

#### Université Mohamed Khider de Biskra Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie Département des sciences de la nature et de la vie Filière : Sciences biologiques

Référence ...... / 2025

#### MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté et soutenu par : Boumaraf Wissal ; Meklid Asma

Le :Click here to enter a date.

## Fabrication de milieux de culture pour les moisissures à partir des déchets alimentaires

#### Jury:

Titre 1ier membre du jury MCB Université de Biskra Président

Pr . REDOUANE SALAH Sara Professeur Université de Biskra Rapporteur

Titre 3e membre du jury MCA Université de Biskra Examinateur

Année universitaire: 2024-2025

#### Remerciement

On tient à remercier premièrement ALLAH tout puissant pour le courage, la volonté, la santé et la patience qui nous avons donné pour terminer ce modeste travail.

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude à mon encadrante, Pr.

REDOUANE SALAH Sara pour Ses remarques constructives ont été d'une grande aide dans l'orientation de nos recherches.

Nous tenons à exprimer notre gratitude envers nos parents et nos familles pour leur encouragement et leur instruction.

A tous nos proches et tout ce qui de près ou de loin, nous ont apporté leur soutien pour accomplir ce travail.

#### **Dédicace**

#### بسم الله الرحمن الرحيم

إلى أولئك الذين كانوا النور الذي أضاء عتمة دربي، والدعامة التي استندتُ إليها في كل لحظة تعب أو شك.

#### إلى والدي العزيز منير،

يا من تعبت بصمت، وضحيت من أجل أن لا نشعر بالنقص يومًا...

يا من كنتَ لي المعلم الأول، والناصح الصادق، والسند الذي لا يميل مهما عصفت به الأيام.

علّمتنى كيف أمضى بثبات، وكيف أقف بعد كلّ سقوط،

فكل نجاح في حياتي هو امتداد لخطاك، وكل فخر أعيشه هو انعكاس لتربيتك.

#### وإلى والدتى الحبيبة نادية ،

يا نبع الحنان، يا من سهرتِ لأجلي ليالٍ طويلة ، واحتويتِ ضعفي بدعائك.

كل نجاح في حياتي هو امتداد لتعبك، كل إنجاز هو ثمرة من ثمار صبرك، أنت الدعاء الذي لا يخيب، والأمل الذي لا يغيب. صوتكِ كان الأمان في أوقات الضعف، ودعاؤكِ كان لي سلوانًا في الأوقات العصيبة

#### وإلى أختى الغالية أية ،

إلى من فهمت صمتي، وشجّعتني حين يئست، وضحكت لفرحي كأنّه فرحها.

كنتِ لي الحافز في كلّ مرة شعرت فيها بالتعب، كلماتك اللطيفة، ووجودك بجانبي، كانا عزاءً في أوقات الوحدة وثقل المسؤولية. أنتِ النعمة التي أحمد الله عليها في كل حين، وأهديكِ من قلبي كل هذا الإنجاز هو لكِ كما هو لي، إن لم يكن أكثر.

#### إلى أخي العزيز شهاب،

يا من لم تبخل عليّ لا بكلمة طيّبة، ولا بموقف داعم. وجودك في حياتي قوّة، وتشجيعك لي لم يكن عاديًا، بل كان دافعًا حقيقيًا في كلّ مرة تعبت فيها. أهديك هذه الثمرة المتواضعة من جهدي، لأنك كنت حاضرًا في كل خطوة، حتى من دون أن تتكلم

#### إلى أصدقائي الأوفياء،

من تقاسمتم معي لحظات الإرهاق والفرح، من منحوني من وقتهم واستمعوا لشكواي، وتحملوا تقلباتي النفسية في صمت مشبع بالمحبة.

كنتم الضوء في أيامي المظلمة، والأمان حين كانت الضغوط تسرق مني هدوئي.

وصال

#### **Dédicace**

لم تكن الرحلة قصيرة و لم يكن الطريق محفوفا بالتسهيالت ، لكنني فعلتها ، ها انا قد وصلت الى نهاية رحلتي الجامعية بعد تعب و مشقة و بعد خمس سنوات في سبيل العلم و الحلم حملت في طياتها امنيات و مناكب سعي فكان امسي ميعاد اليوم.

بكل حب أهدي ثمرة نجاحي و تخرجي و حصاد مازر عنه سنينا طويلة في سبيل العلم ل:

الى من لا ينفصل اسمي عن اسمه ، ذلك الرجل العظيم ، الى من علمني ان الدنيا كفاح و سلاحها العلم و المعرفة ، الى من غرس في روحي مكارم االخالق ، داعمي الاول و سندي ، الى من سعى لاجل راحتي و نجاحي ، الى أعظم رجل في الكون الى فخري و اعتزاز ي

#### ...ابي الغالي...

الى انيسة العمر و حبيبة الروح و أعظم نعم الله علي ، الى التي ضمت اسمي بدعواتها في ليلها و نهارها و اضاءت بالحب دربي ، و انارت باللطف و الود طريقي ،و كانت لي سحابا ماطرا بالحب و العطاء الى من كانت ملجئي في هذه الرحلة

#### ...أمى الغالية...

الى السند و الكتف الثابت الذين اذا مالت الدنيا لا يميلون ، ملهمي نجاحي ، الى من شددت بهم عضدي فكانو لي ينابيع ارتوي منها ، الى امان ايامي و اجمل هدايا الكون ، الى قرة عيني ، القلب الدافئ و الابتسامة الصادقة ، اول الداعمين

اخوتي و اغلى ما أملك في هذه الدنيا: زكرياء ، عبد هللا ، حسام الدين.

الى من دعمونى و كانو شركائى فى هذه الرحلة.

