode d'extraction des composés phénoliques.....	31
1.2.4 Dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits.....	32
1.2.5 Evaluation de l'activité antioxydante des extraits.....	33
1.2.4 Infra-rouge des extraits de margines avant et après fermentation.....	34
2. Résultats et discussion.....	36
2.1 Quelques caractéristiques physico-chimiques des margines étudiés.....	36
2.2 Analyse de quelque paramètres physico-chimiques des cultures de margines agitées et non agitées (M-AA) (M-SA).....	37
2.2.1 Évaluation du pH.....	37
2.2.2 Evaluation de la densité optique de margines de chaque échantillon après culture....	38
2.2.3 Détermination de la biomasse humide et de la biomasse sèche des souches fongiques.	38
2.2.4 Dosage des polyphénols totaux.....	40
2.2.5 Evaluation de l'activité antiradicalaire du radical DPPH et ABTS.....	43
1. Evaluation du pourcentage d'inhibition du radical DPPH des extraits de margines après culture	43

2. Evaluation du pourcentage d'inhibition du radical ABTS des extraits de margines après culture.....	46
2.3 Analyse IR des extraits.....	48
Conclusion.....	51

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Figure 1. Récolte d'olive	4
Figure 2. Broyages des olives.....	5
Figure 3. Margines d'olives.....	8
Figure 4. Mécanisme de l'oxydation biologique aérobie.....	13
Figure 5. Schéma général du processus de digestion anaérobie.....	14
Figure 6. Carte géographique du lieu d'échantillonnage des margines.....	24
Figure 7. Photographies de <i>Aspergillus niger</i> après repiquage sur PDA.....	27
Figure 8. Photographies de <i>Penicillium sp</i> après repiquage sur milieu PDA.....	27
Figure 9. Photographies de <i>Fusarium sp</i> après repiquage sur PDA.....	28
Figure 10. Photographies de <i>Aspergillus flavipes</i> après repiquage sur PDA.....	28
Figure 11. Photographies de la levure isolat après repiquage sur PDA.....	28
Figure 12. Photographie montrant l'aspect des disques de mycélium des souches fongiques lors de l'introduction des margines.....	29
Figure 13. Photographie représentative des étapes de filtration.....	30
Figure 14. Diagramme résumant les étapes d'extractions des margines.....	31
Figure 15. Aspect d'un extrait de margines obtenu avec l'acétate d'éthyle.....	32
Figure 16. Représentation du protocole de dosage des polyphénols.....	32
Figure 17. Diagramme récapitulant les analyses effectuées sur les extraits de margines.....	35
Figure 18. Représentation de la matières sèche et de la matière minérale des margines.....	36
Figure 19. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	40
Figure 20. Concentration en polyphénols totaux des extraits de margines brutes et diluées (E-B) (E-D) récupérés à partir des cultures non agitées (M-SA) en mg/ml.....	41
Figure 21. Concentration en polyphénols des extraits de margines brutes et diluées (E-B) (E-D) récupérés à partir des cultures agitées (M-AA) en mg/ml.....	41
Figure 22. Pourcentages d'inhibition des extraits (obtenus avec la dilution 10^{-1}) de margines des cultures agitées du test DPPH.....	43
Figure 23. Pourcentages d'inhibition des extraits (obtenus avec la dilution 10^{-1}) de margines des cultures non agitées du test DPPH.....	44
Figure 24. Pourcentages d'inhibition des extraits, (obtenus avec la dilution 10^{-4}) de margines des cultures agitées du test DPPH.....	44

Figure 25. Pourcentages d'inhibition des extraits, (obtenus avec la dilution 10^{-4}) de margines des cultures non agitées du test DPPH.....	45
Figure 26. Pourcentages d'inhibition des extraits, (obtenus avec la dilution 10^{-1}) de margines des cultures agitées du test ABTS.....	46
Figure 27. Pourcentages d'inhibition des extraits, (obtenus avec la dilution 10^{-1}) de margines des cultures non agitées du test ABTS.....	46
Figure 28. Pourcentages d'inhibition des extraits, (obtenus avec la dilution 10^{-4}) de margines des cultures agitées du test ABTS.....	47
Figure 29. Pourcentages d'inhibition des extraits, (obtenus avec la dilution 10^{-4}) de margines des cultures agitées du test ABTS.....	47

Liste des tableaux

Tableau I. Données bibliographiques sur les avantages et les inconvénients des procédés d'extraction continus de l'huile d'olive.....	7
Tableau II. Composition minérale des margines.....	9
Tableau III. Composition en matières organiques des margines.....	10
Tableau IV. Données bibliographiques récentes sur la biodégradation des margines par les levures.....	20
Tableau V. Données bibliographiques récentes sur la biodégradation des margines par les champignons filamenteux.....	21
Tableau VI. Données bibliographiques récentes sur la biodégradation des margines par les bactéries et les microalgues.....	22
Tableau VII. Données bibliographiques récentes sur la biodégradation anaérobie des margines.....	23
Tableau VIII. Souches fongiques utilisées.....	25
Tableau IX. Différents matériaux utilisés.....	25
Tableau X. Milieu de culture et l'ensembles des produits utilisés.....	26
Tableau XI. Représentation des résultats obtenus pour la teneur en eau, en matière organique et en cendre des margines utilisés.....	36
Tableau XII. Valeurs du pH enregistrées pour les échantillons de margines de la série agitée (M-AA).....	37
Tableau XIII. Valeurs du pH enregistrées pour les échantillons de margines de la série sans agitation (M-SA).....	37
Tableau XIV. Densité optique pour les échantillons de margines avec agitation (M-AA)...	38
Tableau XV. Densité optique pour les échantillons de margines sans agitation (M-SA).....	38
Tableau XVI. Données résumant le poids humide et le poids sec de chaque biomasse produite par la culture fongique avec agitation.....	39
Tableau XVII. Données résumant le poids humide et le poids sec de chaque biomasse produite par la culture fongique sans agitation.....	39
Tableau XVIII. Ensemble des liaisons détectées par l'infrarouge sur les extraits issus de margines.....	48

Liste des abréviations

ABTS	Acide 2,2-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulphinique)
CP	Composés phénoliques
DO	Densité optique
DPPH	2,2-Diphenyl-Picrylhydrazyl
ED	Eau distillée
E-D	Extrait de margines diluées
E-B	Extrait de margines Brutes
IR	Infrarouge
M-AA	Margines avec agitation
M-D	Margines diluées
MM	Matière minéral
MO	Matière organique
M-B	Margines Brute
MS	Matière sèche
M-SA	Extrait de margines sans agitation
pH	Potentiel d'hydrogène
TE	Teneur en eau

Introduction générale

L'olivier *Olea europaea L.* possède une faculté à croître et à produire ses fruits dans diverses conditions de culture grâce à son adaptation aux conditions climatiques les plus critiques. Sa culture est concentrée principalement dans les pays méditerranéens qui tiennent environ 95% de la production mondiale, dont environ 11,62 % au pays du Maghreb (RHRRABTI et EL YAMANI, 2018) et 1.7 % en Algérie (MAROUANE et *al.*, 2014). Il existe plus de cent variétés d'oliviers cultivées aussi bien à des fins cosmétiques, thérapeutiques mais principalement à des fins alimentaires, notamment la production d'olive autant que fruit entier ou encore appelée "olive de table", ou pour la production d'huile d'olive.

Grâce à ces vertus sanitaires et nutritionnelles, la consommation de l'huile d'olive n'a cessé d'augmenter et a fait de l'industrie oléicole une activité économique importante. Les wilayas de Bejaia, Tizi-Ouzou et Bouira présentent 50% de la superficie totale de l'oléiculture en Algérie (LAMANI, 2016). L'olive et l'huile qui en dérivent, ne constituent qu'une part infime de la biomasse produite tout au long de la période oléicole (YEKHLEF, 2019).

Comme toutes les industries agro-alimentaires, l'opération d'extraction nécessite de grandes quantités d'eau. Par conséquent, cette industrie engendre, en plus de sa production principale qui est l'huile, la génération de grandes quantités de résidus. Ces derniers renferment un liquide appelé margines composées de la pulpe des olives et l'eau utilisée durant l'extraction de l'huile (GULLON et *al.*, 2020), et un solide dits grignon comprenant de la coque du noyau d'olive avec des résidus de la pulpe issus de la première pression ou centrifugation (El-ABBASI et *al.*, 2012b ; DERMECHE et *al.*, 2013). Par ailleurs, les quantités de grignons d'olive et de margines dépendent étroitement du procédé de trituration appliqué. De plus, 25kg de feuilles et brindilles sont produits par ans et par arbre (AISSAOUI et *al.*, 2021).

Les margines, ou « eaux de végétation », sont des rejets liquides, considérées comme l'un des effluents les plus nocifs produits par les industries agro-alimentaires (Di MAURO et *al.*, 2019) en raison de leur charge polluante et de leur toxicité pour l'ensemble de l'écosystème due à leur PH acide, et leur richesse en matière organique (MO), en particulier en polyphénols (El-ABBASI et *al.*, 2012b ; DERMECHE et *al.*, 2013). Le grignon aussi est considéré comme un déchet mais moins polluant que les margines.

En Algérie, les effluents liquides (margines) ne subissent en général aucun traitement et sont souvent déversées dans la nature. Il en résulte un impact négatif sur l'environnement qui se traduit par le colmatage des sols, la pollution des eaux superficielles et souterraines et le dégagement de mauvaises odeurs. Les tendances actuelles doivent viser l'intégration de diverses technologies pour traiter les margines à faible coût. Ainsi, le traitement et/ou la valorisation des margines constitue un enjeu majeur des pays Méditerranéens.

Grâce à la biotechnologie, il est possible d'utiliser de manière intelligente les effluents liquides composés de MO, ciblant aussi bien la biodépollution, que l'extraction de biomolécules actives et la bioconversion de ces sous-produits de l'oléiculture en produits d'intérêts. En effet, Ceci insinue la production d'une valeur ajoutée alimentaire ou médical susceptible de couvrir les charges du traitement tout en éliminant les composés nocifs à l'environnement (BARBERA et *al.*, 2013 ; BELAQZIZ et *al.*, 2016 ; MOHAWESH et *al.*, 2019).

Les procédés biologiques innovants restent par excellence les moins coûteux. C'est ainsi que le présent travail de recherche s'est orienté vers l'usage de voies biologiques qui exploitent la flexibilité métabolique des souches fongiques à la dégradation des sous-produits oléicoles.

L'objectif de ce travail vise à tester l'aptitude de souches fongiques à croître sur les margines et étudier leur activité antioxydantes avant et après culture.

Ce travail est subdivisé en trois chapitres, le premier et le deuxième chapitre visent le traitement des données bibliographiques les plus récentes sur le secteur oléicole et la biodégradation des margines, Le chapitre qui suit est portée sur l'étude expérimentale qui englobe matériel et les méthodes adoptés ainsi que la discussion des résultats obtenus.

Première partie
Synthèse bibliographie

Chapitre 1

Généralités sur les sous-produits oléicoles

1. Origine

L'olivier est un arbre béni qui possède une très grande richesse symbolique, il a été considéré comme symbole de la sagesse, de la paix, de la fécondité et de la gloire (ALLOUM, 1987). On peut dire que l'olivier par son huile d'olive, est une source de produits alimentaires cosmétiques et pharmaceutique, et a fait de l'oléiculture l'un des principaux secteurs stratégiques de l'économie en général et de l'agriculture en particulier. L'extraction d'huile d'olive engendre plusieurs sous-produits, par ses grignons une source alimentaire pour le bétail, mais aussi une source de carbone et d'énergie par ses résidus liquides et ses tailles, pouvant servir de substrat pour la croissance de microorganismes dans les procédés biotechnologiques.

1.1 Historique de l'olivier

Selon les études archéologique et paléobotaniques, la domestication de l'olivier avait pris naissance au proche à l'orient au quatrième millénaire avant notre ère (BRETON *et al.*, 2006), il était l'un des premiers et plus vieux arbres fruitiers cultivés utilisés par l'homme dans le monde (LIPHSCHITZ *et al.*, 1991). Son histoire se confond avec celle de la civilisation qui ont vu le jour autour du bassin méditerranéen (RAYAN et ROBARD, 1988), Où que des fossiles datant de la période tertiaire (il y a 1 million d'années) aient prouvé l'existence d'un ancêtre d'un olivier en Italie en Afrique du nord et en Espagne (BOUSKOU, 1988). Il paraît que certains oliviers existaient depuis 5000 ans dans la région qui correspond à l'ancienne Perse et Mésopotamie. L'olivier a poursuivi son expansion au-delà de la Méditerranée avec la découverte de l'Amérique en 1492.

Le premier pool génétique de l'olivier domestiqué était plus susceptible de s'être propagé avec l'agriculture, d'abord au nord-est du levant qui est le berceau de la domestication primaire de l'olivier, puis dans l'ensemble du levant et à Chypre, avant d'être progressivement disséminé en Méditerranée occidentale et au nord de l'Afrique (BESNARD *et al.*, 2013). En Algérie, les Berbères avaient appris des Phéniciens à cultiver l'olivier, cependant, les romains ont permis l'extension des champs aux régions plus arides, considérées jusqu'alors comme peu propices à cette culture. De plus, une foule de mosaïque trouvée en Algérie témoigne de l'importance de l'olivier dans civilisation romaine (CAMPS-FABRER, 1953).

1.2 Production d'huile d'olive

À la différence des autres huiles végétales, l'huile d'olive ne requiert aucune étape de raffinage ni aucune transformation chimique. Grâce à cette simplicité procédurale, l'huile d'olive a pu être fabriquée depuis l'antiquité (C.O.I., 2003 ; OLIVIER *et al.*, 2004).

1.2.1 Récolté d'olive

La cueillette se pratique à la main ou mécaniquement. L'objectif principal est d'avoir une huile de bonne qualité et un fruit sain et frais. Les olives sont ensuite transportés au moulin rapidement pour être triturées.



Figure 1. Récolte d'olive (Anonyme1).

1.2.2 Olives

L'olive est le fruit de l'olivier, une drupe à peau lisse, à enveloppe charnue riche en graisse sa forme ovoïde est typique. Sa couleur, d'abord verte, vire au bleu violacé et au noir à maturité complète, vers octobre novembre dans l'hémisphère nord. Le fruit renferme un endocarpe très dur, osseuse qui contient une graine, quelques fois deux. (GIGON et LE JEUNE, 2010). Sa teneur en huile et la teneur de l'huile en différents constituants varient en fonction du terroir, des pratiques culturales locales, du cultivar et du stade de maturité à la récolte (GIGON et LE JEUNE, 2010).

1.2.3 Huile d'olives

L'huile d'olive est une huile végétale à base de matière grasse obtenue par l'extraction du fruit de l'olivier, uniquement par des procédés physiques et dans des conditions, notamment thermiques, n'entraînant pas d'altération de l'huile. Grace à sa richesse en composés phénoliques (CP), ses vertus bénéfiques à la santé humaine représente un grand intérêt, et varie d'une huile à une autre (BENRACHOU, 2013).

1.2.4 Processus d'extraction d'huile d'olives

Pour connaître les différents sous-produits oléicoles, on doit comprendre les différentes étapes d'extraction d'huile d'olives. La technique a subi de nombreuses évolutions au cours du temps qui peuvent être regroupées en quatre grandes catégories : les évolutions relatives aux opérations préliminaires (nettoyage et effeuillage), au broyage des olives et les évolutions relatives à la séparation des différentes phases. Entre ces deux dernières étapes la pâte d'olive est malaxée afin d'être homogénéisée et de permettre la coalescence des gouttelettes d'huile.

1.2.4.1 Opérations préliminaires (nettoyage et effeuillage)

Une fois les olives cueillies ils arrivent chez un moulinier pour entamer la première étape de fabrication de l'huile d'olive. Les olives stockées dans des box qui sont pesées puis transférées généralement dans un système de laveuse-effeuilleuse.

L'effeuillage s'effectue grâce à une machine munie de ventilation et le lavage est réalisé par trempage des olives dans un bac à circulation d'eau forcée qui va les nettoyer et permettre d'en retirer les impuretés (terre, cailloux, feuilles...).

1.2.4.2 Broyage (ou Trituration)

Après nettoyage et effeuillage, l'olive n'est pas dénoyautée, il est important de conserver son noyau afin de recueillir un acide permettant une meilleure conservation de l'huile. Le broyage des olives a pour but de détruire les cellules des olives afin que celles-ci puissent ensuite libérer leur contenu. Le broyage se fait grâce à une meule en pierre ou un broyeur mécanique afin d'obtenir une pâte d'olive (GHEZLAOUI, 2011).



Figure 2. Broyages des olives (Anonyme 2).

1.2.4.3 Malaxage

L'homogénéisation de la pâte par le biais d'un malaxeur à pâles ou à hélices tournant à faible vitesse permet de réunir les gouttelettes d'huile en un film, facilitant ainsi la séparation future des phases. Les microgouttelettes d'huile qui viennent d'être libérées de leurs lipo-vacuoles cellulaires vont se regrouper afin de former des gouttes de plus grandes tailles qui seront plus faciles à extraire de la pâte. Il est important, lors de cette étape de malaxage, de respecter une température inférieure à 27°C (APARICIO et HARWOOD, 2013)

1.2.4.4 Séparation des phases

Elle se fait par différence de densité entre les fluides (l'huile étant plus légère) pour isoler l'huile des margines. Cette étape est assurée par la décantation naturelle, ou bien par centrifugation aboutissant à une séparation entre l'huile (20 % environ), l'eau et du grignon (MADRPM/DERD,2006).

- **Séparation des phases liquides-solides**

Cette étape consiste à déverser la pâte obtenue suite au malaxage, dans un décanteur ou centrifugeuse horizontale grâce auxquels la séparation entre liquide et solide est effectuée. Le liquide sera récupéré pour la suite de l'extraction, tandis que la pâte sèche résiduelle, les grignons, constituent l'un des deux principaux sous- produits du procédé d'extraction de l'huile d'olive (LABDAOUI, 2017).

- **Séparation des phases liquides-liquides**

Lors de cette étape, l'huile est séparée de l'eau et des éléments solides résiduels soit par simple décantation gravitationnelle, soit par centrifugation. Etant donné que l'huile et l'eau ne peuvent se mélanger, ces deux matières sont donc dissociées (LABDAOUI, 2017).

1.2.5 Procédés d'extraction d'huile d'olives

A travers l'extraction d'une tonne d'huile d'olive, environ trois tonnes de sous-produits sont générées, ces derniers étant dépendant, aussi bien sur le plan quantitatif que qualitatif, de la technique de trituration des olives. Lorsque la technique d'extraction est dite triphasique (discontinu), les sous-produits obtenus sont solides : les grignons et liquides : les margines. Lorsque la technique d'extraction de l'huile est biphasique (continu), les résidus déchets obtenus se présentent sous la forme d'une pâte visqueuse : mélange de grignons et de margines (MORILLO et *al.*, 2009).

1.2.5.1 Système discontinu d'extraction par presse

Traditionnellement, et jusqu'à l'apparition des méthodes modernes d'extraction, l'extraction par presse était l'unique procédé existant. La pression exercée sur la pâte d'olive conduit à la séparation des phases liquides (huile et margines) et solides (grignons). La pâte issue du broyage est étendue en fines couches sur des disques de fibres entassés les uns sur les autres puis placés dans le pressoir. Le pressage, initialement réalisé de façon manuelle, est désormais effectué par des presses hydrauliques plus puissantes et automatisées. La pression est appliquée sur les disques pour sur lesquels sont appliquées des pressions progressives compacter la phase solide de la pâte d'olives et récupérer les phases liquides (huile et eaux de végétation). Une faible quantité d'eau est ajoutée pour faciliter la séparation de l'huile des autres phases. La sous-étape d'extraction par presse produit une fraction solide appelée grignon d'olive. Ce sous-produit, mélangé avec une émulsion qui contient l'huile d'olive, est séparé par décantation du reste de la margines (AOUKLI et CHETOUCHE, 2019). la durée totale de l'opération de pressage réalisée en une seule fois varie entre 45 et 60 minutes (LABDAOUI, 2017)

1.2.5.2 Système continu d'extraction par centrifugation à trois phases

La pâte d'olive obtenue après broyage est acheminée vers une centrifugeuse horizontale séparant le grignon de la phase liquide. Ce dernier, huileux est marginal, est soumis à une centrifugation pour séparer l'huile végétale, divisé en trois étapes comme dans le cas de l'extraction par presse et c'est ainsi que sont obtenus : huile, les grignons et les margines. Ce procédé d'extraction utilise également une eau tiède pour une meilleure séparation des phases (huile et eau). L'intérêt de l'addition d'eau réside dans l'augmentation la fluidité du mélange et favorisant ainsi la séparation des phases liquide et solide par centrifugation (AOUKLI et CHETOUCHE, 2019).

1.2.5.3 Système continu d'extraction par centrifugation à deux phases

Le procédé d'extraction biphasique a été développé durant les années 1990 en vue de réduire le volume des margines. Cela consiste à séparer la pâte d'olives en deux phases : l'huile et le grignon humide. Ce dernier est un sous-produit semi solide qui peut être soumis à centrifugation pour en extraire d'avantage d'huile et par conséquent, aboutir un rendement plus important. En

raison de la réduction de la consommation d'eau, ce système a été surnommé de décanteur économique comparativement aux autres procédés (NADOUR, 2015 ; AOUKLI et CHETOUCHE, 2019).

Tableau I. Données bibliographiques sur les avantages et inconvénients des procédés d'extraction continu de l'huile d'olive.

Technique d'extraction	Avantages	Inconvénients
Extraction par presse (AISSAM, 2003 ; CHIMI, 2006).	<ul style="list-style-type: none"> ● Consommation énergétique moindre. ● Simple méthode. ● Faible coût de l'équipement. 	<ul style="list-style-type: none"> ● Altération de l'huile. ● Coûts élevés de la main d'œuvre. ● Discontinuité du processus. ● Margines toxiques.
Extraction par centrifugation à trois phases (ALBURQUERQUE et al., 2004 ; ROIG et al., 2006)	<ul style="list-style-type: none"> ● Réduction du coût de transformation. ● Faible durée de stockage des olives. ● Production oléicole de moindre acidité. ● Automatisation complète et simplification mécanique. 	<ul style="list-style-type: none"> ● Appauvrissement en composés aromatiques et phénoliques. ● Génère une quantité importante de margines. ● Une consommation élevée d'eau et d'énergie. ● Coûts élevés d'équipements.
Extraction par centrifugation à deux phases (MCNAMARA et al., 2008). (CHIMI, 2006)	<ul style="list-style-type: none"> ● Capacité de traitement élevée (jusqu'à 100 t d'olives / jour). ● Huile plus riche en polyphénols totaux ● Pas d'ajout d'eau pour la séparation des phases huileuse et solides. ● Faibles volumes de margines ● Faibles coûts d'exploitation 	<ul style="list-style-type: none"> ● Charge polluante du grignon humide est plus concentrée.

2. Généralités sur les margines

L'industrie oléicole produit en plus de l'huile d'olive une grande quantité de sous-produit, en moyenne 100 kg d'olives traitées engendrent 100 litres de margines, 35 kg de grignons d'olives et 25 kg de feuilles et brindilles /an/arbre (diamètre des brindilles inférieure à 4 cm) (NEFZAOU, 1986).

2.1 Description

Les margines ou « eaux de végétation » se présentent sous forme d'un liquide visqueux d'une coloration brune noirâtre (figure 3), riche en MO et en polyphénols qui le rendent très toxiques, de pH acide compris entre 4,2 et 5,9 (EROGLU et al., 2008) et une conductivité de l'ordre de 10 ms/cm, due surtout aux ions potassium, chlorure, calcium et magnésium.