من قال انا لها نالها و ها انا اقولها انني لها و إن ابت رغما عنها اتيت بها فالحمد لله شكرا و حبا و امتنانا على البدء و الختام

اسماء

#### Table des matières

Remerciement	•••••
Dédicace	•••••
Liste des figures	I
Liste des tableaux	II
Liste des abréviations	III
Introduction	1
Partie bibliographique	
Chapitre 01 Généralités sur les déchets et les agrumes	
1.1. Définition des déchets	2
1.2. Types des déchets	2
1.2.1. Déchets sous forme liquide	2
1.2.2. Déchets solides	2
1.3. Recyclage	2
1.3.1. Importance de recyclage	3
1.4. Valorisation des déchets	3
1.4.1. Valorisation des pelures d'oranges	3
1.5. Les agrumes.	4
1.5.1. Définition	4
1.5.2. Description morphologique et physiologique des agrumes	5
1.5.3. Mandarine (Citrus reticulata)	6
1.5.4. Orange	6
1.5.4.1. La morphologie de l'orange	7
1.5.4.2. Composition chimique des écorces d'orange	7
1.6. Composition chimique des agrumes	8
1.7. Structure des écorces	8
1.7.1. Composition chimique des écorces	9
1.7.2. Valeur nutritif des écorces	9
1.7.3. Utilisation des écorces	9
1.7.4. propriétés thérapeutiques	10
Chapitre 2 Généralités sur les moisissures	
2.1. Les milieux de culture	11
2.1.1. Définition d'un milieu de culture	11

2.1.2. Classification des milieux de culture
2.1.2.1. Milieu synthétique
2.1.2.2. Milieu naturel
2.2. Définition des moisissures
2.2.1. Morphologie et structure des moisissures
2.2.2. Classification 13
Partie expérimentale
Chapitre 3 Matériel et méthode
3.1- Objectif:
3.2-Matériel
3.2.1. Matériel biologique
3.2.1.1 Les écorces d'orange et de mandarine
3.2.1.2. Souches fongiques de référence
3.3 Méthode
3.3.1. Préparation de la poudre des écorces d'oranges et de mandarine
3.3.2. Préparation des milieux de culture fongiques
3.3.3. Préparation d'un milieu de culture à partir des pelures d'oranges et de mandarines :
3.3.4. Ensemencement des moisissures sur les milieux de culture préparés
Chapitre 04 Résultats et discussion
4.1. Résultat
4.1.1. Evaluation des milieux de culture élaborés pour chaque souche de moisissure 20
4.1.2. Observation macroscopique
4.1.2.1. Pour alternaria alternata:
4.1.2.2. Pour Aspergillus Niger
4.1.2.3. Pour Aspergillus ochraceus
4.1.2.4. penicilium crustosum
4.1.2.5. Pour penicilium chrysogenum
4.1.2.6. Pour aspergillus flavus
4.2. Discussion
Conclusion
Référence bibliographie
Résumé

#### Liste des figures

Figure 1. Différentes variétés d'agrume (Khefifi, 2015).
Figure 2. Coupe transversale schématique d'un agrume typique (Sally, 2018)5
Figure 3. Coupes transversale (A) et longitudinale (B) schématiques d'une mandarine
(Khefifi, 2015)6
<b>Figure 4.</b> Structure morphologique d'une orange. (Dominguez Lopez, 2002)
Figure 5. Structure de l'orange (Huet, 1991)
Figure 6. Hyphe cénocytique (a) et hyphe septé (b) (Redouane-Salah, 2016)12
Figure 7. préparation de la poudre à partir de la pelure d'orange et de mandarine
Figure 8. préparation de milieu de culture
Figure 9. Ensemencement des moisissures sur les milieux de cultures
Figure 10. Suivie de Alternaria alternata pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents
milieux avec la concentration de 10 g /l
Figure 11. Suivie de Alternaria alternata pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents
milieux testés avec la concentration de 15 g/l
Figure 12. Suivie de Aspergillus niger pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents
milieux avec la concentration de 10 g/l
Figure 13. Suivie de Aspergillus niger pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents
milieux avec la concentration de 15 g /l
Figure 14. Suivie de Aspergillus ochraceus pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents
milieux avec la concentration de 10 g /l
Figure 15. Suivie de Aspergillus ochraceus pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents
milieux avec la concentration de 15 g /l
Figure 16. Suivie de <i>Penicillium crustosum</i> pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents
milieux avec la concentration de 10 g /l
Figure 17. Suivie de <i>Penicillium crustosum</i> pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents
milieux avec la concentration de 15 g /l
Figure 18. Suivie de Penicillium chrysogenum pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les
différents milieux avec la concentration de 10 g /l
Figure 19. Suivie de Penicillium chrysogenum pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les
différents milieux avec la concentration de 15 g /l
Figure 20. Suivie de Aspergillus flavus pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents
milieux avec la concentration de 15 g /l

#### Liste des tableaux

Tableau 1. Principaux genres de moisissures et leurs mycotoxines associées (Boudih, 2011)13
Tableau 2. souches fongiques utilisés   15
Tableau 3. Compositions de milieux de cultures
Tableau 4. Développement de Alternaria alternata pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les
différents milieux avec la concentration de 10 g /l
Tableau 5. Développement de Alternaria alternata pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les
différents milieux avec la concentration de 15 g /l
Tableau 6. Développement de Aspergillus niger pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les
différents milieux avec la concentration de 10 g/l
Tableau 7. Développement de Aspergillus niger pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les
différents milieux avec la concentration de 15 g/l
Tableau 8. Développement de Aspergillus ochraceus pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les
différents milieux avec la concentration de 10 g /l
Tableau 9. Développement de Aspergillus ochraceus pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les
différents milieux avec la concentration de 15 g /l
Tableau 10. Développement de Penicilium crustosum pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les
différents milieux avec la concentration de 10 g /
Tableau 11. Développement de Penicilium crustosum pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les
différents milieux avec la concentration de 15 g /l
Tableau 12. Développement de Penicilium chrysogenum pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans
les différents milieux avec la concentration de 10 g /l
Tableau 13. Développement de Penicillium chrysogenum pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours 43
<b>Tableau 14.</b> Développement de <i>Aspergillus flavus</i> pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de 10 g /l
Tableau 15. Développement de Aspergillus flavus pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les
différents milieux avec la concentration de 15 g /l

#### Liste des abréviations

**ZM**: zeste mandarine

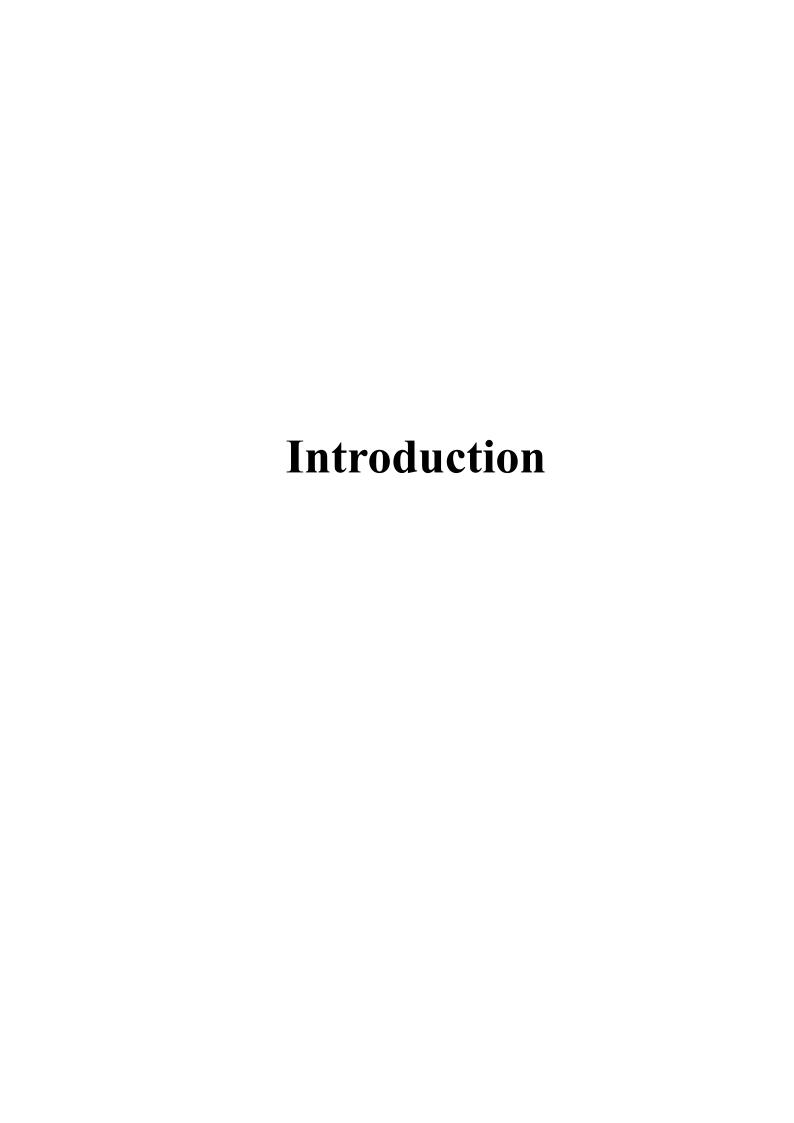
**ZO**: zeste d'orange

**BO**: partie blanche d'orange

**PDA**: l'agar dextrose de pomme de terre.

Glu +: avec glucose

Glu -: sans glucose



#### Introduction

Les fruits d'agrumes figurent parmi les fruits les plus essentiels à l'échelle mondiale. Les principales espèces cultivées comprennent les oranges, les mandarines, les citrons et les pamplemousses. En 2010, les oranges constituaient 61% de la production mondiale d'agrumes, soit 82 millions de tonnes. Près de 30% de la production d'agrumes (et 40% de la production d'oranges) subit une transformation, principalement pour produire du jus. Ce processus génère une importante quantité de résidus (**Badaoui, 2019**).

Le recyclage est une méthode de gestion des déchets (qu'il s'agisse de déchets industriels ou de résidus ménagers) qui offre la possibilité d'incorporer, dans le processus de production d'un article, des objets, des matériaux déjà utilisés ou des sous-produits issus de la fabrication (Bensaada et al., 2015).

La valorisation potentielle des dérivés d'agrumes a non seulement contribué à réduire l'impact environnemental en limitant la pollution, mais a également mené à une évolution vers une économie circulaire durable en établissant un nouveau modèle connu sous le terme de « bioraffinerie ». Ce concept repose sur l'usage ou le recyclage des résidus d'agrumes (Nayak & Bhushan, 2019).

Les pelures d'agrumes représentent approximativement 50% du poids total des fruits, mais elles n'ont aucune valeur économique. Elles sont fréquemment employées comme fourrage pour le bétail ou relâchées dans l'environnement sans subir de traitement (Shariq & Sohail, 2019).

Ces résidus contiennent une abondance de sucres, fibres, minéraux, acides organiques et composés phénoliques, des composants qui pourraient favoriser la croissance de champignons. L'objectif de cette étude est l'utilisation des déchets d'agrumes, notamment les écorces d'orange et de mandarine, en tant que substrats pour la production de milieux de culture destinés à la culture des champignons microscopiques.

Ainsi, notre travail se structure en deux parties :

La première partie est consacrée à une revue bibliographique qui offre un aperçu sur les points suivants :

-Généralités sur les déchets et l'importance de leur recyclage.

- -Caractéristiques des agrumes, leurs modes de valorisation et leurs différentes utilisations ;
- -Généralités sur les moisissures, milieux de culture utilisés pour la croissance des champignons microscopiques.

La deuxième partie est expérimentale et porte sur :

- -La préparation des milieux de culture à base de déchets d'agrumes et l'ensemencement des moisissures .
- -L'évaluation de l'efficacité des milieux élaborés en termes de croissance fongique.

## Partie bibliographique

### Chapitre 01

## Généralités sur les déchets et les agrumes

#### 1.1. Définition des déchets

Les déchets, définis comme « toute matière résiduelle d'un processus de production, de transformation ou d'utilisation, et plus largement toute substance, produit ou bien meuble dont le propriétaire ou le détenteur se défait, envisage de se débarrasser, ou dont il est contraint de se défaire ou d'éliminer ». Les déchets sont donc une collection de résidus, pouvant être solides ou même liquides lorsqu'ils sont stockés dans des contenants considérés comme imperméables. Ces résidus proviennent des diverses actions humaines et domestiques (Aid & Bouadam, 2021); Au cours des dernières années, les déchets ont commencé à être perçus comme une ressource précieuse, un matériau qui s'intègre progressivement dans un processus de réutilisation et de recyclage. Sur le plan économique, un déchet est caractérisé comme un objet ou une substance qui n'a ni valeur, ni même une valeur négative pour son possesseur à un moment précis et dans un emplacement spécifique (Cheniti, 2014).

#### 1.2. Types des déchets

#### 1.2.1. Déchets sous forme liquide

Divers domaines génèrent des résidus liquides, tels que les collectivités (stations d'épuration), les secteurs agroalimentaires, les excréments d'animaux (lisiers, purins), et les déchets provenant des abattoirs (lavage, sang), (Rakotoniaina, 2015).

#### 1.2.2. Déchets solides

Les sources proviennent de l'industrie, en particulier du secteur agroalimentaire, ainsi que des exploitations agricoles et des cultures (Rakotoniaina, 2015).