Elles sont issues de l'eau contenue dans les cellules de la drupe, les eaux de lavage, et celles liées au processus de traitement du procédé d'extraction. Elles contiennent un pourcentage

d'huile résiduelle et de matière solides provenant de la pâte qui varie selon la technologie d'extraction exercées (GULLON *et al.*, 2020). Les margines présente aussi une quantité très appréciable en polyphénols totaux (PPT). En effet, 53% des composés originaires des olives sont transférés aux margines (NEFZAOUI, 1991 ; AISSAM, 2003 ; SAHLI, 2017).

La qualité des margines est influencée par les conditions climatiques, la situation géographique, la variété d'olives, la saison de récolte, le taux de maturation et le temps de stockage avant trituration des olives. La quantité des margines varie en fonction de la quantité d'eau utilisée lors de l'extraction (LABDAOUI, 2017 ; SAHLI, 2017 ; MEDOUNI-HAROUNES *et al.*, 2018 ; SENANI-OULARBI, 2018).



Figure 3. Margines d'olives (Anonyme 3).

2.2 Composition

Les margines se composent de deux fractions, l'une insoluble (matières organiques 64,6%) essentiellement constituée de pulpes d'olives, y compris des protéines facilement fermentescibles et des acides organiques (KAPELLAKIS *et al.*, 2008). L'autre fraction est soluble et contient les sucres (12%), des lipides (4,2%), les sels minéraux (7,2%) et les composés phénoliques (2,2%) (ROUSSOS, 2009). Selon KAPELLAKIS *et al.* (2008), on y trouve également de petites quantités d'huile d'olive émulsionnée, des substances cireuses et résineuses, de vitamines et de traces de pesticides. Leur toxicité est due à la fraction soluble contenant des CP de type anthocyanes et monomères aromatiques très toxiques mais biodégradables (YAKHLEF et ARHAB, 2019). Par contre, les CP responsables de la coloration noire sont peu toxiques et très difficilement biodégradables (CHIKHI et NAZEF, 2018).

2.2.1 Minéraux

Les margines contiennent des quantités significatives de sels minéraux, dont 80% sont solubles et 20% insolubles (AHRONOV-NADBORNY *et al.*, 2018). Ces précieuses ressources de nutriments minéraux, en particulier le potassium et le phosphore, pourraient être réutilisés comme engrais. Le tableau 2 résume la composition des margines en sels minéraux et leurs concentrations en (mg/L).

Tableau II. Composition minérale des margines (AHRONOV-NADBORNY et *al.*, 2018).

Minéraux (mg/l)	Valeurs
Chlorure	580 ± 90
P- phosphate	100 ± 25
N-nitrate	20 ± 5
N-ammonium	10 ± 3
K	4 200 ± 650
NA	375 ± 60
Ca	260 ± 40
Mg	187 ± 30
Fe	5 ± 1
Mn	1,5 ± 0,1
Cu	0,2 ± 0,1
Zn	3 ± 1

2.2.2 Composés phénoliques

Le terme phénolique est utilisé pour définir des substances qui possèdent au moins un groupement hydroxyle (OH) substitué sur un cycle aromatique. (BRUNETON, 1993 ; BALASUNDRAM et *al.*, 2006).

Les composés phénoliques des margines sont très divers et leur structure est très variable. Ce sont des composés à tendance hydrophile, leur solubilisation dans l'huile est cependant bien inférieure à celle dans la phase aqueuse. En effet, 2% seulement des CP originaires des olives sont transférés à l'huile, 53% aux margines et 45% aux grignons d'olives (GALANAKIS et KOTSIOU, 2017). Les classes les plus importantes sont les acides phénoliques, les alcools phénoliques, les flavonoïdes et les sécoiridoïdes, lignanes, stilbénes, tannins et les lignines (OBIED et *al.*, 2005 ; GALANAKIS et KOTSIOU, 2017).

2.2.3 Composés organiques

La fraction organique des margines à une composition très complexe et hétérogène comprenant :

- les pectines qui jouent un rôle important dans la texture des olives et représentent respectivement environ 3 % et 0,6 % du poids de la pulpe fraîche et la cellulose et la pectine issues de la pulpe d'olives (ZBAKH et EL ABASSI, 2012) ;
- plusieurs sucres simples sont présents : raffinose, mannose, saccharose, glucose, arabinose et xylose (CAPASSO et *al.*, 2002) ;
- la fraction azotée est principalement représentée par des protéines et les acides aminés dont les plus abondants sont les acides aspartique et glutamique, la proline et la glycine (RANNALI, 1991) ;

-les acides organiques, dont les principaux rencontrés sont les acides fumarique, glycérique, lactique, malique et malonique (AISSAM, 2003).

Tableau III. Composition en matières organiques des margines (ZBAKH et El ABBASSI, 2012).

Paramètres	Gamme des valeurs
PH	4,7 - 5,7
Conductivité (ms/cm)	5 – 41
DCO (g/l)	16,5 – 190
DBO 5 (g/l)	41,3 – 46
Résidus sec (g/l)	11,5 - 102,5
Matière organiques (g/l)	16,7 - 81,6
Lipides (g/l)	1,64 - 9,8
Polyphénols (g/l)	0,002 - 11,5
Sucres (g/l)	1,3 - 8,79
Acides organiques (g/l)	0,78 – 1
Azote total (g/l)	0,06 - 0,95

2.2.4 Composés vitaminiques

➤ Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des composés liposolubles associés aux fractions lipidiques des organismes ou des matrices. Ainsi, leur présence dans les margines serait liée aux particules végétales en suspension ainsi qu'à l'huile résiduelle après le procédé d'extraction. L'analyse de la composition des margines en caroténoïdes a permis d'identifier trois isomères et trois xanthophylles cis (formes tout-trans, 13-cis et 9 cryptoxanthine). La lutéine représentant environ la moitié des caroténoïdes totaux (RANNALI, 1991). Leur teneur est en moyenne deux fois plus élevée pour les margines obtenues par centrifugation en trois phases que pour celles obtenues après pressage (RANNALI, 1991).

➤ Vitamine E

Les tocophérols sont des composés liposolubles associés aux fractions lipidiques des organismes ou des matrices. Leur présence dans les margines serait liée aux acides gras. Les teneurs en vitamines E (dont - tocophérol) représente dans les margines 78% des vitamines qui s'y trouvent et qui varie selon les procédés et les variétés d'olives, plusieurs autres vitamines ont été identifiées dans les margines notamment les vitamines du groupe B et la vitamine B3 (également appelée vitamine PP) avec une concentration de 124 mg/kg (SALVEMINI, 1995).

Chapitre 2

Biodégradation des margines

2.1 Généralités sur la biodégradation

La biodégradation fait partie du cycle de vie naturel centré sur le carbone sur terre. Les micro-organismes sont capables de dégrader, la biomasse d'origine végétale ou animal, morte ou vivante grâce à leur métabolisme énergétique. Ce dernier est basé sur l'ensemble des réactions et échanges chimiques qui se produisent au niveau cellulaire permettant à la cellule de retirer et transformer l'énergie nécessaire à sa vie ainsi contribuer au cycle de la vie. (LEITAO AL, 2009). On parle de catabolisme pour les réactions de dégradation qui fournissent à la cellule énergie et matière, et d'anabolisme pour les réactions de biosynthèse (GOURDON et BAYARD, 1998). Ainsi, comprendre le processus de biodégradation nécessite l'exploration des micro-organismes impliqués dans ses mécanismes.

2.1.1 Définition

Au sens microbiologique, la « biodégradation » signifie la décomposition de toutes les matières organiques présentes dans des matrices solides ou liquides réalisée grâce aux microorganismes. Ces derniers comprennent principalement des bactéries, des levures et des champignons, et éventuellement d'autres organismes. Ils utilisent la MO afin de produire du matériel cellulaire, de l'énergie, des composés organiques (généralement moins toxiques que les composés parents), du CO₂ et de l'eau. (KRZANA et *al.*, 2006).

Au sens biochimique, la biodégradation est définie comme la réduction catalysée biologiquement de la complexité des composés chimiques. Les substances organiques sont décomposées en composés plus petits par des organismes microbiens vivants (MARINESCU et *al.*, 2009). Lorsque la biodégradation est terminée, le processus est appelé "minéralisation". Cependant, dans la plupart des cas, le terme biodégradation est généralement utilisé pour décrire presque tout changement à médiation biologique dans un substrat (BENNET et *al.*, 2002).

La biodégradation repose sur deux processus : la croissance et le co-métabolisme. Dans la croissance, un polluant organique est utilisé comme seule source de carbone et d'énergie. Ce processus se traduit par une dégradation complète (minéralisation) des polluants organiques. Le cométabolisme est défini comme le métabolisme d'un composé organique en présence d'un substrat de croissance utilisé comme principale source de carbone et d'énergie (FRITSCHER et HOFRICHTER, 2008).

Le phénomène de biodégradation peut être effectué dans des conditions aérobies avec la présence d'oxygène ou dans des conditions anaérobies en l'absence d'oxygène (MROZIK et *al.*, 2008). Bien que le processus varie le produit final de la dégradation est généralement le dioxyde de carbone (PRAMILA et *al.*, 2012).

2.1.2 Bioremédiation

Le terme biodégradation est souvent utilisé en relation avec l'écologie, dans ce contexte il est appelé « bioremédiation ». La gestion des déchets est principalement associée à l'assainissement de l'environnement (bioremédiation) (MARINESCU et *al.*, 2009). Le processus de bioremédiation peut être divisé en trois phases ou niveaux.

- Premièrement, grâce à l'atténuation naturelle, les contaminants sont réduits par des micro-organismes indigènes sans aucune intervention humaine ;

- En second lieu, la biostimulation est l'introduction d'additifs (nutriments et de l'oxygène) qui sont appliqués aux systèmes de manière à stimuler les microorganismes indigènes et à accélérer la biodégradation de contaminants particuliers par exemple par l'oxydation ou l'ajout d'éléments nutritifs. (DIEZ, 2010) ;
- Enfin lors de la bioaugmentation, des microorganismes de culture dotés de capacités cataboliques particulières sont introduit aux systèmes. C'est une opération permettant ou accélérant la biodégradation de contaminants cibles. Cette technologie est réalisable en respectant certains facteurs nécessaires pour le succès de la bioaugmentation. Le choix des microorganismes doit être fait en tenant compte non seulement de la capacité de la souche à utiliser le polluant d'intérêt dans un délai raisonnable, mais aussi de sa capacité à s'adapter rapidement au nouveau milieu (p. ex. pH, salinité) (SEO et *al.*, 2009).

La biodégradation se produit de façon relativement facile pour la plupart des hydrocarbures pétroliers, les HAP (notamment les HAP affichant un faible poids moléculaire), les BPC et un petit nombre d'HAC (dichloroéthane, chloroéthène) dans des conditions aérobies. Si l'oxygène ne se renouvelle pas facilement, comme c'est habituellement le cas dans les sédiments, la diminution rapide des concentrations d'oxygène dissous due à la respiration microbienne crée des conditions anaérobies. Dans de tels cas, des microorganismes anaérobies peuvent utiliser des accepteurs d'électrons autres que l'oxygène, comme les nitrates, les sulfates, le manganèse (Mn) (IV), le fer (Fe) (III) ou le CO₂ pour continuer la minéralisation des contaminants. Les composés chlorés complexes sont plus faciles à biodégrader dans des conditions anaérobies (JOUTEY N et *al.*, 2013).

2.1.3 Biodégradabilité

La biodégradabilité est la capacité des substances et des matériaux à être dégradés par l'activité enzymatique des micro-organismes. Ces matières biodégradables sont généralement des matières organiques tels que des matières végétales et animales ou d'autres substances provenant d'organismes vivants, ou de matières artificielles suffisamment similaires à ceux utilisés par les micro-organismes (LEITAO, 2009).

Un composé ou matériau est biodégradable s'il présente une biodégradabilité ultime de 90% au bout de 6 mois dans différents milieux test (l'eau douce, l'eau salée et les sols). C'est-à-dire que les résidus ne doivent pas dépasser 10 % de la masse initiale de l'échantillon. De plus, les résidus de la biodégradation ne doivent pas présenter un effet écotoxique (DOMENEK S, 2009).

2.1.4 Compostabilité

La compostabilité est la capacité d'un matériau organique de subir le compostage pour donner un produit final appelé compost. Le compost est donc le résultat d'une biodégradation aérobie (c'est-à-dire qui a lieu en présence d'oxygène) d'un matériau (en général un déchet) organique sous l'action de micro-organismes, le compost mûr ressemble à un terreau fertile et sa richesse en substances organiques en fait un bon fertilisant pour les sols. Le compostage peut être pratiqué à un niveau domestique-amateur, à petite échelle ou industriel (Anonyme).

Un objet compostable est celui capable de se biodégrader en conditions de compostage normalisées et répondant à des exigences spécifiques en termes de désintégration, composition et écotoxicité de ses produits de dégradation. Le matériau doit être dégradé à 90% de sa masse initiale au bout de 6 mois dans un milieu compost industriel. La taille des résidus doit être inférieure à 2 mm au bout de 3 mois de compostage ce qui équivaut à une perte totale de visibilité dans le compost. (Anonyme).

L'absence des effets écotoxiques doit être démontrée ainsi que la qualité agricole du compost obtenu. La méthode recommandée pour démontrer la biodégradabilité ultime est la quantification du CO₂ libéré dans des conditions contrôlées de compostage (NF EN 14046 – ISO 14855) au bout de 6 mois. La biodégradation doit atteindre au moins 90 % de la masse de carbone contenu dans le matériau initial ou 90% du niveau atteint par un matériau de référence sous les mêmes conditions. Le matériau de référence doit montrer une biodégradation de 70% en 45 jours (DOMENEK S, 2009).

2.1.5 Différents types de biodégradation

2.1.5.1 Biodégradation aérobie

La digestion aérobie consiste à dégrader par voie biologique les polluants organiques grâce aux microorganismes qui consomment l'oxygène dissout dans l'eau polluée en modifiant l'équilibre naturel. Cela peut se faire par oxydation grâce à l'oxygène fourni par une source externe ou avec la présence d'oxygène dans l'air (DHAOUADI, 2008).

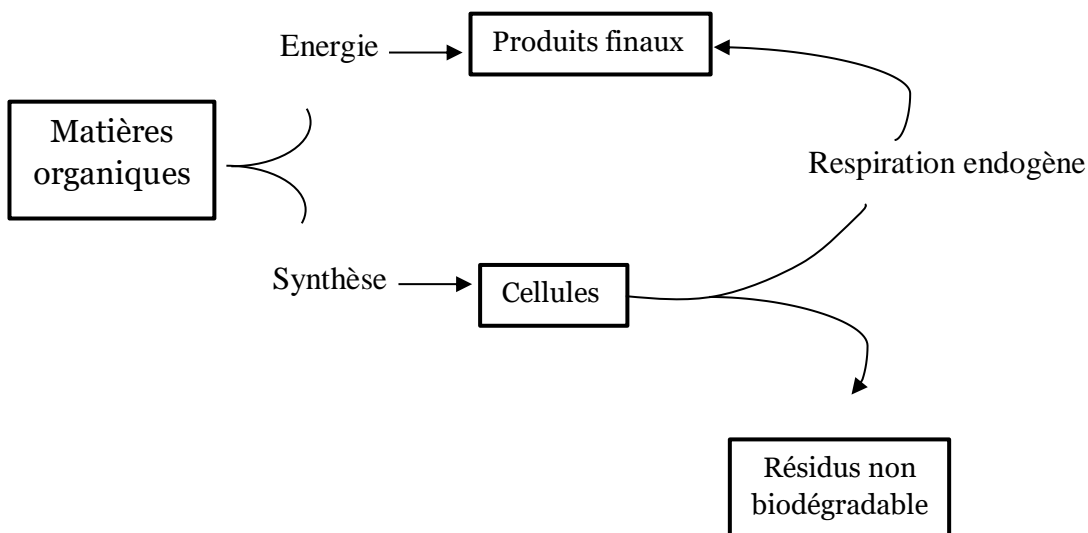


Figure 4. Mécanisme de l'oxydation biologique aérobie (DHAOUADI, 2008).

2.1.5.2 Biodégradation anaérobie

La dégradation de la matière organique dans des conditions anaérobies est un processus microbien complexe qui nécessite la coopération syntrophique de bactéries anaérobies et d'archées méthanogènes. Les biopolymères complexes seront hydrolysés et fermentés, et les produits formés sont utilisés par les méthanogènes. Le résultat final de cette décomposition est le CH₄ et le CO₂ (DAVE, 2010).

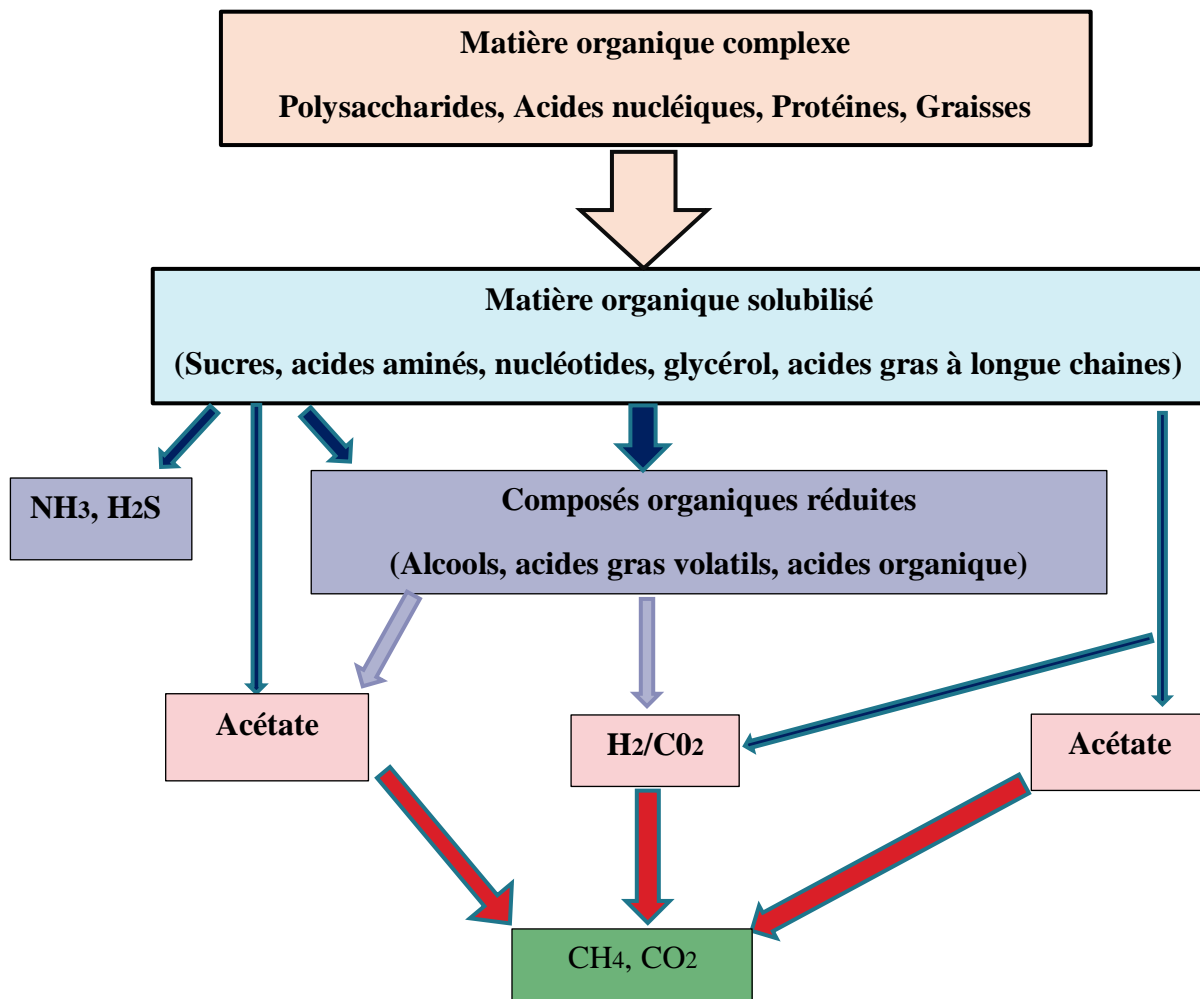


Figure 5. Schéma général du processus de digestion anaérobie (DAVE, 2010).

- Biométhanisation

C'est un procédé biochimique de fermentation dans lequel les substances organiques telles que des protéines, des composés azotés non protéiques, des sels et matériaux non fermentescibles, les lipides ou les hydrates de carbone sont dégradées par fermentation. Ce traitement demande peu d'énergie et produit peu de rejets que le traitement biologique aérobie (AMRANI et BENDIDI, 2014). Il aboutit à la formation de gaz (CO₂, CH₄, H₂S, NH₃), de corps microbiens, de déchets stabilisés et déshydratés et de l'eau (ANGELIDAKI et *al.*, 2011).

La fermentation méthanique est réalisée par un ensemble extrêmement complexe d'espèces bactériennes qui, dans des conditions d'environnement bien précises (potentiel redox inférieur à - 350 mV, pH voisin de la neutralité), forment des associations stables (GODON, 2008).

2.1.6 Facteurs affectant la dégradation microbienne

Les micro-organismes peuvent dégrader de nombreux polluants organiques grâce à leur machinerie métabolique et à leur capacité à s'adapter à des environnements inhospitaliers. Cependant, leur efficacité dépend de nombreux facteurs, comme le potentiel génétique et certains facteurs environnementaux tels que la température, le pH et les sources d'azote et de phosphore disponibles, la nature chimique et la concentration des polluants. Ainsi, les facteurs qui influencent la vitesse, le taux de la biodégradation des polluants par les micro-organismes sont soit liés aux micro-organismes et à leurs besoins nutritionnels (facteurs biologiques), soit associés à l'environnement (facteurs environnementaux) (El FANTROUSSI et AGATHOS, 2005).

2.2. Micro-organismes impliqués dans la biodégradation et/ou la purification de sites pollués

2.2.1 Bactéries

2.2.1.1 Biodégradation des hydrocarbures, pesticides et insecticides

Plusieurs bactéries sont connues pour se nourrir exclusivement d'hydrocarbures. Parmi 80 souches bactériennes isolées par KAFILZADEH et al (2011), celles qui appartenaient à 10 genres comme suit : *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Shigella*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* et *Enterobacter*, aient les meilleures bactéries dégradant les hydrocarbures.

Des souches bactériennes capables de dégrader les hydrocarbures aromatiques ont été isolées par plusieurs chercheurs, principalement à partir du sol. Ce sont généralement des bactéries gram négatives, comme *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Corynebacterium*, *Aeromonas*, *Rhodococcus* et *Bacillus* (MROZIK et al., 2003).

Les communautés microbiennes mixtes ont le potentiel de biodégradation le plus puissant, car l'information génétique de plus d'un organisme est nécessaire pour dégrader les mélanges complexes de composés organiques présents dans des zones contaminées (FRITSCHÉ et HOFRICHTER, 2005). En effet, les bactéries anaérobies et aérobies sont capables de biotransformer les BPC (ZUHLKE et al., 2020). Les PCB fortement chlorés sont soumis à une déshalogénéation réductrice par des micro-organismes anaérobies (PATUREAU et al., 2011).

L'élimination efficace des pesticides par l'ajout de bactéries avait déjà été signalée pour de nombreux composés, comme pour l'atrazine par *Providencia stuartii* isolée à partir d'un sol agricole (STRUTHERS et al., 1998), le chlorpyrifos (SUREKHA et al., 2008) et des isolats tels que *Bacillus*, *Staphylococcus* et *Stenotrophomonas* provenant de sols cultivés et non cultivés capables de dégrader le dichlorodiphényl trichloroéthane (DDT) (NARASIMHA et VENKATESWARLU, 2008).