#### 1.3. Recyclage

Le recyclage est une méthode de gestion des déchets (qu'ils soient industriels ou domestiques) qui permet de réinsérer dans le processus de production d'un produit des objets, des matières déjà utilisées, ou encore des résidus issus de la production. Le recyclage des déchets engendre deux impacts environnementaux significatifs. D'abord, il contribue à la conservation des ressources naturelles de notre planète en remplaçant l'utilisation de matières premières par celle de matériaux recyclés. Ensuite, il diminue le volume et le poids des déchets dans nos bacs, réduisant ainsi les dangers liés à la pollution atmosphérique et des sols (Bensaada et al., 2015).

#### 1.3.1. Importance de recyclage

Le recyclage a une grande incidence économique. En stimulant les domaines du recyclage et de la production, il génère une multitude d'opportunités d'emploi standardisé tout en encourageant les investissements pour une croissance économique durable ..Le recyclage a un impact environnemental significatif. Il est crucial pour la diminution des gaz à effet de serre produits lors de la fabrication de nouveaux articles, ce qui peut être considérablement réduit en substituant les matières premières. L'importation de matériaux recyclés est cruciale pour appuyer nos initiatives en faveur d'un avenir plus durable (Castelli, 1999).

#### 1.4. Valorisation des déchets

La valorisation des déchets implique leur réutilisation d'une manière similaire ou différente, que ce soit par le biais de la régénération initiale, du recyclage dans une production d'origine, de l'exploitation biologique de la matière organique qu'ils contiennent ou de l'exploitation énergétique de la portion combustible. Il y a plusieurs méthodes de valorisation des déchets et sous-produits issus des entreprises agroalimentaires, telles que le déversement direct ou après compostage, l'alimentation des animaux, les secteurs cosmétiques et pharmaceutiques, ainsi que la conversion énergétique (Kemassi, 2021); Provenant du secteur agro-alimentaire, de la transformation agricole ou directement de l'agriculture (coopérative, groupement de producteur), les sous-produits organiques présentent une grande variété: lactosérum, marcs de raisin, vinasses, résidus de légumes issus des conserveries, fruits et légumes retirés, déchets provenant de l'industrie carnée, sang et os.(Ruffy, 1993).

#### 1.4.1. Valorisation des pelures d'oranges

Particulièrement les pelures sont chargées en composés assimilables et proposent plusieurs options d'emploi pour l'alimentation fonctionnelle des humains et des animaux, ainsi que pour servir de supplément nutritionnel (Hamidi & Limam, 2018).

Les écorces d'orange représentent une source significative d'huiles essentielles et de composés aromatiques, représentant entre 0,6 et 1% (M'hiri, 2015).

L'utilisation des résidus de pelage pour la fabrication du biogaz et des biocarburants (tels que l'éthanol), (M'hiri, 2015).

L'extraction des essences et huiles essentielles, qui peuvent servir d'alternative aux fongicides synthétiques, reste la méthode de valorisation industrielle la plus couramment utilisée (M'hiri, 2015).

#### 1.5. Les agrumes

#### 1.5.1. Définition

Les agrumes sont les fruits dérivant des plantes dicotylédones et appartenant à la famille des *Rutaceae*, sous-famille des *Aurantioideae*, tribu des *Citreæ* et sous-tribu des *Citrinæ*. Au sein de la tribu Citreæ, les agrumes regroupent six genres inter-fertiles: *Citrus*, *Fortunella*, *Poncirus*, *Microcitrus*, *Eremocitrus* et *Clymenia* (Audary, 2015); Le groupe Citrus comprend une multitude d'espèces présentant une grande diversité morphologique, qui découle d'un long processus évolutif et des possibilités d'hybridation entre les différentes espèces (Figure 01). Il englobe la plupart des espèces dont les fruits sont consommables (tels que les oranges, les mandarines, les citrons et les pomelos). Les espèces de base des agrumes de ce genre sont *Citrus medica L.* (cédratier) et *Citrus reticulata* Blanco (mandarinier), *Citrus maxima* L. Osbeck (pamplemousse) et *Citrus micrantha* (Khefifi, 2015).



Figure 1. Différentes variétés d'agrume (Khefifi, 2015).

Ces produits sont largement consommés, grâce à leurs arômes et goûts plaisants, leurs qualités nutritionnelles et leurs multiples avantages pour la santé, dus à leur teneur élevée en nutriments et bioactifs (X. Lu et al., 2023); Les agrumes contiennent un fruit de couleur orange ou citron, identifié comme un hesperidium ou une baie de forme particulière, ces fruits se distinguent par une pulpe juteuse composée de vésicules enfermées dans des segments (Baldwin, 1993).

Les résidus produits suite au pressage des agrumes (peaux, pulpes, pépins) constituent environ 50% à 60% du poids total des fruits pressés, et les peaux en représentent plus de la moitié (60% à 65%) du poids de ces résidus (Sally, 2018).

#### 1.5.2. Description morphologique et physiologique des agrumes

Botaniquement parlant, les agrumes sont des fruits charnus de nature baie possédant un péricarpe divisé en trois sections distinctes : l'épicarpe connu sous le nom de Flavédo, le mésocarpe également appelé Albédo et l'endocarpe (pulpe), (Figure 02). L'épicarpe représente l'enveloppe externe du fruit. Il est teinté par des pigments de carotènoides et constitue 8 à 10% du fruit. Le mésocarpe est la couche interne de couleur blanche et de texture spongieuse, dont l'épaisseur varie selon la taille du fruit, pouvant représenter entre 12 et 30% de celui-ci. Elle est étroitement liée à l'épicarpe, avec lequel elle constitue ce qu'on appelle généralement les écorces d'agrumes. L'endocarpe constitue la portion comestible des agrumes. C'est une mince membrane qui recouvre les multiples loges carpellaires. Sur le plan interne, cette membrane est couverte de poils charnus qui, réunis, constituent la partie comestible ou pulpe contenant les graines ou pépins (Ramful et al., 2010 ;Bennici & Tani, 2004; Albagnac et al., 2002).

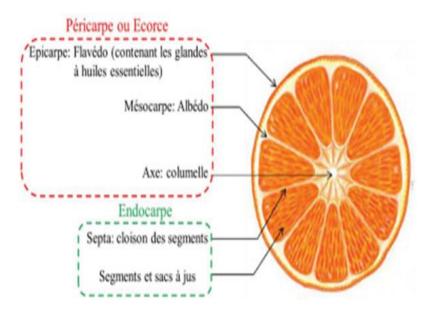


Figure 2. Coupe transversale schématique d'un agrume typique (Sally, 2018).