Il a été démontré que les bactéries associées aux plantes, telles que les bactéries endophytes et les bactéries rhizosphériques, contribuent à la biodégradation des composés organiques

toxiques dans les sols contaminés et pourrait avoir un potentiel d'ans l'amélioration de la phytoremédiation (DIVYA et al., 2011). De tels systèmes plantes/microbes, sont constitués d'une classe importante de bactéries tel que *Pseudomonas spp.* En effet, plusieurs études ont pu démontrer que la rhizosphère de la végétation dans les champs contaminés contient des bactéries dégradant les HAP, parmi lesquelles deux souches de *Bacillus Lysinii* ont été isolées par MA et al. (2010).

Les microorganismes responsables de la dégradation de PCB ont également été associés à la fois à ceux de la rhizosphère et de la zone racinaire des arbres matures poussant naturellement dans un site contaminé. Ils ont été identifiés comme membres du genre *Rhodococcus*, *Luteibacter* et *Williamsie* (LEIGH et al., 2006). En outre, le fixateur d'azote vivant libre, *Azospirillum lipoférum*, généralement trouvé dans le rhizoplan des plantes cultivées a été utilisé pour la dégradation du malathion qui est l'un des plus grands insecticides organophosphorés au monde (KANADE et al., 2012).

2.2.1.2. Colorants

Des recherches sur des souches bactériennes capables de dégrader les colorants azoïques dans des conditions aérobies et anaérobies ont été largement rapportées (DOS SANTOS et al., 2007). CHAUBE et al (2010) ont utilisé un mélange de bactéries constitué de *Proteus sp*, *Pseudomonas sp*, et *Enterococcus sp* dans la biodégradation et la décoloration des colorant. Cependant, plusieurs chercheurs ont identifié des souches bactériennes uniques qui ont une très grande efficacité pour l'élimination des colorants azoïques, c'est le cas de *Decolorationis Shewanella* (HONG et al., 2007).

2.2.1.3 Métaux lourds

Les métaux lourds ne peuvent pas être détruits biologiquement (aucune « dégradation », modification de la structure nucléaire de l'élément, ne se produit) mais sont seulement transformés d'un état d'oxydation ou d'un complexe organique à un autre (GARBUSU et AIKORTA, 2001). En outre, les micro-organismes ont développé la capacité de se protéger de la toxicité des métaux lourds par divers mécanismes, tels que l'adsorption, l'absorption, la méthylation, l'oxydation et la réduction. Par exemple, le mercure (Hg (II)) peut être biométhylé en méthyl-gazeux par un certain nombre d'espèces bactériennes différentes *Alcaligenes faecalis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Brevibacterium iodinium* (RAMAIAH et al., 2008). En plus des conversions redox et des réactions de méthylation, les bactéries acidophiles du fer comme *Acidithiobacillus ferrooxidans* (TAKEUCHI et SUGIO, 2006) et les bactéries oxydant le soufre sont capables de lixivier de fortes concentrations de Cd, de Cu, de Co et de Zn dans les sols contaminés.

2.2.2 Micro-organismes fongiques

Les microchampignons sont décrits comme un groupe d'organismes qui constituent un groupe extrêmement important et intéressant de microbes eucaryotes aérobies allant des levures unicellulaires aux moisissures. Ils possèdent d'importantes potentialités de dégradation intéressantes pour le recyclage des polymères (par exemple, la lignine) (FRITSCHÉ et HOFRICHTER, 2005).

Les champignons sont les principaux organismes responsables de la décomposition du carbone dans la biosphère. Cependant, contrairement aux bactéries, ils peuvent se développer dans des zones à faible humidité et dans des solutions à faible pH, ce qui les aide à décomposer la MO (SPELLMAN, 2008). Equipés de complexes multienzymatiques extracellulaires, les champignons sont les plus efficaces, notamment pour décomposer les composés polymères naturels. Grâce à leurs systèmes d'hyphes, ils sont également capables de coloniser et de pénétrer rapidement les substrats et de les transporter et redistribuer les nutriments au sein de leur mycélium (MATAVULI et MOLITORIS, 2009).

2.2.2.1. Levures

Les levures sont des champignons qui ont perdu leur capacité à former un mycélium. Plusieurs levures peuvent utiliser des composés aromatiques comme substrats de croissance, mais le plus important est leur capacité à convertir les substances aromatiques de manière cométabolique. Certaines espèces comme la levure de terre *Trichosporon cutaneum* possèdent des systèmes spécifiques d'absorption dépendant de l'énergie pour les substrats aromatiques (par exemple, pour le phénol) (YAGUCHI et al., 2020).

Les représentants typiques des levures utilisant des alcanes comprennent *Candida lipolytica*, *Candida tropicalis*, *Rhodotorula rubra*, et *Aureobasidium (Trichosporon) pollulans*, *Rhodotorula aurantiaca* et *Candida. anobii* lesquelles se sont avérées capables de dégrader le carburant diesel (De CASSIA IRANDA et al., 2007). Les levures sont également signalées pour la biodégradation de l'aniline, c'est l'exemple de *Candida methanosorbosa* BP-6 (MUCHA et al., 2010).

En plus des hydrocarbures aromatiques et aliphatiques, les microchampignons peuvent cométaboliser de nombreux autres polluants organiques aromatiques, notamment les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et les biphényles, les dibenzofuranes, les nitroaromatiques, divers insecticides et plastifiants. Le métabolisme des PCB a également été étudié par les levures *Candida lipolytica* et *Saccharomyces cerevisiae* (FRITSCHÉ et HOFRICHTER, 2000).

2.2.2.2 Les champignons filamenteux

Les champignons filamenteux ont une croissance mycélienne qui leur donne un avantage concurrentiel sur les cellules individuelles telles que les bactéries et les levures, dans les substrats insolubles ils secrètent des enzymes de dégradation extracellulaire pour les aider à se ramifier en plus, la nature extracellulaire des enzymes de dégradation permet aux champignons de tolérer des concentrations plus élevées de produits chimiques et toxiques (BRAAKSMA et al., 2010).

➤ Hydrocarbures, pesticides et plastiques

Parmi les champignons filamenteux participant à la biodégradation des hydrocarbures aliphatiques figurent *Cladosporium* et *Aspergillus* (STELIGA, 2012).

Les champignons filamenteux peuvent dégrader les PCB. Parmi eux, les ligninolytiques ont été spécifiquement étudiés en raison de leurs enzymes oxydo-réductrices spécifiques

extracellulaires. D'autres champignons tels que *l'Aspegillus niger* et les champignons ectomycorhyziens sont capables de dégrader des PCB (JOUTEY et al.,2013).

On signale également que les champignons dégradent le bois, les fibres et une large gamme de produits non celluloses tels que les plastiques, les carburants, les peintures, les colles, les médicaments et d'autres artefacts humains (JOUTEY et al.,2013).

➤ Cellulose, lignine et autres fibres

La biomasse lignocellulosique est constituée de trois composants majeurs : La cellulose, l'hémicellulose et la lignine. Les arbres et les herbes représentent la grande majorité de la biomasse. En moyenne, la biomasse lignocellulosique contient 40-60 % de cellulose, 20- 40% d'hémicelluloses et 10-25 % de lignine (WERTZ, 2010).

La dégradation de la cellulose par les moisissures cellulolytiques, telles que *Aspergillus sp*, *Penicillium sp*, *Trichoderma sp*, est assurée par la production d'enzymes extracellulaires de trois types qui sont nécessaires à l'hydrolyse totale de la cellulose (MOULARAT et al., 2013). Les cellulases fongiques sont les plus étudiées notamment en raison de leurs utilisations potentielles en biotechnologie. Le domaine de fixation des cellulases fongiques comporte 36 acides aminés et se fixe de façon réversible à la cellulose (LINKER et TEERIK, 1996), grâce à la tyrosine qui joue un rôle important dans la fixation du substrat par une interaction hydrophobe (REINIKAINEN, 1994).

La lignine, est extrêmement résistante à la dégradation. En formant des liaisons à la fois avec la cellulose et les hémicelluloses, elle crée une barrière à toutes les solutions ou enzymes, et empêche la pénétration des enzymes lignocellulosiques au sein de la structure lignocellulosique. Les champignons produisant des enzymes lignocellulolytiques sont répandus, et incluent des espèces des genres Ascomycètes (p.ex. *Trichoderma reesei*) et basidiomycètes comme la pourriture blanche (p.ex. *Phanerochaete chrysosporium*) et la pourriture brune (p.ex. *Fomitopsis palustris*) (WERTZ, 2010). De plus, quelques espèces anaérobiques peuvent dégrader la cellulose dans les voies gastro-intestinales des animaux ruminants. La dégradation de la biomasse par ces champignons est réalisée par des mélanges complexes de cellulases, hémicellulases et ligninases (WOICIECHOWSKI et al., 2013).

➤ Métaux lourds

De nombreuses espèces fongiques peuvent également absorber le cadmium, le cuivre, le plomb, le mercure, et le zinc et plusieurs éléments toxiques en les séquestrant dans leur mycélium et leurs spores (AKHTAR, 2013).

➤ Colorants

Les champignons ligninolytiques se sont avérés efficaces concernant la dégradation des colorants (BUMPUS, 2004). Neuf souches de champignons filamenteux ont été isolées par ABRUSCIA et al., (2007). *Aspergillus ustus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus versicolore*, *Penicillium chrysogenum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Alternaria alternata*, *mucor racemosus*, *phoma glomerata* et *Trichderma longbrachiatum* ont pu biodégrader l'émulsion de gélatine avec différents taux de production métabolique de CO₂.

2.2.3 Microalgues

Les microalgues sont capables d'utiliser le CO₂ comme source carbonée et la lumière comme source d'énergie pour l'accumulation lipidique dans des conditions environnementales très spécifique (LI et al., 2008) sous la forme d'acide gras polyinsaturés (FEOFLOVA et al., 2010). Ces microorganismes (rassemblés par la suite sous l'appellation abusive « micro algues » dont la taille varie du micron à la centaine de microns se trouvent en abondance dans les milieux aquatiques (océans, rivières, lacs...). Comme chez les végétaux terrestres, certaines espèces peuvent accumuler, dans certaines circonstances, le carbone absorbé sous forme de lipides (principalement triglycérides), ce qui permet d'envisager d'utiliser ces microorganismes pour produire des biocarburants (CARDORET et al., 2008).

Les microalgues étant communément connues pour leur capacité à effectuer la photosynthèse, sont importantes pour la vie sur terre; elles produisent environ la moitié de l'oxygène de l'air et utilisent simultanément le dioxyde de carbone CO₂, un gaz à effet de serre pour améliorer sa croissance photoautotrophe.

2.3 Biodégradation des margines

Face aux impacts des margines sur l'environnement, certains chercheurs ont opté pour la biodégradation et la valorisation des margines. Ces applications dépendent principalement des caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques de ces effluents (ZENJARI et al., 2006).

Les margines peuvent être utilisées par les microorganismes comme substrat pour leur croissance. Cette croissance n'est possible qu'en présence de conditions physico-chimiques favorables. Les microorganismes peuvent être utilisés à leurs tour comme moyen de fabrication de biomolécules comme les enzymes, les acides organiques, les métabolites secondaires et la biomasse.

2.3.1 Biodégradation aérobie des margines par des champignons

Les margines sont susceptibles d'être dégradées par les microorganismes en minéralisant la MO par voie aérobie (BORJA et al., 1995 ; El HAJJOUJI et al., 2008). Selon GARRIDO HOYOS et al. (2002) une élimination de 65,77 % de la DCO est obtenue sur des margines traitées en aérobiose avec *Aspergillus terreus*. Par ailleurs, *Funalia troggi* a éliminé 70 % de la DCO et 93 % des phénols, alors que *Coriolus versicolor* permet une réduction de 63 % de la DCO et 90 % des phénols.

VINCIGUERRA et D'ANNIBALE (1995) ont obtenu par traitement aérobie avec *Lentinus edodes* une réduction de 75 % du carbone organique total, 66 % des phénols totaux et une décoloration de l'ordre de 45 % après 4 jours d'incubation. En isolant des souches capables de dégrader les tanins, IKEDA et al. (1972) ont montré qu'*Aspergillus niger* reste le microorganisme le plus efficace. Ces mêmes auteurs ont noté que les tanins peuvent être plus ou moins dégradés par des bactéries et des champignons comme *Saccharomyces cerevisiae*, *Mycotorula japonica* et *Penicillium glaucum*. Des souches de *Phanerochaete chrysosporium* ont diminué le taux des polyphénols de 83 % après 12 jours d'incubation (FADIL et al., 2003).

Les tableaux ci-dessous récapitulent les résultats de recherches les plus récentes sur la biodégradation des margines par les levures, champignons filamenteux et les bactéries.

Les levures sont souvent présentées comme des champignons microscopiques mésophile en mesure de croître ou de survivre autant sous des conditions aérobies qu'anaérobies et dans des milieux composés de sources métabolisables de glucide, d'azote, de vitamines et de minéraux.

Par rapport aux bactéries, les levures présentent des éléments favorables quant à leur utilisation en biotechnologie environnementale. Un avantage majeur de leur utilisation est leur tolérance à l'acidité car elle se développent surtout en milieu acide : leur optimum de pH se situe entre 4,5 et 6,5 mais elles tolèrent des valeurs entre 2,5 et 8,0 (BARNETT et al., 1990). De nombreuses études ont été effectuées sur la capacité des levures à dégrader les constituants des margines tel que *Candida tropicalis* qui est capable de réduire la DCO des effluents de margines de 40% à 71% et de réduire les polyphénols de 39% (DIAS et al., 2021). Les recherches de SALGADO et al., (2021) ont démontré que la levure *Magnusiomyces capitalus* était capable de réduire la DCO et les polyphénols de 55,2 et 21,99% respectivement. Le β -carotène est produite en grande quantité par *Rhodotorula glutinis* tout en réduisant 77,6 de la DCO et jusqu'à 91% des polyphénols des margines (LINDNER et al., 2022). D'autres produits d'intérêt sont produits par les levures en utilisant les margines comme substrat tel que les protéines unicellulaire, lipides, acide citrique, acide isocitrique, SCP, lipides intracellulaires, ou entre des enzymes telles que les protéases, lipases (SARRIS et al., 2019 ; HAMIMED et al., 2020).

Tableau IV. Données bibliographiques récentes sur la biodégradation des margines par les levures

Souche	Réduction de la DCO	Réduction des polyphénols	Produits d'intérêt	Références
<i>Candida tropicalis</i>	40% et 71%	35±0,6 (39%)	Lipase, protéase, et lipides intracellulaires.	(DIAS et al., 2021)
<i>Yarrowia lipolytica</i>	20–80%	51%	Protéines unicellulaires Lipides Acide citrique Acide isocitrique SCP, Lipases	(SARRIS et al., 2019 ; HAMIMED et al., 2020)
<i>Rhodotorula glutinis</i>	77,6%	jusqu'à 91 %	β -carotène	(LINDNER et al., 2022)
<i>Trichosporon fermentans.</i>	94.7%	85%	Biodiesel Lipase Polysaccharides	YU et al., (2018) ; BAZZARELLI et al., (2016)
<i>Magnusiomyces capitalus</i>	55,2%	21,99%	lipase	SALGADO et al., (2021)

Les moisissures sont définies comme des microorganismes eucaryotes, hétérotrophes filamenteux, organismes non photosynthétiques, elles sont dépourvues de chlorophylle. Certaines sont des parasites des végétaux et des animaux, d'autres vivent en symbiose avec les plantes, d'autres sont des saprophytes dont la croissance dépend d'un substrat inerte ou en décomposition. Ces micro-organismes sont utilisés dans différents domaines dont la production d'enzymes, produits laitiers, production du roquefort, production d'antibiotiques, production de biocarburants parmi eux on trouve *Penicillium sp* qui est capable de réduire la DCO des margines de 59% d'après (AYEDA et al., 2019).

Tableau V. Données bibliographiques récentes sur la biodégradation des margines par les champignons filamenteux

Souche	Réduction de la DCO	Réduction des polyphénols	Produits d'intérêts	Références
<i>Trametes. Versicolor</i>	58%	80%	Production de laccase et peroxydase	NTOUGIAS et al (2015)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	47%	95 %	Production de laccase et peroxydase	NTOUGIAS et al (2015)
<i>Penicillium sp</i>	59%	————	————	(AYEDA et al.,2019)
<i>Coriolopsis gallica</i>	83,61±1,33	75,52±0,8	Laccase	DAASSI et al (2014)
<i>Bjerkanda adusa</i>	67,5±1,42	70,32±1,54	Enzyme	DAASSI et al (2014)
<i>Trichoderma citrinaviride</i>	36,47±0,84	21,34±1,12	Enzyme	DAASSI et al (2014)
<i>Phanerocheate chrysosporium</i>	62,23±0,87	67,3±0,84	Enzyme	DAASSI et al (2014)

Les microalgues sont exploitées dans le domaine de la biotechnologie industrielle en raison de leur taux de croissance rapide, de leur efficacité photosynthétique élevée, de leur adaptabilité acceptable et de leur nature respectueuse de l'environnement (MOHSENPOUR et al., 2021) et surtout en raison de leur biodiversité qui les place au premier plan des producteurs biologiques de molécule à haute valeur ajoutée notamment lipides de réserve (triglycérides) ou membranaires (phospholipides et glycolipides), protéines, et pigments (LINDER et al.,2022). De nombreuses recherches ont prouvé la capacité de ses microalgues à se développés sur les margines, parmi eux on sites : *Lactobacillus sp*, *Chlorella vulgaris*, *Acutodesmus obliquus*, *Monoraphidium braunii* avec une réduction de polyphénols qui varie entre 12,3 et 17,4% cependant MAAITAH et al (2022) révèle la capacité de *Chlorella pyrenoidosa* à réduire le taux de la DCO de 89% et 90,1% des polyphénols des margines.

Tableau VI. Données bibliographiques récentes sur la biodégradation des margines par les bactéries et microalgues

Souche	Réduction de la DCO	Réduction des polyphénols	Produits d'intérêt	Références
<i>Lactobacillus sp</i> <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	12,62%	_____	l'acide élénoïque et l'hydroxytyrosol	(AYEDA et al., 2019)
<i>Bacillus sp</i>	28,28%	_____	_____	(AYEDA et al., 2019)
<i>Chlorella vulgaris</i>	_____	12,3±6,9	Protéines, lipide, pigment.	LINDER et al (2022)
<i>Acutodesmus obliquus</i>	_____	21,1±0,6	Protéines, lipides, pigments.	LINDER et al (2022)
<i>Monoraphidium braunii</i>	_____	16,7±2,5	Protéines, lipides, pigments.	(LINDER et al., 2022)
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	89%	90,1%	Gras polyinsaturés Biodiesel	MAAITAH et al (2022)

2.3.2 Biodégradation anaérobie des margines par des bactéries méthanogènes

Lors du processus de digestion anaérobie, la MO est progressivement dégradée sous l'action d'un consortium microbien complexe fonctionnant en anaérobiose. Ces microbes, dont certains sont syntrophiques (GERARDI, 2003) et/ou symbiotiques (WILKIE, 2005), sont plus ou moins sensibles à leur environnement (POHLAND et GHOSH, 1971). Quatre principales phases de dégradation de la MO, faisant pour chacune intervenir différents microorganismes, peuvent être différenciées :

- L'hydrolyse des polymères les bactéries convertis les polysaccharides et polyphénols en monosaccharides et phénols ;
- la fermentation des monomères ou acidogénèse, les monomère sont transformés en acides organiques, en alcools et en l'hydrogène et du dioxyde de carbone ;
- Troisième étape est l'acétogénèse, à partir de l'alcools et des acides organiques se fait la production d'acétate, un des précurseurs directs du méthane ;
- Enfin la méthanogénèse.

Les margines contiennent d'une part des substrats très facilement fermentescibles comme les sucres et les acides carboxyliques qui provoquent l'acidification, et d'autre part des composés très difficilement biodégradables et très toxiques pour la flore bactérienne du digesteur et en particulier les bactéries méthanogènes. Ces composés toxiques comme l'acide 16 oléique et les composés aromatiques (ANDREONI et al., 1986), sont très abondants dans les margines et provoquent l'inhibition des bactéries méthanogènes et par conséquent l'accumulation des acides gras volatils, du gaz carbonique et de l'hydrogène (ANDREONI et al., 1986) en étudiant les différents groupes bactériens impliqués dans le processus de méthanisation en présence des

acides phénoliques des margines, ont montré que pour faciliter le démarrage de la méthanisation des margines, le nombre de bactéries méthanogènes devrait être très supérieur à celui des bactéries acidogènes. Ces problèmes d'acidification et d'inhibition peuvent être surmontés en diluant les margines de façon à obtenir une activité lente des bactéries acidogènes et atténuer ainsi l'inhibition des bactéries méthanogènes.

Plusieurs auteurs ont démontré la capacité de certaines souches à biodégrader les margines dans des conditions anaérobies tout en produisant des produits d'intérêt industriels, AIKATERNI et al (2019) ont testé la croissance d'un genre d'algues vertes « *Scenedesmus obliquus* » en synergie avec la microflore endogène des margines pour la production du biohydrogène. HODAIFA et al (2017) ont souligné la réduction de 89% des polyphénols et 88,8% de la DCO sur les margines par *Scenedesmus sp* en produisant des métabolites bioactifs et des lipides.

Tableau VII. Données bibliographiques récentes sur la biodégradation anaérobie des margines.

Souche	Réduction de la DCO	Réduction des polyphénols	Produits d'intérêt	Références
<i>Scenedesmus obliquus</i> + microflore endogène	—	43%	Bio-hydrogène	(AIKATERNI et al., 2019)
<i>Scenedesmus sp</i>	88,8%	89%	Métabolites bioactifs, Lipides	(HODAIFA et al., 2017)

Deuxième partie : étude expérimentale

Matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes

➤ Lieu de l'étude

Le présent travail a été réalisé au sein du laboratoire de recherche de Biochimie Analytique et Biotechnologie (LABAB) de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Faculté des Science Agronomiques et des Sciences Biologiques, durant la période comprise entre début mai et mis juillet de l'année universitaire 2022.

➤ Objectif de l'étude

Dans cette étude, l'objectif principal est l'évaluation de la capacité de quelques souches fongiques à croître sur les margines, puis l'étude de quelques activités biologiques des différents extraits issus de leur fermentation.

1.1 Matériel

1.1.1 Matériel biologique

a) Margines

Lors de cette expérimentation un échantillon de margines, issus d'une huilerie moderne de trituration d'olives par centrifugation à trois phases, situé dans la région de Maâtkas (Tizi-Ouzou) (figure 6) est collecté vers la fin de la campagne oléicole en avril 2022. Ces margines ont été transférées dans des bouteilles en plastique et conservées au congélateur à -20 C jusqu'au moment de leur utilisation.