#### 1.5.3. Mandarine (*Citrus reticulata*)

La majorité de ces fruits sont cultivés dans les zones tropicales, notamment en Indonésie. Ils sont souvent jugés meilleurs que d'autres variétés d'agrumes du fait de leur saveur douce et fraîche, leur teinte légèrement acide et jaune à pleine maturité, qui les rend plus séduisants (Al Riza et al., 2023).

Il exhibe une cime épaisse, dotée de branches élancées qui arborent des feuilles d'un vert foncé et de forme lanceolée, avec une nervure centrale bien définie. Cet arbre donne naissance à des fleurs odorantes de couleur blanche, qui sont suivies par des fruits aplatis et ovales, dotés d'une chair dorée et sucrée (Figure 03), (Musara et al., 2020).

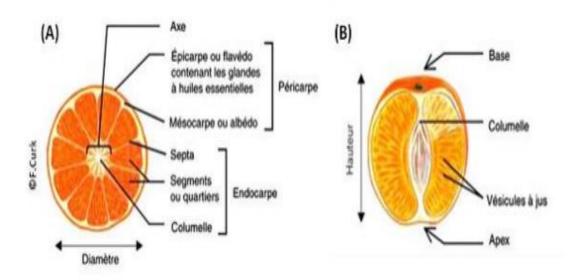


Figure 3. Coupes transversale (A) et longitudinale (B) schématiques d'une mandarine (Khefifi, 2015).

#### **1.5.4.** Orange

Le fruit, généralement de forme arrondie, est connu sous le nom d'hespéride. La couleur et la taille varient considérablement en fonction de la variété. Effectivement, on peut faire la différence entre l'orange bigarade et l'orange douce. Cela inclut les oranges navels blondes, les oranges blondes, les oranges sanguines et les oranges sucrées (Haineault, 2011).

#### 1.5.4.1. La morphologie de l'orange

S'établit de l'extérieur vers l'intérieur comme suit (Figure 04) :

- L'écorce qui se compose de deux éléments
- 1. L'épicarpe : il s'agit de la partie teintée que l'on nomme « flavedo ». Elle constitue 8 à 10 % du fruit et renferme des glandes à huiles essentielles qui abritent des composés de faible masse moléculaire tels que le limonène, les substances aromatiques, les pigments caroténoïdes, les vitamines et les flavonoïdes (par exemple l'hespéridine, la naringine, la sinensetin, etc.).
- 2. Le mésocarpe : la partie interne du mésocarpe est dénommée 'albédo'. Il constitue entre 12 et 30 % du fruit.

Il est de teinte blanchâtre et renferme de la cellulose, de l'hémicellulose, de la lignine, des sucres solubles, des acides aminés, des vitamines ainsi que de la pectine (Robert, 1999).

• La pulpe. C'est la portion comestible qui constitue entre 50% et 80% du fruit (Robert, 1999).

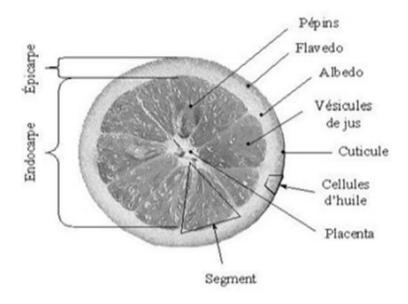


Figure 4. Structure morphologique d'une orange. (Dominguez Lopez, 2002).

#### 1.5.4.2. Composition chimique des écorces d'orange

Il est à souligner que les écorces renferment une concentration supérieure de composés biologiquement actifs par rapport à la partie consommable de l'orange, en particulier les polyphénols, principalement les acides phénoliques tels que l'acide hydroxybenzoïque et l'acide hydroxycinnamique (Cirrincione et al., 2024).

Les composants primaire de l'écorce d'orange sont le glucose, le fructose et le saccharose (Bicu & Mustata, 2011; Grohmann et al., 1995).

Le saccharose et le glucose prédominent dans les phases initiales et de maturation de l'écorce. L'albédo contient une grande quantité d'amidon, qui est également présent dans le flavédo lorsqu'il est encore vert (Ladaniya, 2017).

Les flavonoïdes (l'hespéridine, la néohespéridine, la naringine, l'ériocitrine, la néoériocitrine et la narirutine), anthocyanines, caroténoïdes et huiles essentielles sont des éléments secondaires que l'on retrouve dans l'écorce d'orange. Elle renferme aussi d'autres éléments tels que les glucides, les minéraux et, en faible proportion, des lipides et des protéines (Sally, 2018; D. Lu *et al.*, 2009).

#### 1.6. Composition chimique des agrumes

Les agrumes sont non seulement riches en vitamines, minéraux, fibres et pectines, mais ils renferment aussi des composés phytochimiques actifs, y compris des composés phytophénoliques comme les flavanones, flavones, flavonols, acides phénoliques, entre autres (Aruoma et al., 2012).

#### 1.7. Structure des écorces

Le flavedo (la couche externe colorée) et l'albédo (la couche interne blanche) constituent respectivement l'exocarpe et le mésocarpe des agrumes (Figure 05). Ensemble, ils forment la peau qui représente environ 50% du poids frais du fruit (Multari et al., 2021).

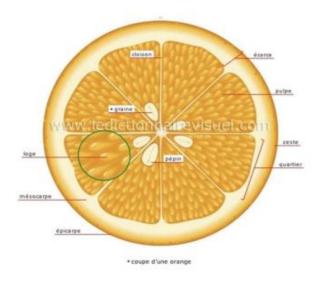


Figure 5. Structure de l'orange (Huet, 1991).

#### 1.7.1. Composition chimique des écorces

Le flavédo et l'albédo renferment des éléments chimiques significatifs et produisent des composés comme les fibres alimentaires, les acides gras essentiels ainsi que divers composés phytochimiques. Flavedo est marqué par l'existence de nombreuses capsules d'huile renfermant des composés organiques volatils, des caroténoïdes, des acides gras et des stérols. L'albédo est un matériau spongieux réputé pour sa riche composition en pectine, hémicellulose et cellulose (Multari et al., 2021).