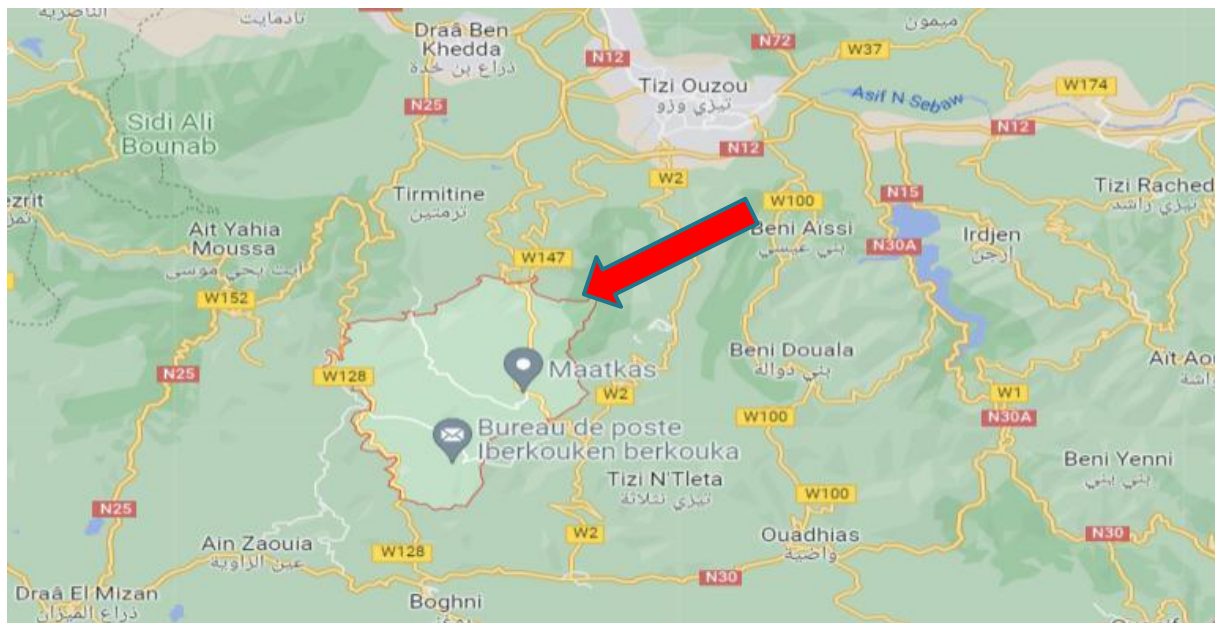


Figure 6. Carte géographique du lieu d'échantillonnage des margines (GOOGLE MAPS, 2022).

b) Souches fongiques utilisées

Des souches fongiques obtenues au sein du laboratoire de recherche LABAB, ont été utilisés pour la fermentation des margines. Le choix des souches utilisées (tableau VIII) est basé sur les recherches bibliographiques indiquant la capacité de ces souches à pouvoir dégrader les différents composés organiques contenus dans ces effluents.

Tableau VIII. Souches fongiques utilisées

Type de Souches	Genre/Espèce	Température d'incubation
Champignons	<i>Aspergillus niger</i>	28 ° C
	<i>Aspergillus flavipes</i>	
	<i>Penicillium sp</i>	
	<i>Fusarium sp</i>	
Levure	Isolat	

1.1.2 Matériel non biologique

a) Appareils, verrerie, consommable et autres petits matériels

Plusieurs appareils, verreries, et petits matériels ont été nécessaires à l'accomplissement de l'étude expérimentale et sont représentés dans le tableau IX.

Tableau IX. Différents matériaux utilisés.

Appareillage	Verreries	Petits matériels
<ul style="list-style-type: none"> - Etuve 28°C, 105°C - Hotte - Four à moufle - Bain marie - Autoclave - Réfrigérateur - Balance - Balance de précision - Spectrophotomètre UV-Visible - Vortex - Agitateur magnétique - Rota-vapeur - Centrifugeuse réfrigéré - Papier PH - Spectroscopie infrarouge 	<ul style="list-style-type: none"> - Bêchers - Entonnoir - Tubes à hémolyse - Fioles jaugées - Erlenmeyers - Tubes à essai - Tubes à centrifuger - Flacons de réactifs - Pissette - Eprovette graduée - Creusets en céramique 	<ul style="list-style-type: none"> - Anse à boucle - Bec bunsen - Pincés, Écouvillon - Passoire, Spatule - Micropipette 1000µl et 200µl - Boites de pétri en verre Et en plastique - Portoirs pour tubes - Eppendorf - Cuves de spectrophotométrie - Filtre pour seringues - Barreaux magnétiques - Embouts jaunes et bleus - Tige barreaux

b) Milieux de culture et produits utilisés

Le milieu de culture et l'ensemble des produits utilisés au laboratoire durant l'étude expérimentale sont représentés ci-dessous (tableau X).

Tableau X. Milieu de culture et l'ensembles des produits utilisés.

Milieu de culture	- Gélose glucosée à l'extrait de pomme de terre (PDA)
Solvants organiques	- Acétate d'éthyle 99,5% - Ethanol 96%
Sels	- Carbonate de sodium (Na_2CO_3) - Persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$)
Réactifs	- Réactif de Folin-Ciocalteu - 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) - 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS)
Produits chimiques	- Acide ascorbique - Acide gallique

1.2 Méthodes

1.2.1 Analyses des margines

1.2.1.1 Teneur en matière sèche, organique et minérales des margines.

Un volume de margines est d'abord séché dans une étuve à 105°C à l'intérieur de creusets préalablement tarés, cela pendant 5h jusqu'à une masse constante afin de déterminer la teneur en matière sèche (MS), celle-ci est ensuite incinérée, dans un four à moufle, à 550°C. Cette opération a été faite en triplicata.

La teneur en eau, en matière organique (MO) et en cendres (MM), exprimée en pourcentage, est donnée par les équations ci-dessous :

- Matière sèche

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

- Teneur en eau

La teneur en eau est déterminée en faisant la différence entre la MS obtenue par évaporation à 105°C et les résidus de cendres issues de la calcination à 550°C pendant 2 heures. Elle est exprimée en g/g de MS.

$$\text{TE} = \frac{(m - m_1)}{m - m_0} \times 100$$

TE : teneur en eau

m : masse des creusets contenant les margines avant séchage

m₀ : masse des creusets vides.

m₁ : masse des creusets et des margines après séchage.

- Teneur en cendres

$$\text{Cendre} (\%) = \frac{m_1 - m_2}{m - m_0} \times 100$$

m_2 : la masse du creuset et des cendres (g).

- Teneur en matière organique

$$MO = MS\% - MM\%$$

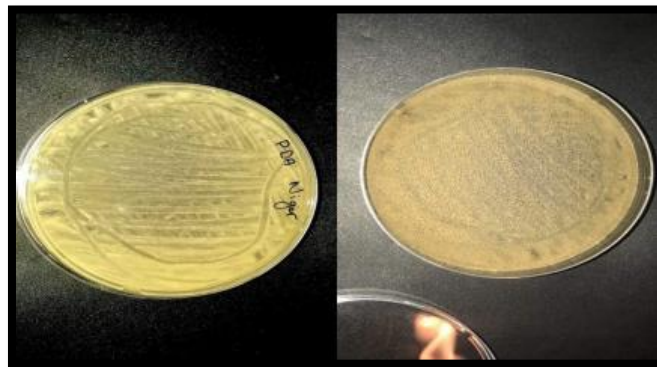
1.2.1.2. Détermination du pH des margines brutes

Le pH des margines a été évalué grâce au papier pH, quelques gouttes de margines sont alors déposées sur ce dernier. Après séchage du papier, le changement de couleurs va indiquer la valeur du pH des margines.

1.2.2. Mise en culture des souches fongiques sur les margines

1.2.2.1. Préparation des précultures

Les souches fongiques utilisées sont repiquées préalablement avant chaque essai afin d'obtenir des cultures jeunes qui vont servir pour inoculer les margines. Dans cette étape, les souches sont repiquées par la méthode des stries serrées à l'aide d'un écouvillon dans le milieu PDA puis incubées dans une étuve à 28°C durant 72 heures.



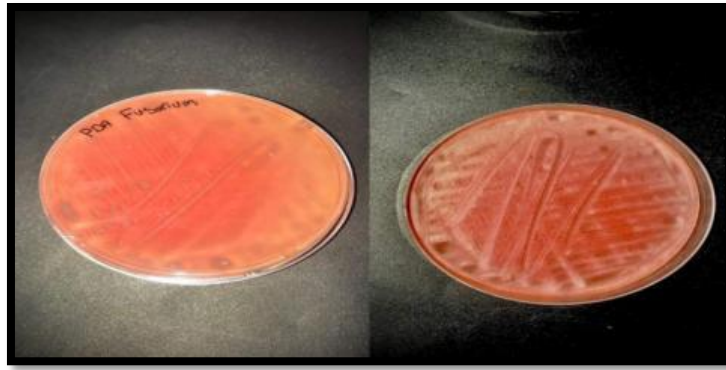
Face supérieure à droite, revers à gauche.

Figure 7. Photographies d'*Aspergillus niger* après repiquage sur PDA.



Face supérieure à droite, revers à gauche.

Figure 8. Photographies de *Penicillium sp* après repiquage sur milieu PDA.



Face supérieure à droite, revers à gauche.

Figure 9. Photographies de *Fusarium sp* après repiquage sur le milieu PDA.



Face supérieure à droite, revers à gauche.

Figure 10. Photographies de *Aspergillus flavipes* après repiquage sur le milieu PDA.



Face supérieure à droite, revers à gauche.

Figure 11. Photographies de la levure isolat après repiquage sur le milieu PDA.

1.2.2.2. Préparation des margines pour la fermentation.

La préparation des milieux de cultures consiste, en premier lieu, à décongeler les margines, diluer une partie avec de l'eau distillée (V/V) et laisser un autre volume à l'état brute. Après autoclavage, suivi d'une bonne agitation, les margines sont réparties équitablement dans 14 erlenmeyers (7 pour les margines brutes et 7 pour les margines diluées).

1. Inoculation des margines

Dans chaque erlenmeyer sont incorporés 5 disques prélevés à partir de chaque jeune culture de champignon de 72h. Une culture mixte est réalisée avec la levure et deux disques de chaque champignon filamenteux. Les cultures ensemencées et le témoin sont ensuite incubés à 28 °C durant 10 jours.

Dans cette étude, deux séries de culture, (chacune en duplicata), ont été effectuées : la première série avec agitation manuelle discontinue et une deuxième sans agitation.

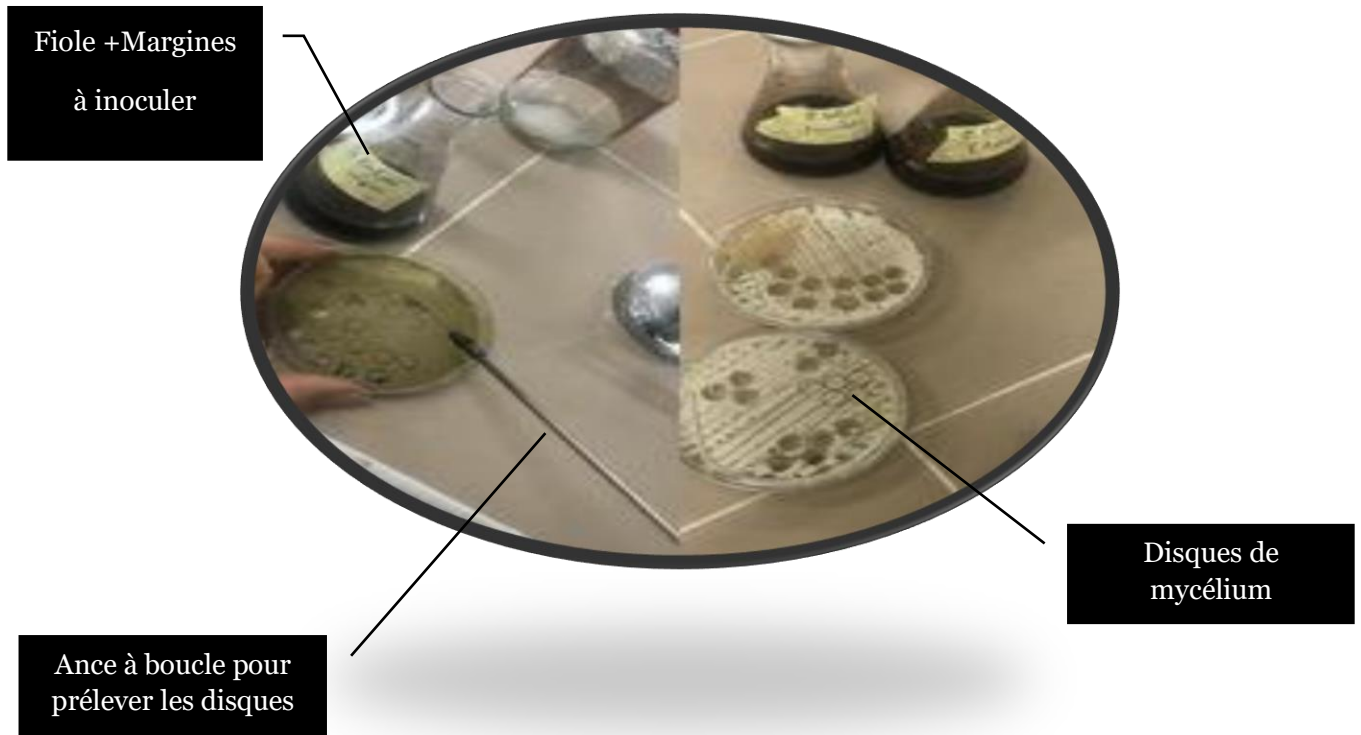


Figure 12. Photographie montrant l'aspect des disques de mycélium des souches fongiques lors de l'inoculation des margines.

2. Evaluation de la biomasse fongique humide

Après incubation des champignons, ceux-ci sont soumis à une filtration à l'aide d'une passoire afin de filtrer la biomasse humide. Quant aux margines, elles sont directement récupérées dans des flacons dédiés à chaque échantillon. La filtration est suivie d'un lavage progressif de la biomasse fongique à l'aide d'eau distillée pour retirer toutes les margines résiduelles. La biomasse fongique est ensuite récupérée dans des tubes ou des boîtes de Pétri en verre pour estimer son poids humide. Le poids sec est enregistré après séchage de la biomasse jusqu'à obtention d'un poids sec constant à 105°C.



- 1 : Filtration des margines
- 2 : Lavage de la biomasse

Figure 13. Photographie représentative des étapes de filtration.

3. Détermination du pH

Le pH des cultures et du témoin a été mesuré grâce au papier pH, quelques gouttes de chaque échantillon sont alors déposées sur ce dernier. Après séchage du papier, le changement de couleurs va indiquer la valeur du pH des margines.

4. Détermination de la densité optique des margines après incubation

Les échantillons de margines sont souvent trop chargés en particules, à cet effet, pour pouvoir mesurer leur DO à 395nm, un volume de chaque culture ou témoin est dilué avec l'eau distillée puis soumis à une microfiltration (0.22µm).

1.2.3. Préparation des extraits de margines avant et après fermentation

Les extraits de margines brutes et de margines traitées avec les souches fongiques, vont servir pour effectuer plusieurs tests afin de comparer les résultats obtenus entre les échantillons traités et le témoin.

1.2.3.1 Méthode d'extraction des composés phénoliques

L'extraction des composés bioactifs des margines a été effectuée avec de l'acétate d'éthyle car il est connu pour être extracteur efficace par rapport à d'autres solvants (BCHERRAWI, 2002). Ayant un moment dipolaire assez important, miscible avec tout mais peu miscible avec l'eau. Il réagit vigoureusement avec les oxydants présents dans les margines (STYRÈNE, 2006). Un soluté polaire aura plus d'affinité pour l'objet le plus polaire parmi le solvant et l'adsorbant (REFFAS, 2010).

Les margines sont d'abord mixées avec de l'acétate d'éthyle (V/V) dans des flacons fermés. Ces derniers sont soumis à une agitation magnétique pendant 1h à température ambiante afin d'homogénéiser le mélange margines-acétate d'éthyle et d'assurer un meilleur contact des

polyphénols avec ce dernier. Le mélange est réparti dans des tubes puis centrifuger pendant 10min dans des conditions réfrigérées (4°C). Après centrifugation, le surnageant (l'acétate riche en composés bioactifs) est complètement séparé du culot (margines) (figure 15). Ce dernier est alors récupéré puis évaporé grâce à un rotavapor rotatif à une température réglée à 55°C jusqu'à obtention d'un extrait concentré à 1 ml de volume. Les extraits sont conservés dans des tube eppendorf à 4°C à l'abri de la lumière afin d'éviter leur oxydation. Le diagramme de la figure 14 récapitule les étapes d'extraction des margines utilisées dans cette expérimentation.

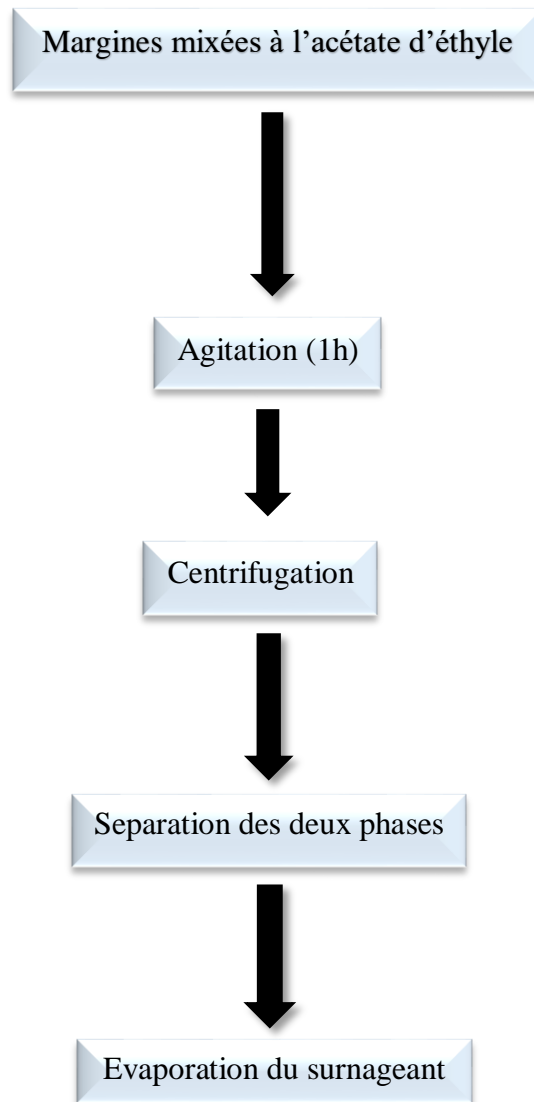


Figure 14. Diagramme résumant les étapes d'extractions des margines.



Figure 15. Aspect d'un extrait de margines obtenu avec l'acétate d'éthyle.

1.2.4 Dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits

Les teneurs en polyphénols contenus dans les différents extraits obtenus à partir des échantillons de margines diluées et brutes, cultures agitées et non agitées, témoins ou fermentées, ont été estimés par la méthode de Folin-Ciocalteu selon MACHEIX *et al.*, 1990 (figure 16). Le principe est la réduction des polyphénols par l'acide phosphomolybdique du réactif de Folin-Ciocalteu dans un milieu alcalin, ce qui se traduit par l'apparition d'une coloration bleu foncé. La concentration des polyphénols est déterminée après lecture de la DO à 750 nm, en se référant à une courbe étalon (figure 19) établie à partir d'une série de solutions standards d'acide gallique réduits par le réactif de Folin-Ciocalteu (annexe 1).

- **Mode opératoire**

Un volume du réactif de Folin-Ciocalteu est ajouté à chaque extrait dilué, après 5 min à l'obscurité, une solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (20%) est additionné dans chaque échantillon. Après 20 minutes dans une étuve à 40°C, l'absorbation est mesurée à 750 nm au spectrophotomètre contre un blanc sans extrait.

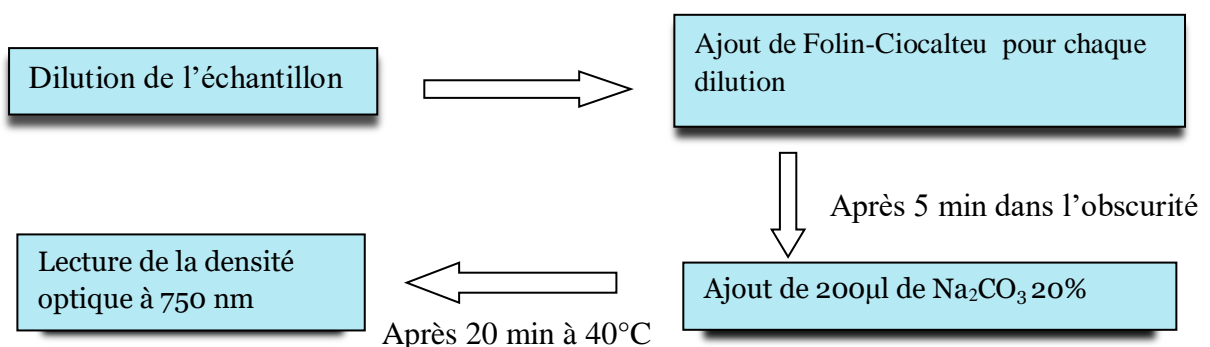


Figure 16. Représentation du protocole de dosage des polyphénols (MACHIX *et al.*, 1990).

1.2.5 Evaluation de l'activité antioxydante des extraits

Afin d'évaluer l'activité antioxydante des composées phénoliques des extraits de margines, nous avons opté pour deux méthodes les plus rapides et faciles à mettre en œuvre comparées à d'autres méthodes, car elles s'effectuent dans des températures ambiantes.

➤ Test DPPH

• Principe

Les antioxydants sont des composés chimiques qui empêchent le processus d'oxydation dans l'organisme, car ils ont la capacité de piéger les radicaux libres. Dans cette méthode, l'activité antiradicalaire est mesurée grâce au radical libre stable le 2,2 Diphenyl -1- Pycryl-Hydrasyle (DPPH), qui possède un électron célibataire délocalisé, ce qui lui confère une coloration violette. La diminution de l'intensité de cette couleur, mesurée par densité optique à 517nm, indique la présence d'un antioxydant dans le milieu qui fixe un proton sur le DPPH, lorsqu'il est réduit, sa coloration devient jaune pâle (GULCIN et *al.*, 2003).

• Mode opératoire

L'effet anti-radicalaire des échantillons étudiés vis-à-vis du radical DPPH est réalisé selon la méthode de BRAND WILLIAMS et *al.*, 1995). La solution du DPPH est préparée par solubilisation de DPPH dans l'éthanol suivie d'une agitation pendant 30 min à l'obscurité. Un volume de l'extrait est ajouté à 1ml de DPPH. Le mélange est bien homogénéisé au vortex et laissé à l'obscurité durant 30 min. L'absorbance est mesurée à 517 nm contre un blanc sans extrait.

• Méthode d'évaluation des résultats

Le contrôle positif est représenté par une solution d'acide ascorbique synthétique (vitamine C) comme un antioxydant standard.

La diminution de l'absorbance est évaluée par le pourcentage d'inhibition (% I) qui permet d'évaluer l'IC50 (quantité équivalente en extrait qui neutralise 50% du DPPH·). Plus le pourcentage d'inhibition est élevé plus la valeur de l'IC50 est petite et plus la capacité antioxydante est élevée.

Le pourcentage de l'activité anti-radical DPPH est calculé selon l'équation suivante :

$$I (\%) = [(A0 - A1)/A0] \times 100$$

Avec :

A0 : absorbance du DPPH en absence de l'échantillon

A1 : absorbance de la solution en présence de l'extrait

I : pourcentages d'inhibition des radicaux libres

➤ Test ABTS

Tout comme le DPPH, l'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS) est un composé chimique qui a également été utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des

extraits de margines, en évaluant leur capacité à piéger le radical cationique ABTS⁺ et donc à ralentir ou inhiber son action.

- **Principe**

Lors de la mise en œuvre de ce test, l'ABTS incolore est préalablement oxydé avec du persulfate de potassium (K₂S₂O₈) pour former le radical cationique ABTS⁺ de coloration bleu-vert. L'addition d'un composé antioxydant donneur de protons engendre la réduction du radical ABTS⁺ en ABTS. L'activité antioxydante est déterminée par la décoloration de la solution et s'exprime par le pourcentage d'inhibition (PI) de l'absorbance à 734 nm, longueur d'onde à laquelle le radical ABTS⁺ présente une bande d'absorption caractéristique (OSMAN *al.*, 2006 ; MOON et SHIBAMOTO, 2009). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard d'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les extraits de margines.

- **Mode opératoire**

Une solution mère d'ABTS stable est préparée en mélangeant une solution aqueuse d'ABTS avec le persulfate de potassium préalablement préparé. Le mélange est laissé à l'obscurité et à température ambiante pendant 12 à 16 heures. Pour la réaction une quantité de cette solution est ensuite diluée avec l'éthanol afin d'obtenir une absorbance de 0,80 à 734 nm. Enfin, un volume de cette solution est ensuite ajoutée à chaque extrait, convenablement diluée ou un standard (acide ascorbique) à la même concentration, après 6 min l'absorbance est notée à 734 nm, en se référant à un témoin sans extrait.

- **Méthode d'évaluation des résultats**

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (PI) du radical ABTS⁺ donné par la formule suivante :

Avec :

$$PI (ABTS^+) = [(AC-AE) / AC] \times 100$$

- PI (ABTS⁺) : pourcentage (%) d'inhibition du radical ABTS⁺
- AE: absorbance de l'échantillon ou standard testés.
- AC: absorbance du contrôle sans extrait.

1.2.6 Infrarouge des extraits de margines avant et après fermentation

Tout composé organique possède une signature qui lui est unique. La spectroscopie infrarouge permet de mesurer l'absorption du rayonnement, dans la région allant de 4000 à 400 cm⁻¹. Les bandes d'absorption IR sont dues principalement aux vibrations fondamentales des molécules. Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et une diminution de l'intensité réfléchiée ou transmise sera enregistrée. Pour déterminer les diverses fonctions à la surface des extraits issus des margines par la spectroscopie IR par absorption, l'ensemble des échantillons (brutes et diluées) de la culture agitée et non agitée a été analysé à l'aide d'un spectrophotomètre IR de marque SHIMADZU.

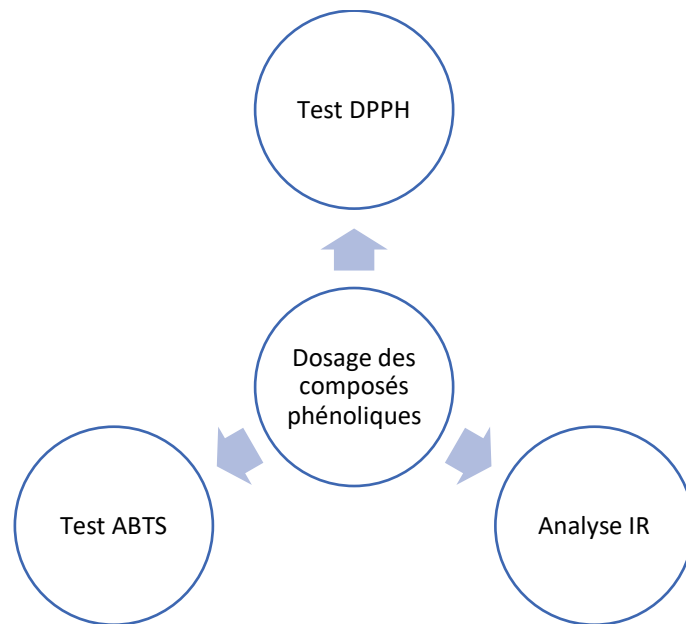


Figure 17. Diagramme récapitulatif des analyses effectuées sur les extraits de margines.

Résultats et discussion

2. Résultat et discussion

2.1. Quelques caractéristiques physico-chimiques des margines étudiées

Le tableau ci-dessous montre quelques caractéristiques des margines étudiées, à savoir la teneur en matière sèche, en cendres, en eau et en matière organique.

Tableau XI. Représentation des résultats obtenus pour la teneur en eau, en matière organique et en cendres des margines utilisées.

Paramètre	Teneur en eau (TE)	Teneur en matières sèche (MS)	Teneur en cendres (MM)	Teneur en matière organique (MO)	pH
Résultats (%)	79,16	20,6	8,5	12,1	5,6

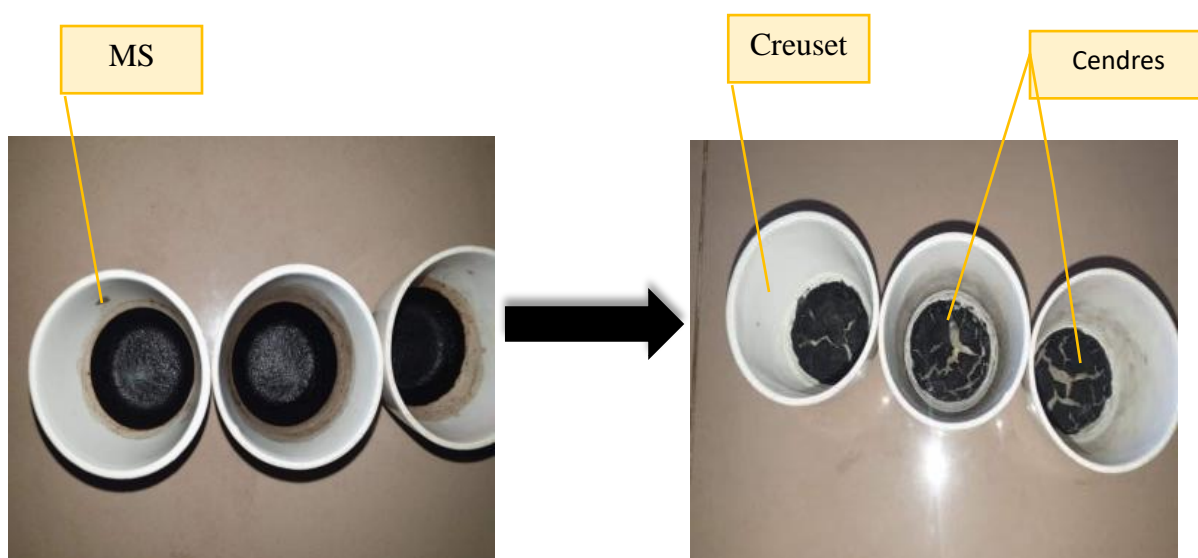


Figure 18. Représentation de la matière sèche et de la matière minérale des margines.

Les résultats démontrent une teneur en eau des margines d'une moyenne de 79,16%. Cette teneur montre la richesse en eau de ces effluents. Cette valeur est inférieure à celles retrouvées par plusieurs auteurs comme OUGIR SIHAM, (2016) qui a rapporté des teneurs de l'ordre de 84,9 g/l. Une teneur de 89% pour des margines rouges et 94% pour des margines noir ont été rapportées par MBOURMAD, (2011). AIT AMEUR et BOUZIDI (2013) ont trouvé des teneurs de 88,73 % et 91,95% pour les deux sortes de margines. De même pour les résultats de OUABOU (2014), qui sont de 86, 87,6 et 87,3 % notés pour trois échantillons de margines différents.

Contrairement aux matières organiques, les minéraux ne se volatilisent pas sur des hautes températures. Le tableau XI permet de visualiser le pourcentage en cendres informant sur la teneur en minéraux. La teneur en cendres a été évaluée à 8,5%, ce résultat se rapproche avec les résultats trouvés par AMAROUCHE ET BOUMKHILA (2019) (9,11%) pour le système d'extraction moderne. La teneur en MO est de 12,1%, cette valeur se situe dans la gamme rencontrée dans la littérature qui varie entre 2 et 12,9 % (BELAID,2006).

D'après les résultats obtenus, on remarque que les margines étudiées sont riches en matières minérales et organiques. Des différences avec les résultats de différents auteurs sont remarquées. Ces différences peuvent être expliquées par l'effet variétal, les engrais apportés, l'irrigation, la date de récolte, la nature de sol, quelle que soit l'origine de la margine.

2.2. Analyse de quelques paramètres physico-chimiques des cultures (M-AA et M-SA)

2.2.1. Évaluations du pH

D'après les tableaux XII et XIII, il est constaté que les échantillons, des témoins brutes et dilués ainsi que les fermentations, ont un pH relativement acide. Selon AISSAM (2003), leur résultat pour le pH mesuré sur les margines, en plusieurs manipulations, montre un pH acide d'une valeur de l'ordre de 4,5. Cette acidité est due à la présence d'acides organiques comme les acides phénoliques et les acides gras (AMMARAL *et al.*, 2008 ; ASFI *et al.*, 2012). ESMAIL *et al.* (2014) rajoutent que l'acidité des margines résulte des réactions d'auto-oxydation et de polymérisation qui transforment les alcools phénoliques en acides phénoliques et ainsi qu'à la fermentation des sucres.

Tableau XII. Valeurs du pH enregistrées pour les échantillons de margines de la série agitée (M-AA).

Souche / Échantillon	Temoin+	<i>Penicillium sp</i>	<i>A. niger</i>	<i>A.Flavipes</i>	<i>Fusarium Sp</i>	Levure isolat	Mixte
Brut	4	4	4	4	4	4	4
Dilué	5,5	5	5	5	5	5	4

Tableau XIII. Valeurs du pH enregistrées pour les échantillons de margines de la série sans agitation (M-SA).

Souche / Echantillon	Temoin +	<i>Penicillium sp</i>	<i>A. niger</i>	<i>A.Flavipes</i>	<i>Fusarium sp</i>	Levure isolat	Mixte
Brute	4	4	4,5	4,5	4,5	4	4,5
Dilué	5,5	5	5	5	5	5	5

Des résultats relativement proches, ont été trouvés par BOURMAD, (2011) (4,92 des margines rouge et 4.63 des margines noir), KAPPELLAKISET *al.* (2008) (4.5 et 4.9), SENANI, (2018) (4,88 pour les margines de Tizi-ouzou) et ESMAIL *et al.* (2014) (OUZZANE et FES BOULMAN 4,65 et 4,77).

Ces résultats montrent que les margines étudiées sont des effluents acides. Les valeurs du pH des témoins n'ont pas eu de changement au vu de l'absence de microorganismes.

On remarque que le pH est plus bas sur les cultures des margines brutes que sur les cultures des margines diluées. Cela peut s'expliquer d'une part par la dilution des margines. D'autre part, la variation des pH entre les cultures des différentes souches peut s'expliquer par le métabolisme microbien qui se caractérise par deux phases, catabolisme où les souches fongiques dégradent les composés du milieu de culture tels que les acides phénoliques contenus dans les margines, ou de certains composés qui seront utilisés dans la phase d'anabolisme.

Dans cette dernière, les microorganismes synthétisent leurs propres cellules mais secrètent aussi des métabolites en relation avec leur croissance ou non comme les acides citrique et acétique qui peuvent dans cette phase acidifier le milieu.

Cette élévation du pH des margines traitées par rapport aux valeurs initiales a été observée par plusieurs auteurs (FOUNTOULAKIS *et al.*, 2002 ; FADIL *et al.*, 2003). De même, au cours du traitement aérobie des margines par les micro-organismes du sol où ZENJARI *et al.* (1999) ont observé que le pH passe de 7,1 à 8,4.

Par ailleurs, l'étude de GHORABE et BADAOU (2021) sur la biodégradation des margines par la levure *Y. Lipolytica*, a montré qu'au début le pH a légèrement augmenté mais après 72h le pH avait diminué jusqu'à 5,07, ce qui correspond aux résultats de notre étude.

2.2.2. Evaluation de la densité optique des margines de chaque échantillon correspondant à chaque souche.

Les valeurs de la DO des différentes cultures fongiques sur les margines sont supérieures à la DO trouvée pour les témoins, ce qui indique une augmentation de l'intensité des pigments liée soit au phénomène de polymérisation ou bien à la sécrétion de pigments microbiens. Les valeurs de la DO des échantillons issues de MA brutes (MA-B) sont plus élevées que celles issues de MA diluées (MA-D), ceci est due au fait que la dilution rend l'échantillon moins opaque ou moins riche en tannins responsables de la coloration brune des margines.

Tableau XIV. Densité optique notée pour les échantillons de margines avec agitation (M-AA).

Souches fongiques utilisées	DO (nm)	
	MA-P	MA-D
Témoin	0,41	0,26
<i>Penicillium sp</i>	0,63	0,49
<i>Aspergillus niger</i>	0,50	0,43
<i>Aspergillus flavipes</i>	0,80	0,59
<i>Fusarium sp</i>	1,00	0,68
Levure isolat	0,85	0,63
Culture mixte	1,10	0,90

Tableau XV. Densité optique notée pour les échantillons de margines sans agitation (M-SA).

Souches fongiques utilisées	DO (nm)	
	MA-P	MA-D
Témoin	0,39	0,22
<i>Penicillium sp</i>	0,64	0,52
<i>Aspergillus niger</i>	0,58	0,52
<i>Aspergillus flavipes</i>	0,84	0,68
<i>Fusarium sp</i>	0,53	0,41
Levure isolat	0,83	0,56
Culture mixte	0,79	0,59

2.2.3 Détermination de la biomasse humide et de la biomasse sèche des souches fongiques.

Les données, présentées par les tableaux XVI et XVII, indiquent une différence nettement remarquable entre la biomasse fongique produite sur les cultures M-SA et M-AA. Globalement, la majorité des poids humides et secs mesurés sur M-SA sont supérieurs à ceux de la série M-AA, notamment pour les trois souches *Fusarium sp*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavipes*. Les cultures stationnaires ont permis aux champignons de former un tissu de filaments bien visible grâce à la sécrétion de différents enzymes qui dégradent les différents composés du milieu de culture. Cependant, *Penicillium sp* a mieux poussé sur les margines agitées.

Tableau XVI. Données résumant le poids humide et le poids sec de chaque biomasse produite par la culture fongique avec agitation.

Souches fongiques utilisées	Poids humide (g)		Poids sec (g)	
	M-B	M-D	M-B	M-D
Témoin	0	0	0	0
<i>Penicillium sp</i>	4,00	4,01	0,27	0,15
<i>Aspergillus niger</i>	5,02	3,89	0,31	0,22
<i>Aspergillus flavipes</i>	5,68	4,70	0,29	0,31
<i>Fusarium sp</i>	6,99	3,89	0,28	0,20
Levure isolat	ND	ND	ND	ND
Culture mixte	1,03	1,97	0,55	1,38

ND / Non déminée.

Tableau XVII. Données résumant les poids humides et le poids sec de chaque biomasse produite par la culture fongique sans agitation.

Souches fongiques utilisés	Poids humide (g)		Poids sec (g)	
	M-B	M-D	M-B	M-D
Témoin	0	0	0	0
<i>Penicillium sp</i>	4,99	3,20	0,38	0,22
<i>Aspergillus niger</i>	5,69	5,03	0,52	0,43
<i>Aspergillus flavipes</i>	6,33	5,60	0,69	0,50
<i>Fusarium sp</i>	5,67	3,28	0,51	0,16
Levure isolat	0	0	0	0
Culture mixte	5,80	4,99	0,76	0,60

La culture mixte a également donnée un meilleur poids sur des margines agitées. Le mélange d'espèces a aidé à diversifier le champ de production d'enzymes donc à mieux dégrader les nutriments et à mieux se développer.

La levure étant un champignon qui a perdu la capacité de former un mycélium, pour ce dernier, il était impossible d'estimer sa biomasse, car les margines sont troubles et surestime la DO des cellules libres.

On remarque aussi que les souches ont mieux poussé sur MA-B que sur MA-D, cela peut être due à la différence de charge en composés organiques, dans les margines brutes, nécessaires au développement des souches fongiques.

2.2.4 Dosage des polyphénols totaux

La courbe d'étalonnage (figure 19) est établie en utilisant une solution d'acide gallique qui a permis d'estimer la concentration en CP qui se trouve dans chaque extrait produit dans cette étude dans de mêmes conditions. La concentration des polyphénols totaux est exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg d'EAG/g MS) (figure 20, 21).

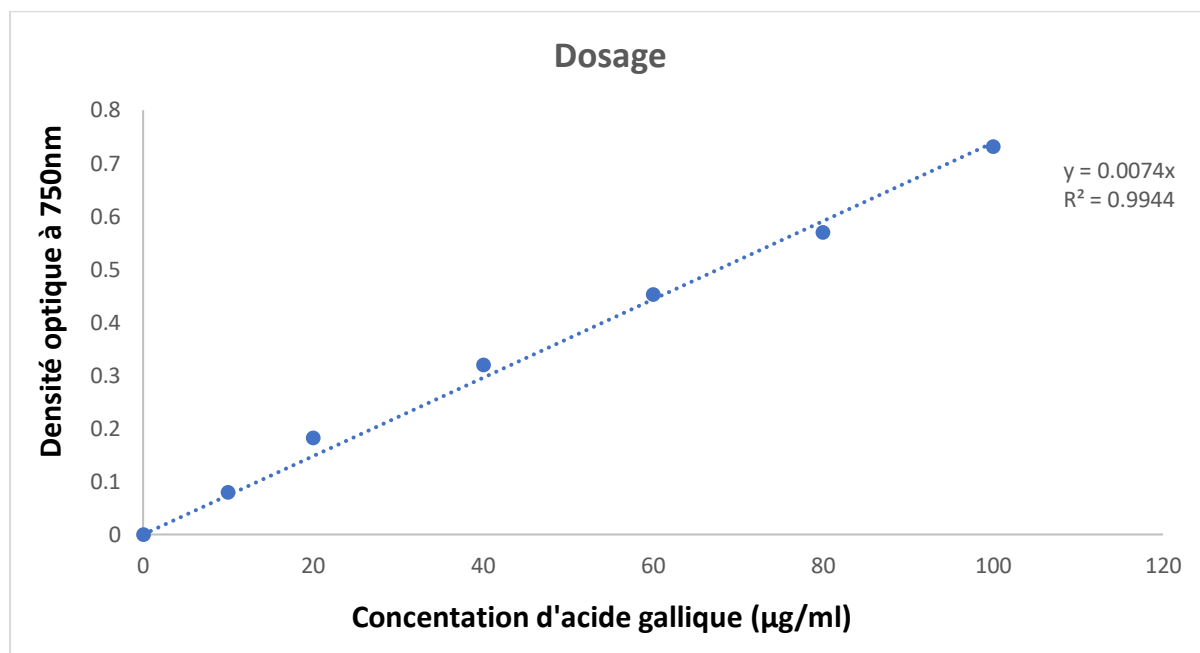


Figure 19. Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

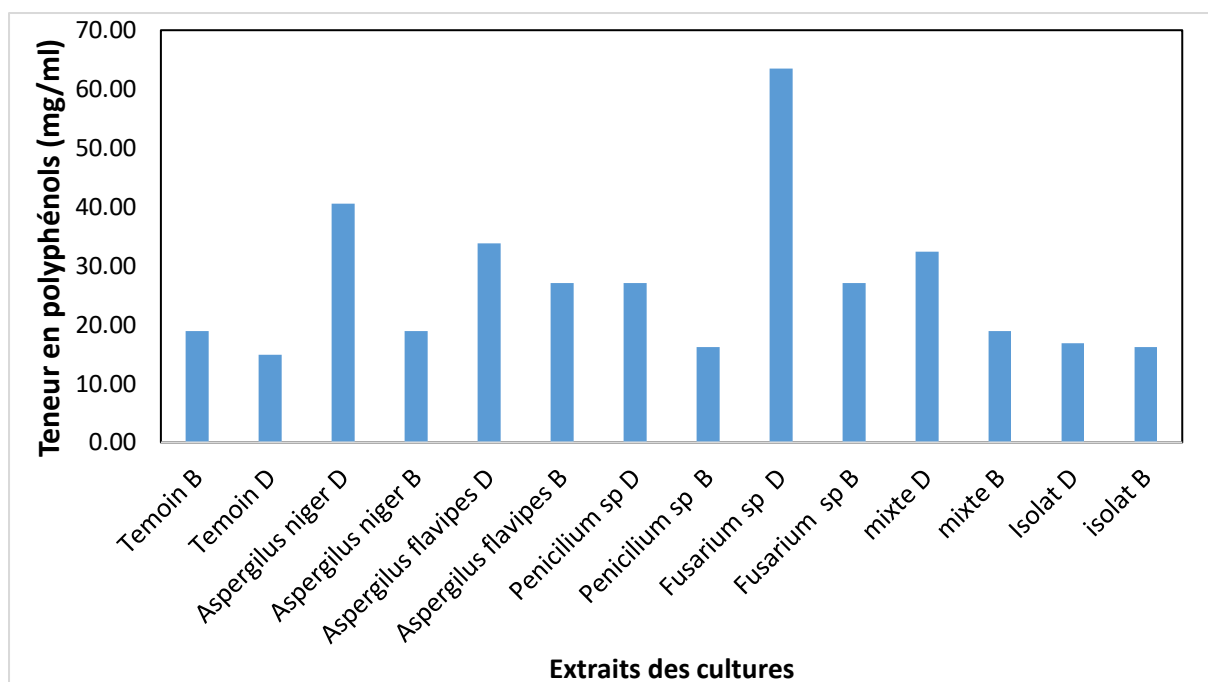


Figure 20. Concentration en polyphénols totaux des extraits de margines brutes et diluées (E-B),(E-D) récupérés à partir des cultures non agitées (M-SA) en mg/ml.

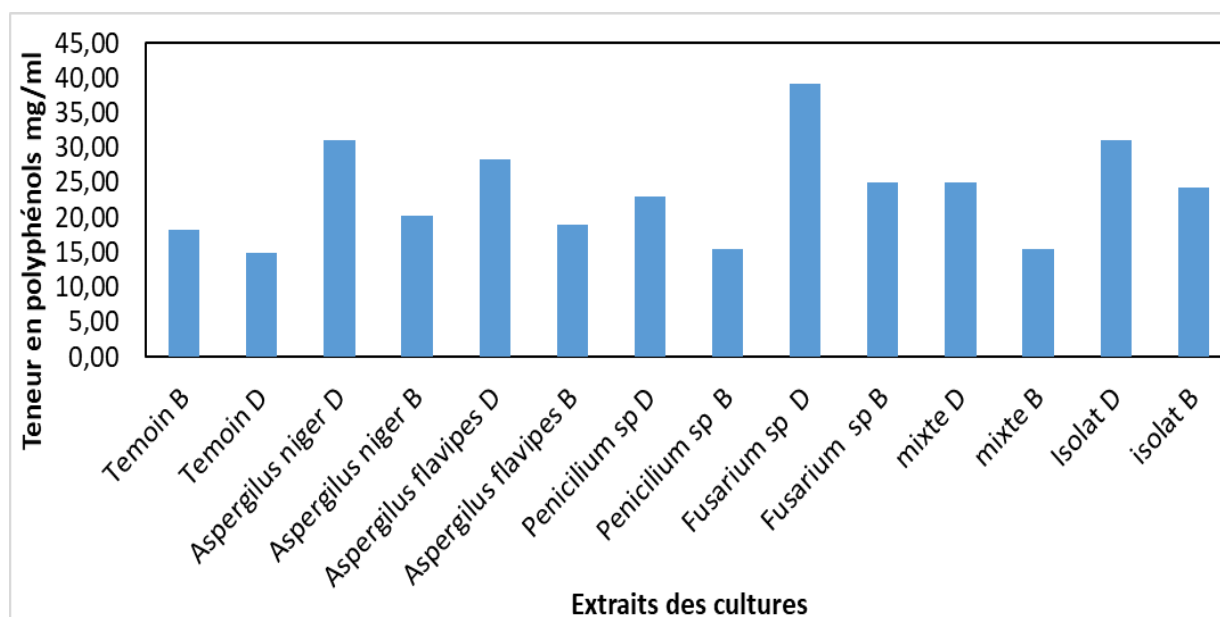


Figure 21. Concentration en polyphénols des extraits de margines brutes et diluées (E-P), (E-D) récupérés à partir des cultures agitées en mg/ml.

Selon ALMELA *et al.* (2006) et OBEID *et al.*, (2007), la quantification et l'identification des polyphénols des extraits végétaux sont considérées comme la première étape vers l'évaluation de la capacité antioxydante.