#### 1.7.2. Valeur nutritif des écorces

Les pelures d'agrumes contiennent une concentration supérieure de composés bioactifs comparativement aux autres parties du fruit. Des études ont démontré que les composés bioactifs contenus dans les écorces offrent de nombreux bienfaits pour la santé, y compris des propriétés antioxydantes, anti-diabétiques, anti-cancéreuses, antihypertenseurs, hypocholestérolémiques, anticholinestérasiques et anti-inflammatoires. On retrouve parmi ces composés certains flavonoïdes réputés pour leurs propriétés thérapeutiques, tels que la nobiletine, la naringine, la naringénine, l'hespéridine et la narirutine (Ademosun, 2024).

Grâce à leurs propriétés antioxydantes et leur aptitude à augmenter la production de globules blancs, les écorces d'agrumes, riches en vitamine C, sont bénéfiques pour le système immunitaire. Ils contient des flavonoïdes, en particulier l'hespéridine, qui régulent les enzymes responsables de la production de médiateurs pro-inflammatoires, ce qui diminue l'inflammation. La naringine et la naringénine, présentes en grande quantité dans ces écorces, ont également des vertus anti-inflammatoires.

Les caroténoïdes contenus dans l'écorce des oranges sont efficaces pour supprimer les radicaux immunosuppresseurs et stimulent la production de molécules immunomodulatrices indispensables au fonctionnement optimal du système immunitaire (Ademosun, 2024).

#### 1.7.3. Utilisation des écorces

Les résidus d'écorces d'agrumes sont aujourd'hui principalement employés pour l'alimentation des animaux, l'amendement organique du sol, comme substrat de compostage et comme ressource pour la fabrication de bioéthanol et de biométhanol. Ils constituent une ressource hautement valorisée qui peut être convertie en différents produits bénéfiques dans le secteur de l'alimentation, tels que la pectine, les fibres alimentaires, les protéines et les acides gras.

Par ailleurs, les résidus d'écorces d'agrumes pourraient être utilisés pour l'extraction de flavonoïdes, d'agents bénéfiques et d'acide citrique, surtout dans les secteurs cosmétique et pharmaceutique (Zh et al., 2023).

La pectine est employée dans diverses formulations telles que les produits laitiers, les préparations de fruits, les crèmes glacées, les produits émulsionnés, ainsi que la confiture et les gelées (M'hiri, 2015).

Les pelures d'agrumes sont aussi employées dans les réactions biochimiques, comme la fabrication de plastique biodégradable par la copolymérisation du limonène dérivé des pelures d'agrumes et du dioxyde de carbone (M'hiri, 2015).

#### 1.7.4. Propriétés thérapeutiques

#### Notamment:

- ✓ Effet veinotonique, favorisant la circulation sanguine (flavonoïdes).
- ✓ Effet antispasmodique (extrait d'écorce).
- ✓ Effet antibactérien (principalement l'huile essentielle).
- ✓ Effet antiviral (flavonoïdes).
- ✓ Solution pour l'insomnie et la nervosité (feuilles et fleurs).
- ✓ Augmentation de l'appétit (zestes), (Karimi et al., 2012; Santos et al., 2011).

# Chapitre 02 Généralités sur les moisissures

#### 2.1. Les milieux de culture

Pour croître et se reproduire, les micro-organismes nécessitent des nutriments, une source d'énergie ainsi que certaines conditions environnementales. Milieux de culture employés en laboratoire pour la multiplication des micro-organismes, fournissant les nutriments (Ravimannan et al., 2014).

#### 2.1.1. Définition d'un milieu de culture

Selon **Vasanthakumari**, (2016), un milieu de culture est un milieu nutritif préparé au laboratoire destinée à favoriser la croissance des microorganismes.

#### 2.1.2. Classification des milieux de culture

On peut classer les milieux de culture en diverses catégories en fonction de plusieurs critères (Vasanthakumari, 2016; Aneja, 2007).

Selon leur composition il existe

#### 2.1.2.1. Milieu synthétique

Le milieu de culture synthétique est un type de milieu dont la composition chimique est précisément connue. Il est élaboré à partir de composés chimiques purs, avec une formulation définie à la fois qualitativement et quantitativement. (Vasanthakumari, 2016; Aneja, 2007).

#### 2.1.2.2. Milieu naturel

C'est le milieu dont la composition chimique précise reste à déterminer. Ce genre de milieu de culture est composé de matières naturelles telles que le lait, l'urine, les extraits de levure, le sang, la pomme de terre, etc. (Vasanthakumari, 2016; Aneja, 2007).

#### 2.2. Définition des moisissures

Une moisissure est constituée de filaments cellulaires longs, fins et ramifiés nommés hyphes (du grec huphê: tissus), qui donnent naissance à un mycélium, c'est-à-dire une masse enchevêtrée ou un agrégat de tissus (Presscot et al., 2003); ils font partie du règne des Mycètes (Fungi). La classification repose sur la séparation des hyphes et l'observation des traits morphologiques durant la reproduction sexuée. Les Eumycètes, aussi appelés vrais champignons, constituent un groupe très étendu qui comprend quatre classes majeures : les Zygomycètes, les Ascomycètes, les Basidiomycètes et les Deutéromycètes (Bourgeois et al., 1996).

Les moisissures sont des phytopathogènes qui se développent en saprophytes dans le sol, sur les végétaux ou sur les résidus de plantes en décomposition. Elles sont donc omniprésentes dans notre environnement et leur croissance est stimulée par l'humidité (Gangneux et al., 2023).

#### 2.2.1. Morphologie et structure des moisissures

Les champignons se caractérisent par leur structure qui repose sur leur appareil végétatif nommé thalle, composé d'hyphes ou de cellules étendues en forme de filaments tubulaires ayant un diamètre variant de 2 à 10 µm. Ces hyphes renferment les organites typiques d'une cellule : le noyau, la mitochondrie, le cytoplasme et les vésicules. Ils peuvent être séparés ou non, et leur regroupement constitue le mycélium (Ahmadou, 2019) ; Tout comme avec tout autre substrat, la colonisation des supports en papier se fait par l'élargissement et la ramification des hyphes qui peuvent parfois être observés sous forme de petites taches colorées à leur surface. Les hyphes absorbent l'eau et les composés organiques présents dans divers substrats qu'ils investissent pour leur croissance (Boudih, 2011).

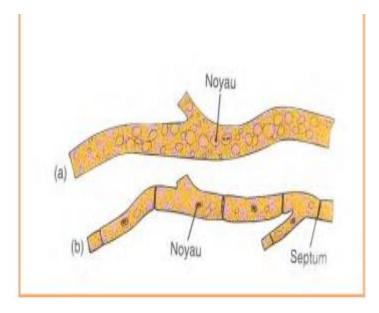


Figure 6. Hyphe cénocytique (a) et hyphe septé (b) (Redouane-Salah, 2016).