D'après le dosage des polyphénols totaux les cultures diluées sont beaucoup plus concentrées en CP tandis que la biomasse fongique a mieux poussé sur la culture des margines brutes, peut s'expliquer par le fait que la dilution a permis aux champignons de produire des enzymes qui peuvent dégrader les polyphénols complexes et à augmenter leur concentrations tandis que sur la culture des margines brutes, les champignons ont une préférence à produire les enzymes dégradants des molécules plus simples favorisant ça croissance .

- **Champignons**

On ce qui concerne les CP des extraits issus des cultures avec les champignons, une augmentation est notée pour leurs quantités comparées au témoin. Cette augmentation varie d'un champignon à un autre en fonction de leur capacité à dégrader les différents CP complexes qui donnent lieu à des phénols et des polyphénols moins complexes, de leur capacité à croître dans un milieu acide, et du facteur d'agitation. Parmi les extraits obtenus, l'extrait issus de la culture de *Fusarium sp* présente plus de CP, il est classé en première position avec des valeurs moyennes en polyphénols totaux en mg/ml de 63,51 (E-D) ; 27,03 (E-B) sur la culture non agitée et 39,19 (E-D) 25 (E-B) sur la culture agitée, suivi la souche *Aspergillus niger* avec 40,54(E-D) et 18,92 (E-B), 31,08 (E-D) et 20,27 (E-B), respectivement. *Aspergillus flavipes* en troisième position avec 33,78 (E-D) et 27,03 (E-B) sur la culture non agitée et 28,38 (E-D), 18,92 (E-B) sur la culture agitée. La culture mixte vient seulement en quatrième position, avec 18,92 (E-D), 32,43 (E-B) de la culture sans agitation et 15,54 (E-B) ; 25,00 (E-D) de la culture avec agitation. L'extrait cultivé avec la souche *Penicillium sp* est en dernière position avec des valeurs de 16,22(E-B) ; 27,03 (E-D) sur la série non agitée et de 15,56 (E-B) ; 22,97 (E-D) sur la série agitée.

- **Levure**

Les levures sont plus sélectives que les champignons, les études de DIAZ et *al.* (2021) ont démontré que la levure *Candida tropicalis* a des capacités extraordinaires à se développer sur les margines. Cependant, les tests des différentes souches de levures à se développer dans différents composés phénoliques, a démontré que la croissance des levures était plus élevée dans le tyrosol, suivi du catéchol et du phénol. On déduit donc que le type de composés phénoliques influencent sur le développement des levures, certains d'entre eux peuvent exercer un effet inhibiteur sur la souche.

Il a été rapporté, que *Candida tropicalis* a pu se développer dans toutes les concentrations de margines, et aucune amélioration supplémentaire a été obtenue pour un milieu à base de margines plus concentrés. En outre le supplément on azote dans les margines a amélioré la dégradation des polyphénols et de la DCO. Il peut être alors conclu que l'azote a une importance dans la consommation des composés phénoliques par les levures, et que le manque d'azote pourrait être un facteur limite à la dégradation des margines.

Dans le présent travail, la valeur moyenne des concentrations en CP se trouvant sur les extraits issus de la culture de la levure isolat est de l'ordre de 31,08mg/ml (E-D) et de 24,32 mg/ml (E-B) de la culture agitée tandis que des valeurs de 16,89 mg/ml et 16,22 mg/ml respectivement sont enregistrées sur la culture non agitée. Les concentrations en CP augmente sur la culture agitée lors de la dégradation des molécules complexes, ce qui peut signifier que la dégradation des CP a été influencée par le facteur de l'agitation. Indiquant que l'agitation est

un facteur important pour la dégradation des composés phénoliques complexes nécessaires à sa croissance.

2.2.5. Evaluation de l'activité antiradicalaire du radical DPPH et ABTS

Lorsque le radical libre instable DPPH de couleur violette est réduit par un antioxydant présent dans les margines, celui-ci vire vers le jaune pâle et indique une DO faible par rapport au DPPH. Mais lorsqu'il n'y a pas d'antioxydant dans le milieu, le DPPH ne change pas de couleur, est aura donc une DO élevée. L'activité antioxydante est estimée par l'inhibition (I%) obtenus par les tests DPPH et ABTS définie comme étant le pourcentage de la capacité des antioxydants à fixer le radical DPPH ou ABTS. Une valeur faible indique une activité antioxydante faible.

1. Evaluation du pourcentage d'inhibition du radical DPPH des extraits de margines après culture.

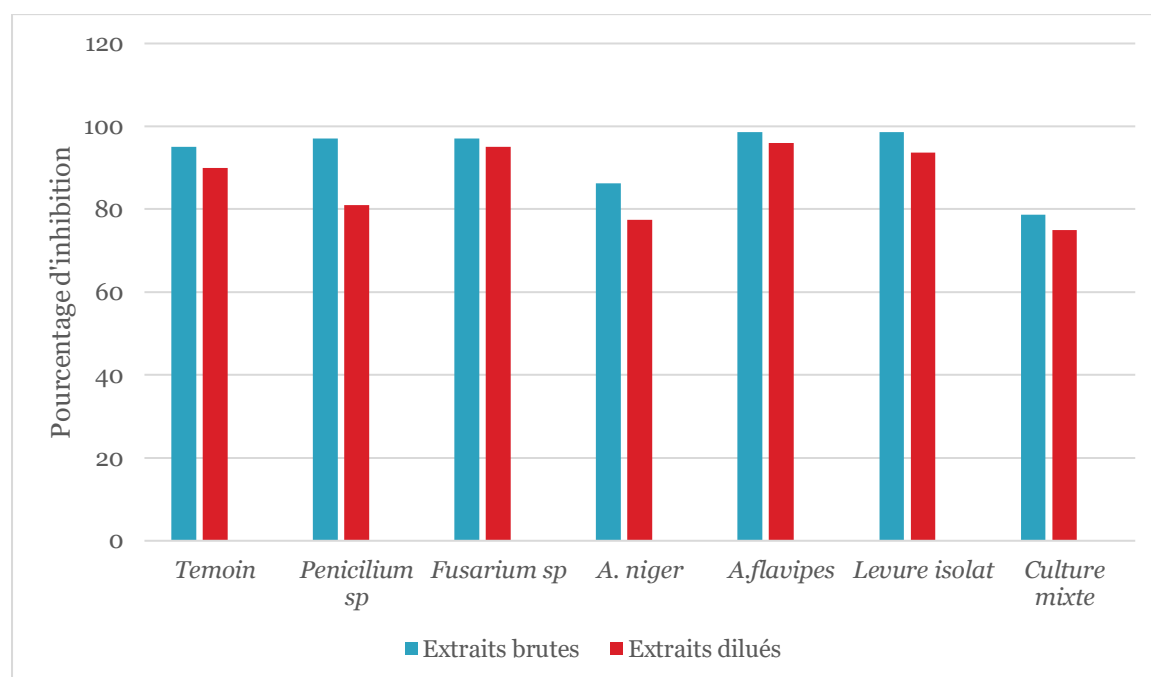


Figure 22. Pourcentages d'inhibition des extraits, (obtenus avec la dilution 10^{-1}) de margines des cultures agitées du test DPPH.

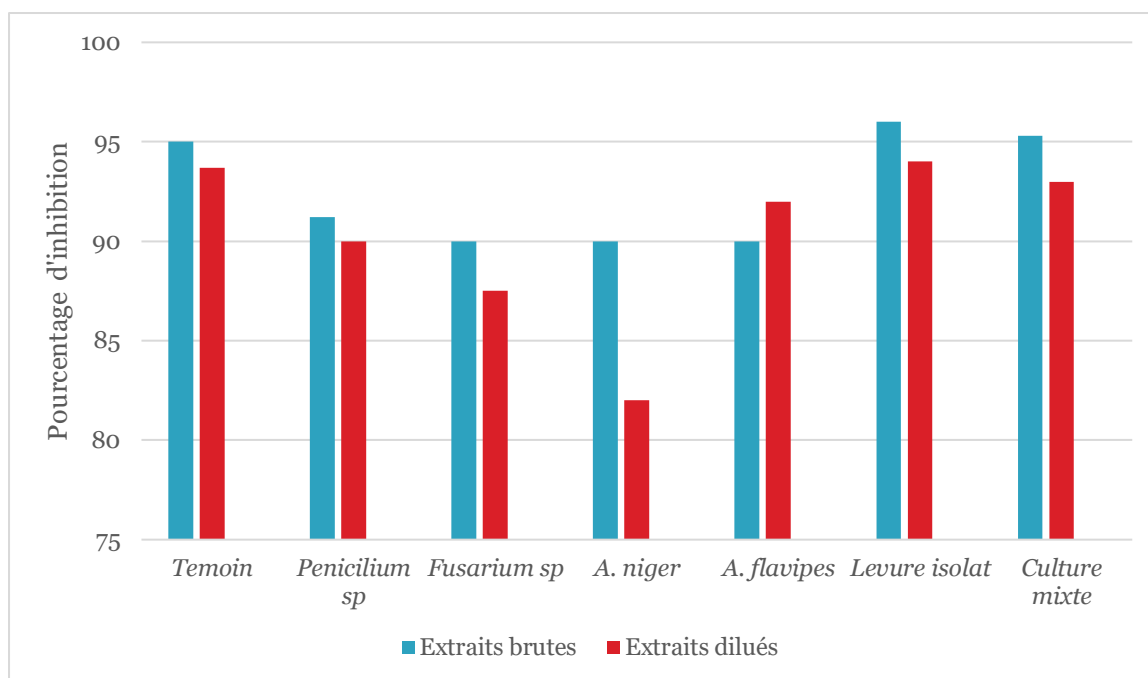


Figure 23. Pourcentages d'inhibition des extraits, (obtenus avec la dilution 10^{-1}) de margines des cultures non agitées du test DPPH.

Les résultats de l'activité du piégeage des radicaux libres du DPPH par les extraits issus des cultures fongiques faites avec une première dilution démontrent à première vue des pourcentages d'inhibitions très élevés compris entre 98 et 75%. Ces résultats ne sont pas significatifs pour pouvoir comparer entre les cultures. Cependant on peut remarquer que tous les extraits issus de margines diluées donnent des valeurs moins élevées que les extraits issus de margines brutes.

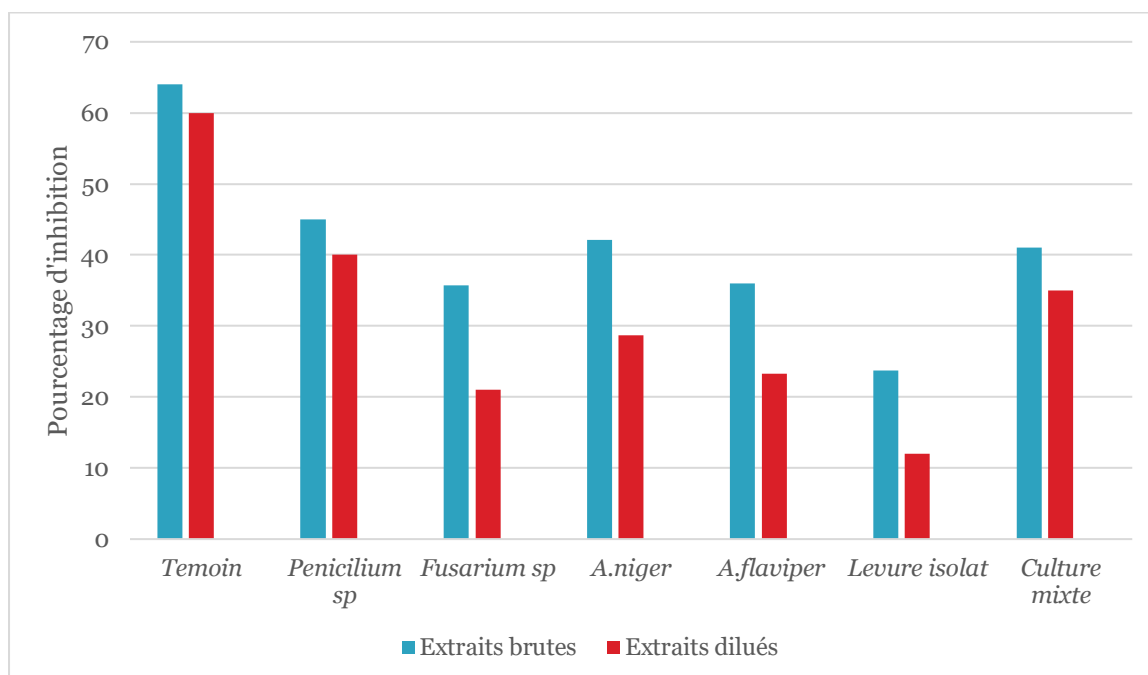


Figure 24. Pourcentages d'inhibition des extraits, (obtenus avec la dilution 10^{-4}) de margines des cultures agitées du test DPPH.

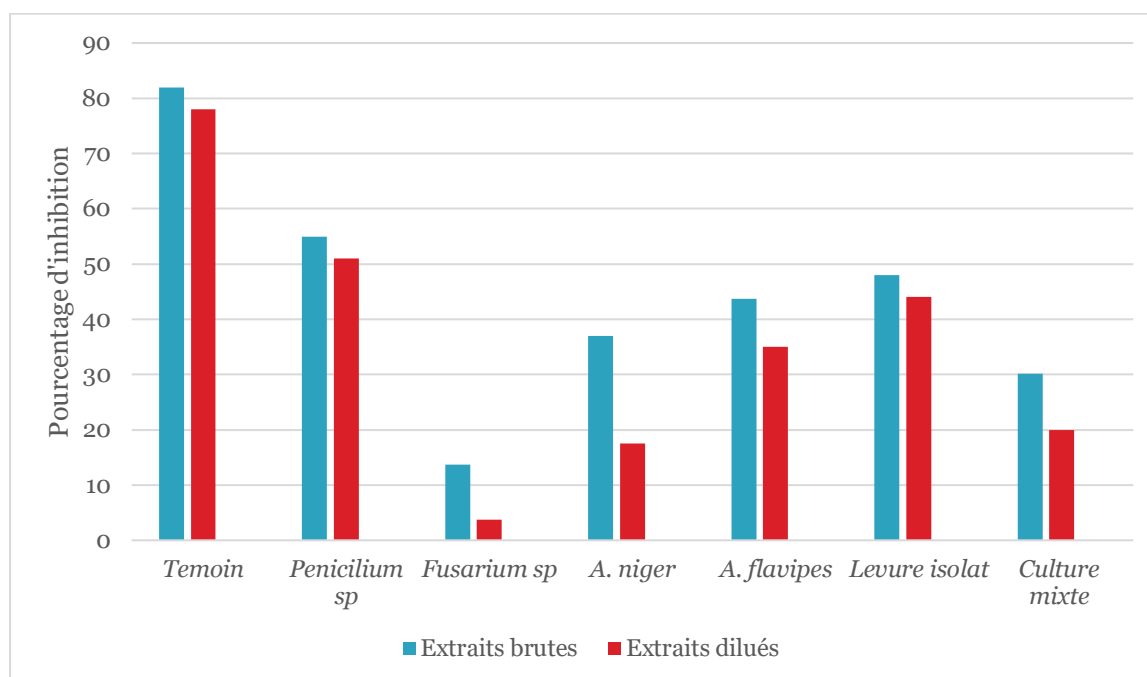


Figure 25. Pourcentages d'inhibition des extraits, (obtenus avec la dilution 10^{-4}) de margines des cultures non agitées du test DPPH.

La mise en évidence de l'activité du piégeage du radical DPPH par les extraits issus des cultures fongiques avec une dilution de 10^{-4} diminue significativement par rapport au témoin qui donne une valeur de 77% (E-B) ; 70% (E-D) sur la culture agitée et 82% (E-B) 75% (E-D) sur la culture non agitée.

Principalement, l'activité antioxydante de l'extrait de la culture non agitée de *Fusarium sp* a fortement diminué jusqu'à une valeur de 3,75% (E-D). De même pour *Aspergillus niger* (E-D), la culture mixte (E-D) et *Aspergillus flavipes* avec des pourcentages d'inhibition de 17,5, 20, et 30%, respectivement.

Les extraits qui ont démontré l'activité antioxydante la plus élevée sont ceux des cultures de la levure isolat avec 48% (E-D) ; 44% (E-P) et de *Penicillium sp* avec 51% (E-D) ; 55% (E-B). Les extraits pour les mêmes souches ont démontré une diminution significative de l'activité antioxydante lorsqu'elles sont cultivées sous agitation avec 12% (E-D) et 23,7% (E-B) pour la levure isolat et 40% (E-D) et 45% (E-B) pour *Penicillium sp*.

2. Evaluation du pourcentage d'inhibition du radical ABTS des extraits de margines après culture.

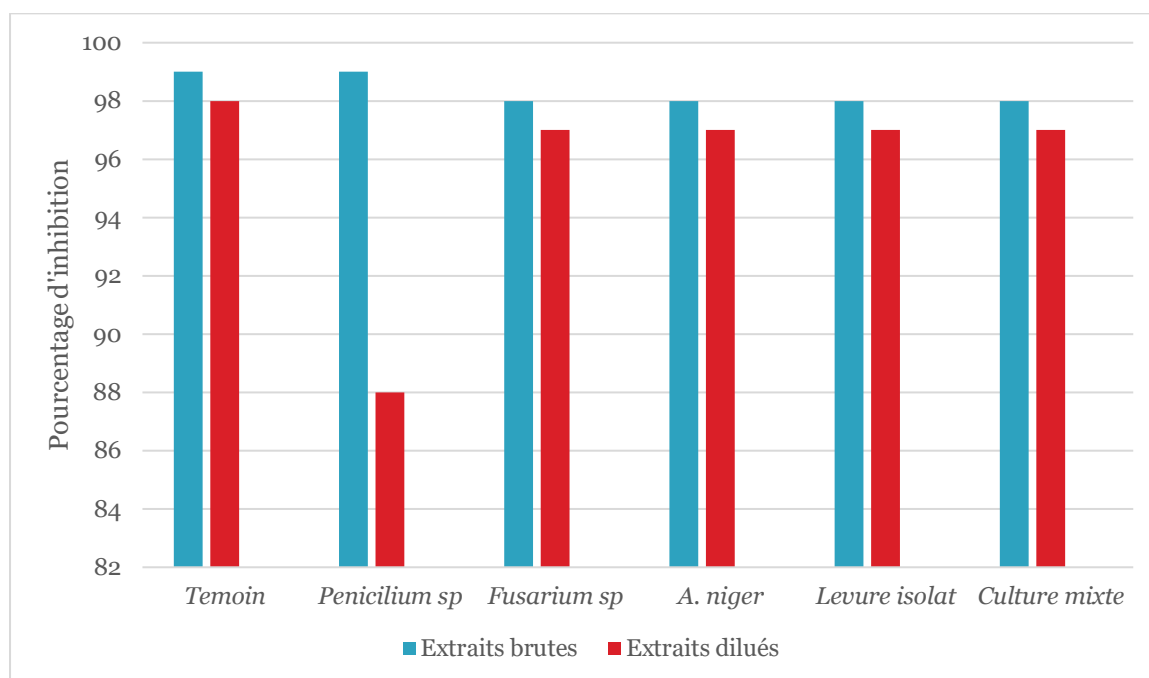


Figure 26. Pourcentages d'inhibition des extraits (obtenus avec la dilution 10^{-1}) de margines des cultures agitées du test ABTS.

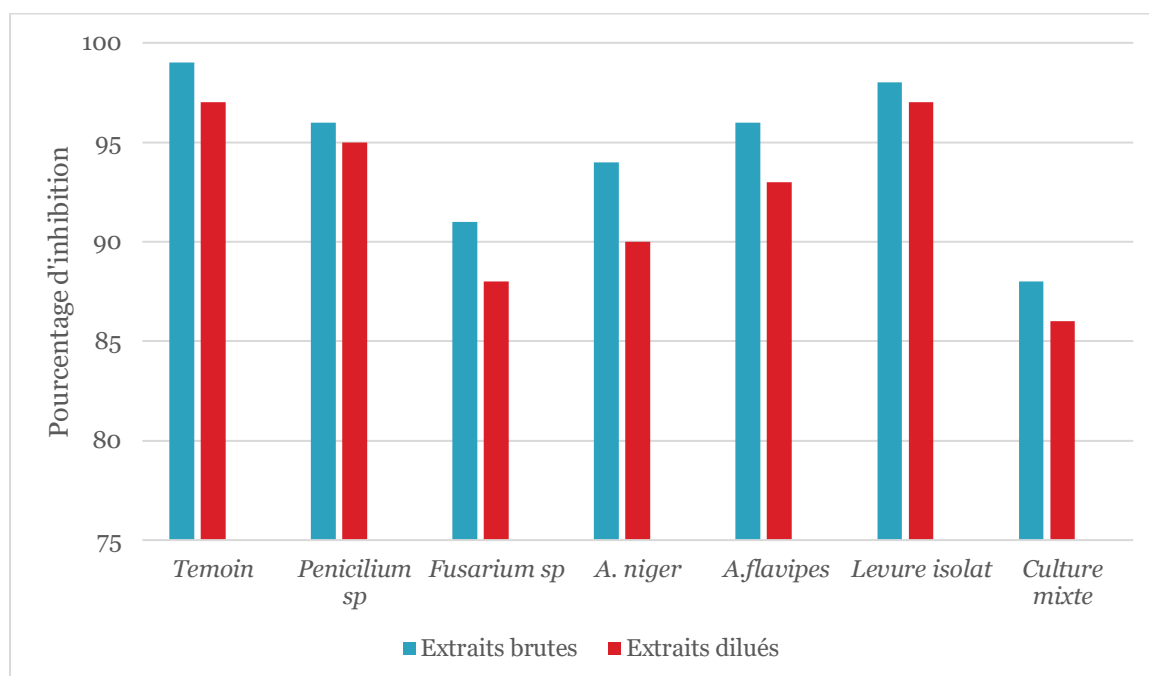


Figure 27. Pourcentages d'inhibition des extraits (obtenus avec la dilution 10^{-1}) de margines des cultures non agitées du test ABTS.

Les résultats de l'activité du piégeage des radicaux libres ABTS par les extraits issus des cultures fongiques faites avec la dilution 10^{-1} démontrent à première vue des pourcentages

d'inhibitions très élevés compris entre 99 et 90%. Ces résultats ne sont pas significatifs pour pouvoir comparer entre les deux cultures. Cependant on peut remarquer que tous les extraits issus de margines diluées donnent des valeurs moins élevées que les extraits issus de margines brutes.