Les hyphes, qu'ils soient segmentés ou non, sont entourés d'une paroi résistante qui détermine leur forme (Figure 06). Le cytoplasme, confiné par une membrane cytoplasmique, renferme des ribosomes, des mitochondries, un ergastoplasme, des vacuoles qui créent un maillage au sein du mycélium jeune et une vaste zone centrale dans le mycélium mature (Derguine, 2019).

#### 2.2.2. Classification

Les moisissures ne représentent pas une catégorie uniforme, mais se répartissent dans différentes familles de champignons microscopiques (Tableau 01). Ils sont classés en fonction de leurs caractéristiques morphologiques (la structure du mycélium) et de leur méthode de reproduction (Davet, 1996); Les Eumycètes, qui représentent les champignons véritables, constituent une large catégorie comprenant les classes majeures de moisissures, à savoir les Zygomycètes, les Ascomycètes, les Basidiomycètes et les Deutéromycètes (Bourgeois et al., 1996).

Tableau 1. Principaux genres de moisissures et leurs mycotoxines associées (Boudih, 2011).

Espèce fongique productrice	Mycotoxines associées
Aspergillus sp.	gliotoxine, fumagilline, acide helvolique, trypacidine, fumitrémorgines, fumiquinazolines, aflatoxines, ochratoxines, stérigmatocystine
Alternaria sp.	alternariol, acide ténuazonique
Claviceps sp.	alcaloïdes (ergotamine et dérivés)
Fusarium sp.	trichothécènes (déoxynyvalénol, toxine T-2, diacétoxyscirpénol, nivalénol), zéaralénone, fumonisines, fusarine, moniliformine
Penicillium sp.	ochratoxine A, pénitrem A, acide cyclopiazonique, patuline, citrinine

## Partie expérimentale

#### 3.1. Objectif

L'objectif de la présente travail est basé sur la préparation des milieux de cultures pour les micromycètes (moisissures), à partir des déchets alimentaires valorisés.

Ce travail a été réalisé en laboratoire pédagogique du Département de Biologie à l'Université Mohamed Khider -Biskra-.

#### 3.2. Matériel

#### 3.2.1. Matériel biologique

#### 3.2.1.1. Déchets agro-alimentaires

Pelures d'oranges (blanc et orange) et mandarines issues de la consommation humaine.

#### 3.2.1.2. Souches fongiques de référence

Afin d'évaluer les milieux fongiques préparées, Six (06) souches fongiques ont été utilisées (Tableau 02).

Code	Espèce
01	Penicillium crustosum
02	Penicillium chrysogenum
03	Alternaria alternata
04	Aspergillus niger
05	Aspergillus flavus
06	Aspergillus ochraceus

Tableau 2. Souches fongiques utilisés.

#### 3.3. Méthode

#### 3.3.1. Préparation de la poudre des écorces d'oranges et de mandarine

Les pelures d'oranges et de mandarines viennent de la consommation humaine, ont été lavées avec de l'eau du robinet, puis laissées sécher à l'air libre. Une fois séchées, les pelures ont été broyées en une poudre fine (Figure 07).



Figure 7. Préparation de la poudre à partir de la pelure d'orange et de mandarine.

#### 3.3.2. Préparation des milieux de culture fongiques

Dans notre étude 13 milieux de cultures pour les moisissures ont été préparés

(1) PDA (Potato Dextrose Agar) : Apporte des éléments nutritifs optimisé pour une croissance rapide, milieu de culture Standard.

Milieux de cultures à tester :

- (2): Z.O.G+ 15g: Zeste d'oranges (15g/l) + Glucose + agar
- (3) : B.O.G+ 15g : Blanc de pelure d'oranges (15g/l) + Glucose + agar
- (4) : Z.M.G+ 15g : Zeste de mandarine (15g/l) + Glucose + agar
- (5) : Z.O.G- 15g : Zeste d'oranges (15g/l), sans Glucose + agar
- (6) : B.O.G- 15g : Blanc de pelure d'oranges (15g/l), sans Glucose + agar
- (7) : Z.M.G- 15g : Zeste de mandarine (15g/l), sans Glucose + agar
- (8) : Z.O.G+ 10g : Zeste d'oranges (10g/l) + Glucose + agar
- (9) : B.O.G+,10g: Blanc de pelure d'oranges (10g/l) + Glucose + agar
- (10): Z.M.G+ 10g: Zeste de mandarine (10g/l) + Glucose + agar
- (11): Z.O.G- 10g: Zeste d'oranges (10g/l), sans Glucose + agar
- (12): B.O.G- 10g: Blanc de pelure d'oranges (10g/l), sans Glucose + agar

(13): Z.M.G- 10g: Zeste de mandarine (10g/l), sans Glucose + agar
Le milieu témoin PDA a été préparé selon le protocole expérimental connu (voir annexe).

### 3.3.3. Préparation d'un milieu de culture à partir des pelures d'oranges et de mandarines

Nous avons préparé 12 milieux de culture solide, pour les moisissures, à partir des pelures d'oranges et de mandarines .

Trois types de poudres de pelure ont été préparés (Z.O, B.O et Z.M). Pour chacun, deux concentrations ont été testées : 10 g/L et 15 g/L. Les milieux ont été préparés soit en absence, soit en présence de glucose comme source de carbone supplémentaire. Afin de solidifier les milieux, 20 g d'agar ont été ajoutés à chaque préparation. Le volume total de chaque milieu a été ajusté à 1000 mL à l'aide d'eau distillée, le tout dans un erlenmeyer (Figure 08).

Ensuite, tous les milieux préparés ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.



Figure 8. Préparation de milieu de culture.