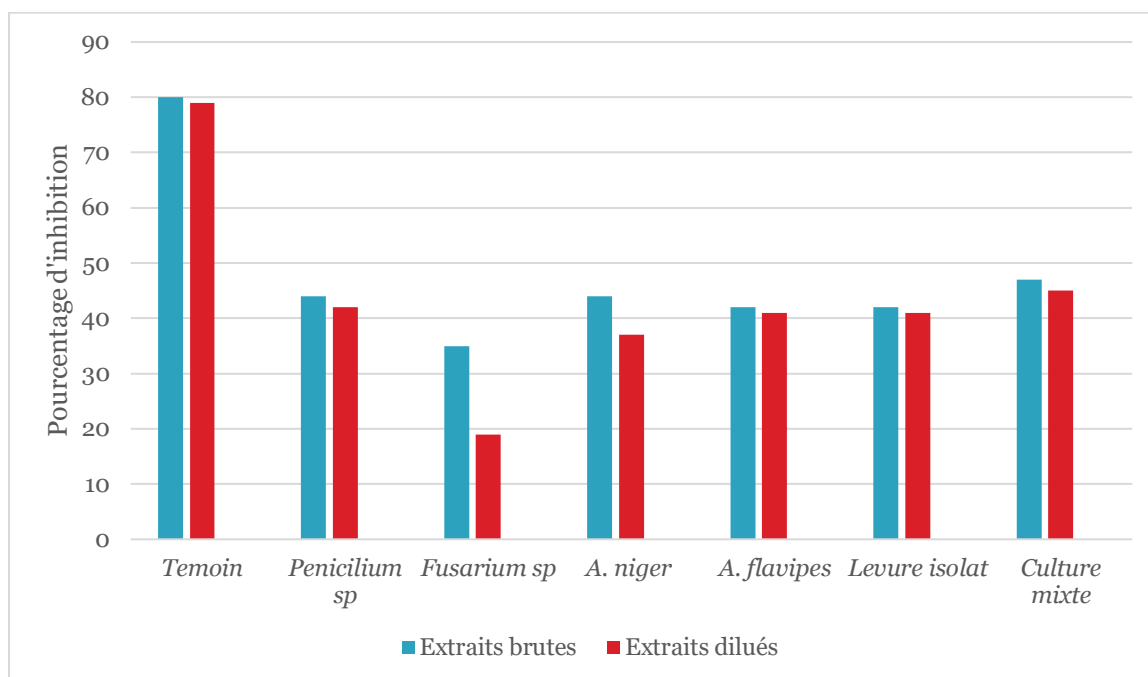


Figure 28. Pourcentages d'inhibition des extraits (obtenus avec la dilution 10^{-4}) de margines des cultures agitées du test ABTS.

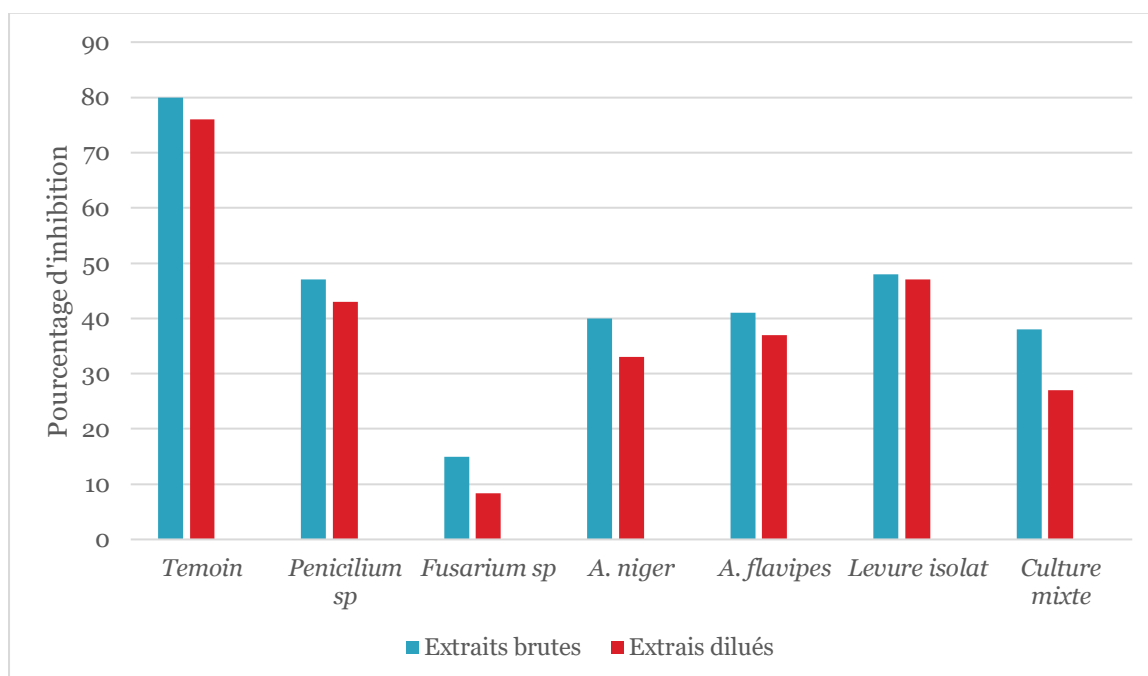


Figure 29. Pourcentages d'inhibition des extraits (obtenus avec la dilution 10^{-4}) de margines des cultures non agitées du test ABTS.

Le test ABTS a permis d'évaluer l'activité antioxydante des différents extraits issus des cultures fongiques avec une dilution de 10^{-4} . En comparant leurs pourcentages d'inhibition on les trouve diminués par rapport aux témoins qui présentent des valeurs de 79% (E-B) et 80% (E-D) sur la culture agitée et 76% (E-B) 80% (E-D) sur la culture non agitée. Certains extraits démontrent moins d'effet inhibiteur vis-à-vis du radical ABTS sur les deux cultures (non agitée et agitée) comme ceux obtenus avec *Fusarium sp* 8,33% (E-D) ;15% (E-B) de la culture non agitée et 19% (E-D) ; (35%) de la culture agitée. Cela peut supposer que cette diminution vient de la dégradation des composés phénoliques complexes des margines et donc à la dégradation des antioxydants qui s'y trouve.

Parmi les extraits qui ont démontré l'activité antioxydante la plus élevée, ceux obtenus avec la levure isolat avec 47% (E-D) et 48% (E-P) sur la culture non agitée. Cependant, une légère diminution de l'activité antioxydante est notée pour les extraits de certaines cultures lorsque les souches sont cultivées avec agitation, c'est le cas de la levure et *Penicillium*. Ceci peut être expliquée par le fait que l'agitation de la culture a amélioré la dégradation des composés phénoliques, d'où la diminution de l'activité antioxydante.

La performance supérieure des cultures mixtes est basée sur le fait que dans la nature, la biodégradation de la biomasse est réalisée par la coopération synergique variété de micro-organismes (HU et *al.*, 2011 ; BADER et *al.*, 2010).

Tous les extraits ont révélé une diminution de l'activité antioxydante dû à la réduction des CP, ce qui est déjà signalé par SPYRIDON et *al.*, (2015) dans leur étude sur la biodégradation des margines par des champignons réduisent efficacement les composés phénoliques avec une réduction de plus de 60 % des phénoliques totaux.

2.3 Analyse IR des extraits

- **La série non agitée**

D'après le tableau XVIII, des variations au niveau des pics et ainsi des liaisons et des groupements fonctionnels sont observés entre les témoins et les cultures et également entre ces dernières. Ces changements témoignent sur les phénomènes de biodégradation ou de biotransformation.

D'après les résultats décrits précédemment, les extraits obtenus par la mise en culture des souches fongiques sur des margines non agitées ont démontré des résultats significatifs qui méritent d'être approfondi par l'analyse infrarouge.

Tableau XVIII. Ensemble des liaisons détectées par l'infrarouge sur les extraits issus de margines.

Souches	Pics et liaisons correspondantes
Témoin des margines brutes	<ul style="list-style-type: none"> • 1^{er} pic 848.68 liaison C-H liaison hydrocarbure aromatique mononucléaire. • 2^{ème} pic à 1049.28 liaison C-H Hydrocarbure linéaires à chaînes ramifiées. • 3^{ème} pic à 1250 liaison C-O Ester méthylique. • 4^{ème} pic à 1373.32 liaison O=C-O Acide carboxylique. • 5^{ème} pic à 1481.33 liaison N-H. • 6^{ème} pic à 1743.65 liaison C-O carboxylique. • 7^{ème} pic à 2985.81 liaison O-H acide carboxylique.
Témoin des margines diluées	<ul style="list-style-type: none"> • 1^{er} pic à 725.23 liaison C-H. • 2^{ème} pic à 1250 liaison ester C-O. • 3^{ème} pic à 1750 liaison C=O. • 4^{ème} pic à 3000 liaison C=H Hydrocarbure éthylénique. • 5^{ème} pic à 3500 liaison N-H amide primaire.
Culture de <i>Fusarium sp</i> sur margines diluées	<ul style="list-style-type: none"> • 1^{er} pic à 725.23 liaison C=H. • 2^{ème} pic à 1100 liaison C=O Alcool tertiaire. • 3^{ème} pic à 1250 liaison C=O Ester. • 4^{ème} pic à 1751.36 liaison C=O Ester. • 5^{ème} pic à 2853 liaison C=H Ester • 6^{ème} pic à 3000 liaison C=H Hydrocarbure éthylique.
Culture de <i>Aspergillus niger</i> diluées	<ul style="list-style-type: none"> • 1^{er} pic à 1250 liaison C=O Ester. • 2^{ème} pic à 1751 liaison C=O Ester. • 3^{ème} pic à 2853 liaison C-H. • 4^{ème} pic à 2931.8 liaison O=H. • 5^{ème} pic à 3896.21 liaison C-H Hydrocarbure éthylénique.
Culture de levure isolat sur margines diluées	<ul style="list-style-type: none"> • 1^{er} pic à 1000-1165 liaison C=H Hydrocarbure. • 2^{ème} pic à 1250 liaison C=O • 3^{ème} pic à 1750 liaison C=O. • 4^{ème} pic à 2854.65 liaison C-H. • 5^{ème} pic à 3000 liaison N-H. • 6^{ème} pic à 3741.90 liaison C-H Hydrocarbure.
Culture mixte sur margines diluées	<ul style="list-style-type: none"> • 1^{er} pic à 1060 liaison C-O-C Ether aliphatique. • 2^{ème} pic 1250cm-1 liaison C=O Ester • 3^{ème} pic 1743.65 liaison C=O Cétone. • 4^{ème} pic à 2985.81 liaison O-H Acide carboxylique.

Souches	Pics et liaisons correspondantes (suite)	
Culture de <i>Penicillium sp</i> sur margines diluées	<ul style="list-style-type: none"> • 1^{er} pic à 1049.51 • 2^{ème} pic à 1250 • 3^{ème} pic à 1373.32 • 4^{ème} pic à 1751.32 • 5^{ème} pic à 2993.52 	<ul style="list-style-type: none"> liaison C-O liaison C=O. liaison O-H. liaison C=O. liaison O=H
Culture d' <i>Aspergillus flavipes</i> sur margines diluées	<ul style="list-style-type: none"> • 1^{er} pic à 1049 • 2^{ème} pic à 1250 • 3^{ème} pic à 1373.32 • 4^{ème} pic à 1751.36 	<ul style="list-style-type: none"> liaison C-O. liaison C=O. liaison O-H. liaison C=O.
Culture de <i>Fusarium sp</i> sur margines brutes	<ul style="list-style-type: none"> • 1^{er} pic à 1033.85 • 2^{ème} pic à 1226.73 • 3^{ème} pic à 1750 • 4^{ème} pic à 2931.8 	<ul style="list-style-type: none"> liaison sans intérêt. liaison C-O phénol. liaison C=O liaison ester. liaison O-H acide carboxylique.
Culture d' <i>Aspergillus niger</i> sur margines brutes	<ul style="list-style-type: none"> • 1^{er} pic à 725.23 • 2^{ème} pic à 1000 • 3^{ème} pic à 1165 • 4^{ème} pic à 1250 • 5^{ème} pic à 1750 • 6^{ème} pic à 2854.65 • 7^{ème} pic à 3000 	<ul style="list-style-type: none"> liaison O=H liaison C=O liaison C-O liaison C=O ester liaison C=O ester liaison O-H acide carboxylique liaison N-H.
Culture de Levure isolat sur margines brutes	<ul style="list-style-type: none"> • 1^{er} pic à 1165 • 2^{ème} pic à 1250 • 3^{ème} pic à 1750 • 4^{ème} pic à 3000 	<ul style="list-style-type: none"> liaison C-H hydrocarbure aliphatique. liaison C=O ester liaison C=O ester. liaison N-H.
Culture mixte sur margines brutes	<ul style="list-style-type: none"> • 1^{er} pic à 1165 • 2^{ème} pic à 1250 • 3^{ème} pic à 1750 C=O • 4^{ème} pic à 2854 	<ul style="list-style-type: none"> liaison C-H hydrocarbure aliphatique. liaison C=O ester. liaison ester. liaison O-H acide carboxylique.
Culture de <i>Penicillium sp</i> sur margines brutes	<ul style="list-style-type: none"> • 1^{er} pic à 1041.56 • 2^{ème} pic à 1250 C=O • 3^{ème} pic à 1712.79 • 4^{ème} pic à 3000 	<ul style="list-style-type: none"> liaison sans intérêt. liaison ester. liaison C=O acide carboxylique. liaison N-H.

Conclusion

En Algérie, les margines ne subissent en général aucun traitement et sont souvent déversées dans la nature. Il en résulte un impact négatif sur l'environnement qui se traduit par le colmatage des sols, la pollution des eaux superficielles et souterraines et le dégagement de mauvaises odeurs. Les tendances actuelles doivent viser l'intégration de diverses technologies pour traiter les margines à faible coût. Ainsi, le traitement et/ou la valorisation des margines constitue un enjeu majeur des pays Méditerranéens.

Grace à la biotechnologie, il est possible d'utiliser de manière intelligente les effluents liquides composés de MO, ciblant aussi bien la biodépollution, que l'extraction de biomolécules actives et la bioconversion de ces sous-produits de l'oléiculture en produits d'intérêts. En effet, Ceci insinue la production d'une valeur ajoutée alimentaire ou médical susceptible de couvrir les charges du traitement tout en éliminant les composés nocifs à l'environnement (BARBERA et al., 2013 ; BELAQZIZ et al., 2016 ; MOHAWESH et al., 2019).

Le traitement des margines par les micro-organismes semblent être non seulement une solution écologique pour la protection de l'environnement, mais également une voie de leurs valorisations lorsqu'elles sont biotransformées en produits d'intérêt. Dans ce contexte, des souches fongiques ont été testées à savoir, une levure isolat et quatre souches de champignons filamenteux : *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavipes*, *Penicillium sp*, *Fusarium sp*, en vue d'évaluer leurs capacités à croître sur les margines dans des conditions aérobies, en tenant compte de deux facteurs importants, l'agitation et la dilution des margines.

La majorité des souches fongiques cultivées sur les margines ont pu croître sur ces dernières, ce qui a donné lieu à une biotransformation de leurs constituants, celle-ci est manifestée par la variations observées, selon la culture en question, au niveau :

- des teneurs en composés phénoliques ;
- des DO des margines fermentées ;
- des valeurs du pH ;
- des activités antioxydantes ;
- des profils (liaisons et pics) obtenues par l'analyse IR.

Les résultats obtenus sont prometteurs, ainsi la présente étude mérite d'être approfondie avec des optimisations au niveau des conditions de cultures et des analyses complémentaires plus performantes comme la chromatographie liquide



Références bibliographiques



- **Aissam, H. (2003).** Etude de la biodégradation des effluents des huileries (margines) et leur valorisation par production de l'enzyme tannase. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed ben abdellah (Maroc). Faculté des sciences Dhar El Mehraz Fès. 94p.
- **Aissaoui, Y., Boukhari, Y., & Mahi, M.A. (2021).** The anti-inflammatory Effect of Polyphenolics Olive Leaf Extracts *Olea europea* L. phyto-2021-0251,6 p.
- **Ait ameur, S., & Bouzidi, F. (2013).** Etude de quelques paramètres physicochimiques et microbiologiques des margines issues de deux systèmes d'extraction d'huile d'olive : système de presse (traditionnel) et système de centrifugation à tri phases (moderne). Mémoire d'ingénieur. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. Algérie.
- **Ajmia, C. (2010).** Etude expérimentale et théorique de procédés de valorisation de sous-produits oléicoles par voies thermiques et physico-chimique. Thèse de doctorat. Université de Haute-Alsace. France.
- **Akhtar, S., Mahmood-ul-Hassan, M., Ahmad, R., Suthor, V., & Yasin, M. (2013).** Potentiel de tolérance aux métaux des champignons filamenteux isolés dans des sols irrigués avec des effluents municipaux non traités. *Environnement du sol* 32:55-62.
- **Albuquerque, J.A., Gonzalez, J., Garcia, & Cegarra, J. (2004).** Agrochemical characterization of "alperujo", a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresource Technology*. 91: 195–200.
- **Allouche, D., & Bendjoudi, S. (2018).** Production d'enzymes industrielles par cultures mixtes de *Trichoderma sp* & *Aspergillus sp*. Mémoire de fin d'étude. Université Abderrahmane Mira-Béjaia.
- **Amarouche, T., & Boumkhila, H. (2019).** Etude comparative de quelques caractéristiques physico-chimiques et activités biologiques d'échantillons de margines collectées dans diverses régions de la Kabylie. Mémoire de fin d'étude. Université de Mouloud-Mammeri Tizi-Ouzou.
- **Amrani, O., & Bendidi, O. (2014).** Techniques de traitement et de valorisation des margines. Mémoire Master Recherche : sciences et techniques. Université Sidi Mouhammed Ben Abdellah, P : 343.
- **Anderson, G., Donnelly, T., & Rippon, G. M. (1977).** Digestion anaerobia de aguas residuales industriales. *Actas 1. Congreso Nacional de Quimica, Vigo*. 549 - 565.

- **Andreoni, V., Ferrari, A., Ranali, G., & Sorlini, C. (1986).** The influence of some phenolic acids present in oil mill waters on microbial groups for the methanogenesis. Simposio Internacional sobre Valorizacion de los subproductos dei olivar:alpechin y orujo. 5-6-7 Marzo, Sevilla-Espana,11 – 12.
- **Angelidaki, I., Karakashev, D., Batstone, D., Plugge, C., Stams, A.J. (2011).** Biomethanation and its potential. *Methods Enzimol.*, 494, pp. 327-351.
- **Aoukli, M.N., & Chetouhe, S. (2019).** Etude qualitative des huiles d’olives de la région de Djaafra. Mémoire de Master 2 : Qualité des produits et sécurité alimentaire. Université Borj Bou-Arréridj. p 11-22.
- **Aparicio, R., & Harwood, J. (2013).** Handbook of olive oil. Analysis and properties .2nd edition. Springer, New York, 774 p.
- **Asgher, M., Shahid, M., Kamal, S., & Iqbal, H.M.N. (2014).** Tendances récentes et valorisation des stratégies d’immobilisation et des enzymes ligninolytiques par la biotechnologie industrielle. *Journal of Molecular Catalyses B : Enzymatic.* 101, 56 - 66.

B

- **Bader, J., Mast-Gerlach, E., Popovic, M. K., Bajpai, R., & Stahl, U. (2010).** Relevance of microbial co-culture fermentations in biotechnology. *Journal of Applied Microbiology*, 109, (2), 371-387.
- **Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agro-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry.* 99: 191-203.
- **Bechrriwi, N. (2002).** Extraction des polyphénols des margines. Mémoire de fin d’études d’ingénieur Agronome. Université Libanaise,111.
- **Bennet, J.W., Wunch, K.G., & Faison, B.D. (2002).** Utilisation de la biodégradation des champignons. Manuel de microbiologie environnementale. 2ème édition., Amerecan Society Microbiology Press : Washington, DC, 960-971.
- **Benrachou, N. (2013).** Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d’huile d’olive issus de trois cultivars de l’Est algerien. Thèse de Doctorat en science. Université Bardji Mokhtar, Annaba.
- **Besnard, G., Khadari, B., Navascués, M., Fernández-Mazuecos, M., El Bakkali, A., Arrigo, N., Baali-Cherif, D., Brunini-Bronzini de Caraffa, V., Santoni, S., Vargas, P., & Savolainen, V. (2013).** The complex history of the olive tree: from Late Quaternary

diversification of Mediterranean lineages to primary domestication in the northern Levant. *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences*, 280.

- **Boudi, M., Laoubi, K., & Chehat, F. (2016).** Une analyse de la chaîne de valeur pour le développement durable de l'agro-industrie oléicole : le cas de l'Algérie. *Journal de l'agriculture et de l'environnement pour le développement international (JAEID)*, 110 (2), 267-292.
- **Braaksma, M., Van Den Berg, R.A., Van Der Werf, M.J., & Punt, P.J. (2010).** A Top Down Systems Biology Approach for the Identification of Targets for Fungal Strain and Process Development. In; Borkovich. K.a., Ebbole.d. *journal Cellular and Molecular Biology of Filamentous Fung.* Edition. American Society Microbiology Press. Washington. U.S.A.25-35p.
- **Breton, C., Besnard, G., Bervillé, A. (2006).** Using multiple types of molecular markers to understand olive phylogeography. In: Zeder MA, Decker Walters D, Bradley D, Smith B. Edition. *Documenting Domestication: new genetic and archaeological paradigms.* Berkeley: University of California Press, 2006.
- **Brozzoli, V., Crognale, S., Sampedro, I., Federici, F., Dannibale, A., & Petruccioli, M. (2009).** Assessment of olive-mill wastewater as a growth medium for lipase production by *Candida cylindracea* in bench-top reactor. *Bioresource Technol.* 100:395–402.
- **Brunton, J. (1993).** *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales.* 2^{ème} édition, Lavoisier Techniques et Documentaires, Paris.
- **Bumpus, J.A. (2004).** Biodégradation des colorants azoïques par les champignons. Dans : Arora, DK (Ed.), *Biotechnologie fongique dans les applications agricoles, alimentaires et environnementales.* Marcel Dekker, New York, pages 457-480.

e

- **Camps-Fabrer, H. (1953).** L'olivier et l'huile dans l'Afrique romaine (Gouvernement Général de l'Algérie, Direction de l'Intérieur et des Beaux-Arts, Service des Antiquités, Missions archéologiques). In : *Revue des Études Anciennes*, (1955). 57(1-2) : 222-224.
- **Capasso, R., De Martino, A., & M. (2002).** Recovery and characterization of the metal polymeric organic fraction (polymerin) from olive oil mill wastewaters.
- **Chagerardi, M.H. (2003).** *La microbiologie des digesteurs anaérobies.* John Wiley et fils.

- **Chimi, H. (2006).** Technologies d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité. Bulletin Mensuel d'Information et de Liaison du Programme National de Transfert de Technologie en Agriculture, 141(1) : 1-4.
- **Conseil Oléicole International (C.O.I). (2003).** Classification des huiles d'olive. Normes internationales applicables à l'huile de grignon d'olive.

D

- **Daâssi, D., Belbahri, L., Vallat, A., Woodward, S., Nasri, M., & Mechichi, T. (2014).** Réduction accrue de la teneur en phénol et de la toxicité dans les eaux usées des moulins à huile par une souche nouvellement isolée de *Coriolop siskallica*. Sciences de l'environnement et recherche sur la pollution, 21 (3), 1746-1758.
- **Das, N., & Chandran, P. (2011).** Dégradation Microbienne Des Contaminants Des Hydrocarbures Pétroliers : Un Aperçu SAGE-Hindawi Access to Research Biotechnology. Recherche internationale. Volume 2011, article ID 941810, 13 pages. Doi : 10.4061/2011/941810.
- **De Cássia Miranda, R., De Souza, CS., De Barros Gomes, E., Lovaglio, RB., Lopes, CE., De Fátima Vieira., & De Queiroz Sousa, M. (2007).** Biodégradation de l'huile diesel par des levures isolées des environs du port de Suape dans l'État de Pernambuco – Brésil. archives brésiliennes de biologie et technologie; 50(1)147-152.
- **Dermeche, S., Nadour, M., Larroche, C., Moulti-Mati, F., & Michaud, P. (2013).** Olive mill wastes: biochemical characterizations and valorization strategies. Process Biochemistry, 48(10): 1532-1552.
- **Dhaouadi, H. (2008).** Traitement des eaux usées Urbaines : les procédés biologiques d'épuration.
- **Di Mauro, M.D., Fava, G., Spampinato, M., Aleo, D., Melilli, B., Saita M.G., Centonze, G., Maggiore, R., & D'Antona, N. (2019).** Polyphenolic fraction from olive mill wastewater: Scale-up and in vitro studies for ophthalmic nutraceutical applications. Antioxidants, 8(10) : 462.
- **Dias, B., Lopes, M., & Ramôa Belo, I. (2021).** Candida distribué selon les termes et tropicalis comme oléagineux prometteur conditions des Creative Commons Levure pour les eaux usées des moulins à huile, Bioconversion. Énergies.14, 640.

- **Diez, MC. (2010).** Aspects biologiques impliqués dans la dégradation des polluants organiques. *Journal des sciences du sol et de la nutrition des plantes*. [en ligne] ; 10 (3) 244-267. ISSN 0718-9516.
- **Domenek, S. (2009).** Les matériaux biodégradables. *Polymères biodégradables : normes de biodégradation et propriétés principales. La revue française de la recherche en viandes et produits carnés*, 27(4), 154-158.
- **Dos Santos, AB., Cervantès, JF., & Van Lier, BJ. (2007).** Document de synthèse sur les technologies actuelles de décoloration des eaux usées textiles : perspectives pour la biotechnologie anaérobie. *Technologie des bioressources* ; 98 2369-2385.

F

- **El Fantroussi, S., & Agathos, SN. (2005).** La bio-augmentation est-elle une stratégie réalisable pour l'élimination des polluants et l'assainissement des sites ? *Opinion actuelle en microbiologie 2005* ; 8 268-275.
- **El-Abbassi, A., & Kiai, H., & Hafidi, A. (2012b).** Phenolic profile and antioxidant activities of olive mill wastewater. *Food Chemistry*, 132, 406-412.
- **El-abbassi, A., Saadaoui, N., Kiai, H., Raiti, J., & Hafidi, A. (2017).** Potential applications of olive mill wastewater as biopesticide for crops protection. *Science of the Total Environment*, 576,10-21
- **Eroglu, E., Gunduz, U., & YUCEL, M. (2008).** Effect of clay pretreatment on photo-fermentative hydrogen production from olive mill wastewater. *Bioresource Technology*. 99:6ber799–808.

F

- **Fadil, K., Chahlaoui, A., Ouahbi, A., Zaid, A., & Borja, R. (2003).** Aerobicbiodegradation and detoxification of waste waters from the olive oil industry. - *International. Biodeterioration. Biodegradation.*, 51(1), 37-41.
- **Fiestas Ros de Ursinos, J.A. (1981).** Différentes utilisations des margines. *Actes du Séminaire Internatinal sur la valorisation des sous-produits de l'olivier. Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO)*. 93-110. Tunisie.
- **Fiestas Ros de Ursinos, J.A., Garcia, A.J., Leon, R., & Maestrojuan, G. (1982).** Energy production in the olive oil industry from biométhanisation of its effluents. *Food Ind. Environ.*, 9, 163 - 172.

- **Fritsche, W., & Hofrichter, M. (2008).** Aerobic Degradation by Microorganisms in Biotechnology Set, Second Edition (eds H.-Journal Rehm and G. Reed), Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Allemagne. doi: 10.1002/9783527620999.ch6m.
- **Fritsche, W., & Hofrichter, M. (2005).** Aerobic degradation of recalcitrant organic compounds by microorganisms. Environmental biotechnology: concepts and applications (eds H.-J. Jördening et J. Winter), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, RFA. doi : 10.1002/3527604 286.ch7.
- **Fritsche, W., Hofrichter, M. (2000)** Dégradation aérobie par des micro-organismes, dans : Biotechnologie. Vol. 11b, Processus environnementaux, (-Rehm, H.-J., Reed, G., Eds.), Wiley-VCH, Weinheim, pp. 145–167.



- **Galanakis, C.M., & Kotsiou, K. (2017).** Recovery of bioactive compounds from olive mill waste. Academic Press. Olive Mill Waste, 1(1): 205-229.
- **Garbisu, C., Alkorta, I. (2001).** Phytoextraction : une technologie rentable à base de plantes pour l'élimination des métaux de l'environnement. Technologie des bioressources ; 77(3) 229-236.
- **Garrido, H., Martinez, N., Camacho, Rubio, F., Ramos., & Cormenzana, A. (2002).** Kinetics of aerobic treatment of olive-mill wastewater (OMW) with *Aspergillus terreus*. – Process Biochemistry., 37(10), 1169-1176.
- **Ghezlaoui, M. (2011).** Influence de la variété, nature du sol et les conditions climatiques sur la qualité des huiles d'olive des variétés Chemlal, sigoise et d'Oléastre dans la wilaya de Tlemcen. Mémoire de Magister. Université Tlemcen, p 213.
- **Gigon, F., & Le Jeune, R. (2010).** Huile d'olive, *Olea europaea* L. Phytothérapie, 8 (2) : 129- 135.
- **Godon, J. (2008).** Aspects biochimiques et microbiologiques de la méthanisation. Moletta, R., La méthanisation, 61-85.
- **Goncalves, C., Pereira, C., & BELO, I. (2010).** Comparison of batch and fed-batch lipase production from olivemill wastewater by *Yarrowialipolytica* and *Candida cylindracea*. Journal Biotechnology. 150S:S1–576. In Special Abstracts.
- **Görisch, U., & Helm, M. (2006).** Biogasanlagen. Stuttgart, Germany.
- **Gullon, P., Gullon, B., Astray, G., Carpena, M., Fraga-Corral, M., Prieto, MA ., & Simal-Gandara, J. (2020).** Valorisation des sous-produits de l'industrie de l'huile d'olive et

applications à valeur ajoutée pour des aliments fonctionnels innovants. Recherche alimentaire internationale, 137, 109683.

- **Gullón, P., Gullón, B., Astray, G., Carpena, M., Fraga-Corral, M., Lage, M.P., & Simal Gándara, J. (2020).** Valorization of by-products from olive oil industry and added-value applications for innovative functional foods. Food Research International, 137(1) : 109683. 17p.



- **Hamdaoui, O. (2009).** Removal of cadmium from aqueous medium under ultrasound assistance using olive leaves as sorbent. Chemical Engineering and Processing, 48, 1157-1166.
- **Hamimed, S., Jebli, N., Sellami, H., Landoulsi, A., Chatti, A. (2020).** Double valorisation des eaux usées des moulins à huile par bio-nanosynthèse d'oxyde de magnésium et production de biomasse de *Yarrowialipolytica*. Chemistry Biodiversity17 : e1900608.
- **Hong, Y., Xu, M., Guo, J., et al. (2007).** Respiration et croissance de décolorations *Shewanella S12* avec un composé azoïque comme seul accepteur d'électrons. Microbiologie appliquée et environnementale ; 73 64-72.
- **Hu, H., van den Brink, J., Gruben, B., Wosten, H., Gu, J., & De Vries, R. (2011).** Improved enzyme production by co-cultivation of *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae* and with other fungi. International Biodeterioration & Biodegradation. 65, (1), 248-252p.



- **Jarboui, R., Batty, H., Fetoui, F., Gargouri, A., Gharsallah, N., & Ammar, E. (2012).** Performance de la levure dans le traitement des eaux : une étude de cas de *Rhodotorula mucilaginosa*. Environ. Technology. 33, 951–960.
- **Joutey, N. T., Bahafid, W., Sayel, H., & El-Ghachtouli, N. (2013).** Biodegradation: Involved Microorganisms and Genetically Engineered Microorganisms. In R. Chamy, & F. Rosenkranz (Eds.), Biodegradation - Life of Science.

K

- **Kafilzadeh, F., Sahragard, P., Jamali, H., & Tahery, Y. (2011).** Isolement et identification des bactéries dégradant les hydrocarbures dans le sol autour de la raffinerie de Shiraz. *Journal africain de recherche en microbiologie* ; 4(19) 3084-3089.
- **Koster, I.W., & Cramer, A. (1980).** Inhibition of methanogenesis from acetate in granular sludge by long-chain fatty acids. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 403 - 409.
- **Krzan, A., Hemjinda, S., Miertus, S., Corti, A., & Chielleni, E. (2006).** Standardization and certification in the area of environmentally degradable plastics. *Polymer Degradation and Stability*, 91, 2819-2833.

L

- **Labdaoui, D. (2017).** Impacts socio-économique et environnemental du modèle d'extraction des huiles d'olives à deux phases et possibilités de sa diffusion dans la région de Bouira (Algérie). Thèse de Doctorat : Technologie agro-alimentaire. Université de Mostaganem, pp 22-31-143.
- **Lamani, O., & Ilbert, H. (2016).** Spécificités de l'oléiculture en montagne (région kabyle en Algérie) : pratiques culturelles et enjeux de la politique oléicole publique. *L'oléiculture au Maroc de la préhistoire à nos jours : pratiques, diversité, adaptation, usages, commerce et politiques.* Montpellier : CIHEAM, 149-159.
- **Leitão, A.I. (2009).** Potentiel des espèces de *Penicillium* dans le domaine de la bioremédiation. *Journal international de recherche environnementale. Santé publique* ; 6 1393-1417; doi:10.3390/ijerph6041393.
- **Lindner, A. V., & Pleissner, D. (2022).** Removal of phenolic compounds from olive mill wastewater by microalgae grown under dark and light conditions. *Waste and Biomass Valorization*, 13(1), 525-534.
- **Linker, M., Teeri, T. (1996).** The cellulose binding domain of the major cellobiohydrolase of *Trichoderma reesei* exhibits true reversion and a high exchange rate on crystalline cellulose. *Process. Nat. Acad. Sci.* 93.p: 12251-12255.
- **Lipshitz, N., Gophna, R., Hartman, M., & Biger, G. (1991).** The beginning of olive (*Olea europaea*) cultivation in the old world: a reassessment. *Journal. Arch. Science.* 18, 441-453.



- **Maaitah, M., Hodaifa, G., Malvis, A., & Sánchez, S. (2022).** Utilisation des eaux usées d'olivier et des eaux usées urbains comme milieu nutritif et bio-fixation du CO₂ pour la production de biomasse de microalgues.
- **MADRPM/DERD (2006).** Technologies d'extraction d'huile d'olive et gestion de sa qualité.
- **Marinescu, M., Dumitru, M., & Lacatusu, A. (2009).** Biodégradation des hydrocarbures pétroliers dans un sol pollué artificiel. *Journal de recherche en sciences agricoles*, 41(2).
- **Matavuli, M.N., & Molitoris, H.P. (2009).** Dégradateurs de champignons marins de matières plastiques à base de poly-3-hydroxyalcanoate. Actes pour les sciences naturelles publié par Matica Srpska; 116 253-265.
- **Mbourmad, S. (2011).** Extraction des polyphénols à partir des margines et valorisation en tant qu'antioxydants naturels dans les huiles végétales. Mémoire pour l'obtention du diplôme de magister en sciences agronomiques. Ecole national supérieure agronomique EL Harrach-Alger.
- **Medouni-Haroune, L., Zaidi, F., Medouni-Adrar, S., & Kecha, M. (2018).** Olive pomace from an olive mill waste to a resource, an overview of the new treatments, *Journal of Critical Reviews*, 5(6) : 1-6.
- **Mohawesh, O., Al-Hamaiedeh, H., Albalasmeh, A., Qaraleh, S., & Haddadin, M. (2019).** Effect of olive mill wastewater (OMW) application on soil properties and wheat growth performance under rain-fed conditions.
- **Monlau, F., Latrille, E., Da Costa, A.C., Steyer, J.-P., & Carrère, H. (2013).** Enhancement of methane production from sunflower oil cakes by dilute acid pretreatment. *Applied Energy*, 102(0), 1105-1113
- **Morillo, J.A., Antizar –Ladislao, B., Monteoliva-Sanchez, M., Ramos-Cormenzana, A., & Russell, N. J. (2009).** Bioremediation and bio-valorisation of olive-mill wastes. *Applied Microbiology Biotechnology*, 82: 25-39.
- **Moularat, S., Draghi, M., Lacaze, I., Moletta-Denat, M., Bousta, F., Oriol, G., & Robine, E. (2013).** Étude et compréhension de la dynamique de colonisation microbienne des

supports : vers l'élaboration de nouveaux traitements préventifs adaptés aux environnements intérieurs. Rapport final du programme Primerqual. France 112.

- **Mrozik, A., Piotrowska-Seget, Z., & Labuzek, S. (2003).** Dégradation bactérienne et biorestauration des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Journal polonais des études environnementales ; 12 (1) 15-25.
- **Mucha, K., Kwapisz, E., Kucharska, U., & Okruszeki, A. (2010).** Mécanisme de dégradation de l'aniline par la souche de levure *Candida méthanosorbosa* BP-6. Journal polonais de microbiologie ; 59(4) 311-315.

N

- **Nadour, M. (2015).** Extraction, caractérisation des polysaccharides et des polyphénols issus des sous-produits oléicoles, valorisation des polysaccharides à visée alimentaire. Thèse de doctorat : Biochimie appliquée et Biotechnologie. Univ de Tizi –Ouzou, p 17-20.
- **Ntougias, S., Baldrian, P., Ehalotis, C., Nerud, F., Merhautova, V., & Zervakis, G.I. (2015).** Potentiel de biodegradation des eaux usées des moulins à sucre blanc –Mode d'action des extraits de culture fongique et effets des enzymes ligninolytiques .Technologie des bioresources, 189,121-130.

O

- **Obied, H.K., Allen, M.S., Bedgood, D.R., Prenzler, P.D., Robards, K., & Stockmann, R. (2005).** Bioactivity and analysis of biophenols recovered from olive mill waste. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(4) : 823-837.
- **Olivier, D., Boubault, E., Pinatel, C., Souillol, S., Guere, M., & Artaud, J. (2004).** Analyse de la fraction phénolique des huiles d'olive verge. Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique, 2^{ème} Semestre, N°965, 169-196.
- **Ouabou, E., Anouar, A., & Hilali, S. (2014).** Traitement de la margine brute d'huile d'olive par distillation suivi de neutralisation par la chaux. Journal. Applied. Biosciences. 79 : 6867 – 6872.

P

- **Patrurau, D., & Hernandez-Raquet, G. (2011).** La digestion anaérobie et les xénobiotiques. La méthanisation (2^e édition.), 374.
- **Pohland, F.G., & Ghosh, S. (1971).** Développements dans la stabilisation anaérobie des déchets organiques - le concept à deux phases. Lettres environnementales, 1 (4), 255-266.

- **Pramila, R., Padmavathy, K., Ramesh, K.V., & Mahalakshmi, K. (2012).** *Brevi bacillus, parabrevis, Acineto bacter baumannii et Pseudomonas citronellolis- Candidats potentiels pour la biodégradation du polyéthylène basse densité (LDPE).* Journal de recherche en bactériologie ; 4(1) 9-14.



- **Ramaiah, N., De, J., & Vardanyan, L. (2008).** Détoxification des métaux lourds toxiques par des bactéries marines hautement résistantes au mercure. *Biotechnologie marine* ; 10(4) 471-477.
- **Ranalli, A. (1991).** The effluent from olive mills: Proposals for re-use and purification with reference to Italian legislation. *Olivae*, 38, 26 -40.
- **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 Aubière Cedex. France. P : 177–201.
- **Rayan, D., & Robards, K. (1988).** Phenolics compound in olive.
- **Reffas, A. (2010).** Étude de l'adsorption de colorants organiques (rouge nylosan et bleu de méthylène) sur des charbons actifs préparés à partir du marc de café.
- **Reinikainen, (1994).** The cellulose binding domain of cellobiohydrolase I of *Trichoderma reesei*. Thesis. PhD Espoo, Finland: Technical Research Centre of Finland Publications 206.
- **Rharrabti, Y., & El Yamani, M. (2018).** Eaux usées des moulins à huile : technologies de traitement et de valorisation. Dans : Hussain C (edition) Manuel de gestion des matériaux environnementaux. Springer, Cham, pp 1-28
- **Roussas, S., Perraud-Gaime, I., Lakhtar, H., Aouidi, F., Labrousse, Y., Belkacem, N., Macarie, H., & Artaud, J. (2009).** Valorisation biotechnologique des sous-produits de l'olivier par fermentation en milieu solide. *Olive bioteq*, 26(1) : 52-59.



- **Sahli, R. (2017).** Etude phytochimique de quelques plantes extremophiles tunisiennes et exploration de leurs activités biologique. Thèse de Doctorat en « Science du médicament et des autres produits de santé ». Université de carthage, Tunisie.

- **Salgado, V., Fonseca, C., Lopes da Silva, T., Roseiro, J.C., Eusébio, A. (2020).** Isolement et identification de *Magnusio mycescapitatus* en tant que levure productrice de lipase à partir des eaux usées des moulins à huile. Valorisation des déchets et de la biomasse, 11 (7), 3207-3221.
- **Sarris, D., Matsakas, L., Aggelis, L., Koutinas, A.A., & Papanikolaou, S. (2014).** Aerated vs non-aerated conversions of molasses and olive mill wastewaters blends into bioethanol by *Saccharomyces cerevisiae* under non-aseptic conditions. Industrial Crops and Products, 56, 83–93.
- **Savalle, M. (2015).** Otomycose a Aspergillus : Etude rétrospective, expérimentation in vitro et proposition d'un protocole thérapeutique. Thèse doctorat. Université Rouen. France.35p.
- **Senani-Oularbi, N. (2018).** Etude des activités antioxydante, antifongique et hypoglycémiantes des margines d'olives et de leur extrait phénolique. Applications sur matrice alimentaire et sur modèle murin et cellulaire. Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Science biologiques. Université Mouloud Mammeri, Tizi-ouzou.
- **Senesi, N. (1989).** Composted materials as organic fertilizers. Science of The Total Environment, p: 81- 82, 521-542.
- **Seo, J.S., Keum, Y.S., & Li, Q.X. (2009).** Dégradation bactérienne des composés aromatiques. Journal international de recherche environnementale. Santé publique, 6, 278-309 ; doi :10.3390/ijerph6010278.
- **Spellman, F.R. (2008).** L'écologie pour les non écologues. Page 176.
- **Steliga, T. (2012).** Rôle des champignons dans la biodégradation des hydrocarbures pétroliers dans les déchets de forage. Journal polonais des études environnementales ; 21(2) 471-479.
- **Struthers, J.K., Jayachandran, K., Moorman, T.B. (1998).** Biodégradation de l'atrazine par *Agrobacterium radiobacter* J14a et utilisation de cette souche dans la bioremédiation des sols contaminés. Appliqué de Microbiologie Environnementale ; 64 3368-3375
- **Surekha, R. M., Lakshmi, V., Suvarnalatha Devi, K.P., Jaya Madhuri, R., Aruna, S., Jyothi, K., Narasimha, G., & Venkateswarlu, K. (2008).** Isolement et caractérisation d'une bactérie dégradant le chlorpyrifos du sol agricole et sa réponse de croissance. Journal africain de recherche en microbiologie ; (2) 026-031.
- **Styrène, I. N. R. S. (2006).** Fiche toxicologique numéro 2. INRS, édition. Institut International de la Recherche scientifique.

J

- **Tadashi, U. (2006).** Antiaging food compositions containing collagen, and their manufacture. Patent written in Japanese. Application: JP 2006191845 A 20060727, 7 pp.
- **Takeuchi, F., & Sugio, T. (2006).** Volatilisation et récupération du mercure à partir de sols et d'eaux usées pollués par le mercure à l'aide de produits résistants au mercure *Acidithiobacillus ferrooxidans* souches SUG 2-2 et MON-1. *Sciences de l'environnement* ; 13(6) 305-316.

V

- **Vinciguerra, V., D'Annibale, A., DelleMonache, G., & Sermanni, G.G. (1995).** Correlated effects during the bioconversion of waste olive waters by *Lentinusedodes*. – *Bioresource Technology.*, 51(2-3), 221-226.

W

- **Wertz, J-L. (2010).** La lignine. Note de synthèse, ValBiom.
- **Wertz, J-L. (2011).** Les hémicelluloses. Gembloux Agro- Bio Technology, Université de Liège.1-16p.
- **White, C., Sharman, A.K., & Gadd, G.M. (1998).** Un processus microbien intégré pour la bioremédiation des sols contaminés par des métaux toxiques. *Biotechnologie naturelle* ; 16 572-575.
- **Wilkie, A., Faherty, G., & Colleran, E. (2005).** The effect of varying the support matrix on the anaerobic digestion of pig slurry in the upflow anaerobic digestion folter design. *Pre. 2nd E.C. Conference Energy from Biomass.* 531 - 535.
- **Woiciechowski, A. L., De Souza Vandenberghe, L. P., Karp, S. G., Letti, L. A. J., De Carvalho, J. C., Medeiros, A. B. P., & Soccol, C. R. (2013).** The pretreatment step in lignocellulosic biomass conversion: current systems and new biological systems. In *Lignocellulose Conversion* (pp. 39-64). Springer, Berlin, Heidelberg.

Y

- **Yaguchi, A., Franaszek, N., O'Neil, k., Lee, S., Sitepu, I., Boundy Mills, K., & Blenner, M. (2020).** Identification des levures oléagineuses qui métabolisent les composés

aromatiques. *Journal of Industrial Microbiology & Biotchnology* : Journal officiel de la society for industrial Microbiology and Biotechnology,47(9-10),801-813.

- **Yakhlef, W. (2019).** Caractérisation des profils phénoliques et évaluation de l'activité antibactérienne du contenu phénoliques des margines monovariétales. Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat en sciences. Université Larbi BEN M'HIDI Oum El-Bouaghi.

3

- **Zbakh, H., & El abbasi, A. (2012).** Potential use of olive mill wastewater in the preparation of functional beverages: A review. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 53–65.
- **Zenjari, B., El Hajjouji, H., Ait Baddi, G., Bailly, J.R., Revel, J.C., Nejemddine, A., & Hafidi, M. (2006).** Reduction of toxic compounds during the composting of olive mill wastewater straw mixture, *Hazardous materials* 138, 433-437.

Sites internet :

<https://expertises.ademe.fr/economie-circulaire/dechets/passer-a-laction/valorisation-organique/compostage#:~:text=Le%20compostage%20est%20un%20proc%C3%A9d%C3%A9,leur%20structure%20et%20leur%20fertilit%C3%A9>

<https://and.dz/site/wp-content/uploads/guide-compostage.pdf>

Annexes

Annexe 1

- **Préparation de solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 , 20%**

Mélange de 20g sec de Na_2CO_3 avec 100ml d'ED

- **Préparation pour le dosage des polyphénols.**

Préparation de l'acide gallique utilisée dans la solution mère d'étalon

L'acide gallique (également connu sous le nom d'acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque) est un type d'acide phénolique qui se présente sous la forme d'une poudre cristalline blanche ou jaune pâle, inodore, soluble dans le méthanol, l'éthanol, l'eau et l'acétate d'éthyle. La préparation de la SM se fait par le Pesage de 100 mg d'AG sec et le dissoudre dans une fiole avec 100 ml d'AD, la solution sera agitée pour homogénéisation durant 10 min.

- Dilution de la solution mère (AG)

Le volume de 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 (μl) de la SM est dilué dans 1000, 990,980, 960,940,920,900 (μl) d'ED dans des mini tubes en verre numéroté de 1 à 7.

Dilution de la solution mère (extrait)

L'extrait des margines est très chargés par différents composés, par conséquent une dilution de 10^{-4} est nécessaire pour chaque échantillon (brute et dilué) de la culture agitée et non agitée grâce à l'ED, puis 1000 μl d'ED sont ajoutés dans chaque tube contenant l'extrait dilué (SM), suivit d'une agitation au vortex.

Tableau. Protocole de dosage des composés phénoliques (MACHIX et *al.*, 1990).

Tube($\mu\text{g}/\text{ml}$)	1	2	3	4	5	6	7
V SM (μl)	0	10	20	40	60	80	100
V ED (μl)	0	990	980	960	940	920	900
V Total	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Folin	40	40	40	40	40	40	40
Na_2Co_3	200	200	200	200	200	200	200

Annexe 2. Dosage des polyphénols par la méthode de Folin-Ciocalteu