**Tableau 3.** Compositions de milieux de cultures

Milieu	Compositions (1000 ml )
Z.O.G+ (15g)	15 g de poudre de Zeste d'oranges + 20g glucose + 20 g agar
B.O.G+ (15g)	15g de poudre de Blanc d'oranges + 20g glucose + 20g agar
Z.M.G+ (15g)	15 g de poudre de Zeste des mandarines + 20g glucose + 20g agar
Z.O.G- (15g)	15 g de poudre de Zeste d'oranges + 20g agar
B.O.G- (15g)	15g de poudre de de blanc d'oranges + 20g agar
Z.M.G- (15g)	15 g de poudre de Zeste des mandarines + 20g agar
Z.O.G+ (10g)	10 g de poudre de Zeste d'oranges + 20g glucose + 20g agar
B.O.G+ (10g)	10 g de poudre de blanc d'oranges + 20 g glucose + 20g agar
Z.M.G+ (10g)	10 g de poudre de Zeste des mandarines + 20 g glucose + 20 g agar
Z.O.G- (10g)	10 g de poudre de Zeste d'oranges + 20g agar
B.O.G- (10g)	10 g de poudre de blanc d'oranges + 20 g agar
Z.M.G- (10g)	10 g de poudre de Zeste des mandarines + 20 g agar

#### 3.3.4. Ensemencement des moisissures sur les milieux de culture préparés

Sous des conditions stériles, les milieux de cultures préparés ont été coulé dans des boîtes de Pétri. Ensuite à l'aide d'une anse de platine stérilisé, un fragment de mycélium de chacun des souches fongiques est prélevé puis déposé au centre de la boîte de Pétri (Figure 09).

La date, la souche fongique et le milieu de culture sont indiqués sur les boîtes de Pétri avant de les incubées dans l'étuve jusqu'à l'obtention des souches fongiques.

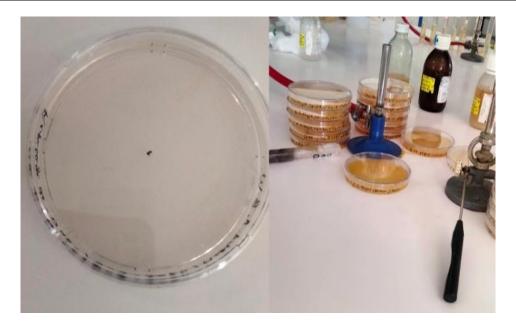


Figure 9. Ensemencement des moisissures sur les milieux de cultures.

En comparant avec le milieu standard. Nous avons évalué la vitesse de croissance des espèces fongiques utilisés dans chaque milieu à tester. trois répétition ont été réalisées pour chaque milieu.

On a suivie les souches dans les milieux à testées pendant 7, 14, 21, 28 et 35 jours.

## Chapitre 04 Résultats et discussion

Chapitre 04 Résultats et discussion

#### 4.1. Résultat

Les résultats obtenus dans la présente étude, ont montré des variations importantes de croissance en fonction des milieux utilisés. En général, les champignons ont montré une croissance plus rapide dans le milieu à base des zestes de mandarine et le PDA, par rapport à ceux cultivés dans les autres milieux de culture (croissance lente).

#### 4.1.1. Evaluation des milieux de culture élaborés pour chaque souche de moisissure

L'évaluation des milieux de culture élaboré pour des souches de moisissures consiste à analyser leur capacité à favoriser ou inhiber la croissance, ainsi qu'à répondre aux besoins nutritionnels et environnementaux des moisissures ciblées.

Voici quelques critères pris en compte lors de l'évaluation :

- 1- Expansion des colonies (dimension et densité des colonies).
- 2- Structure des colonies.
- 3- Fabrication de pigments (pour la coloration) ainsi que le processus de sporulation.

#### 4.1.2. Observation macroscopique

Les observations macroscopiques des cultures des souches fongiques testées ont été suivies pendant 35 jours, l'observation a été commencée après 7 jours de culture. Les résultats ont révélé des différences notables dans la croissance pour chaque souche fongique et pour chaque milieu de culture testé.

Malheureusement, quelques boîtes de Pétri ont été contaminées. En raison du temps limité, nous n'avons pas pu refaire l'expérience.

#### 4.1.2.1. Pour Alternaria alternata

Les résultats de croissance de *Alternaria alternata* dans les différents milieux sont détaillés ci-dessous.

Tableau 4. Développement de *Alternaria alternata* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de 10 g /l .

		Pour la con	centration de 10	g/l du milieu tes	ité	
		0	Observation après	7 jours		
Z	M	ZO			ВО	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	++	++	+	+++
		Ol	bservation après	14 jours		
Z	M		zo		ВО	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1	1	0	bservation après	21 jours	1	
Z	ZM		ZO		ВО	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		Ol	bservation après	28 jours		
Z	M		zo		ВО	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		Ol	bservation après	35 jours		
ZM		ZO		ВО		PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

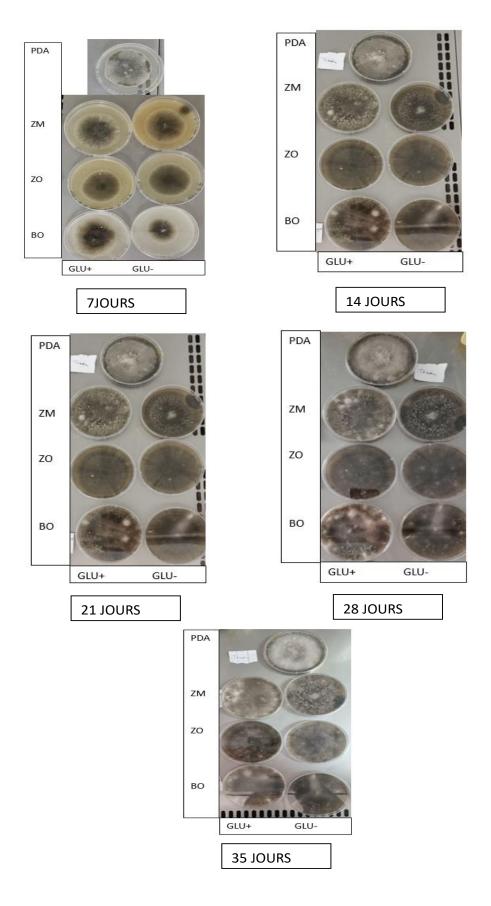


Figure 10. Suivie de *Alternaria alternata* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de 10 g/l.

Tableau 5. Développement de *Alternaria alternata* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de 15 g /l .

Pour la concentration de 15 g/l du milieu testé							
		0	bservation après	s 7 jours			
	ZM	ZO			ВО	PDA	
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-		
++	++	++	+	++	+	+++	
	1	Ol	bservation après	14 jours			
	ZM		zo		ВО	PDA	
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-		
+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	
,	'	Ol	bservation après	21 jours			
	ZM	ZO			ВО	PDA	
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-		
+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	
		Ol	bservation après	28 jours			
	ZM		zo		ВО	PDA	
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-		
+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	
	'	Ol	bservation après	35 jours	,		
	ZM		zo	ВО		PDA	
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-		
+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	

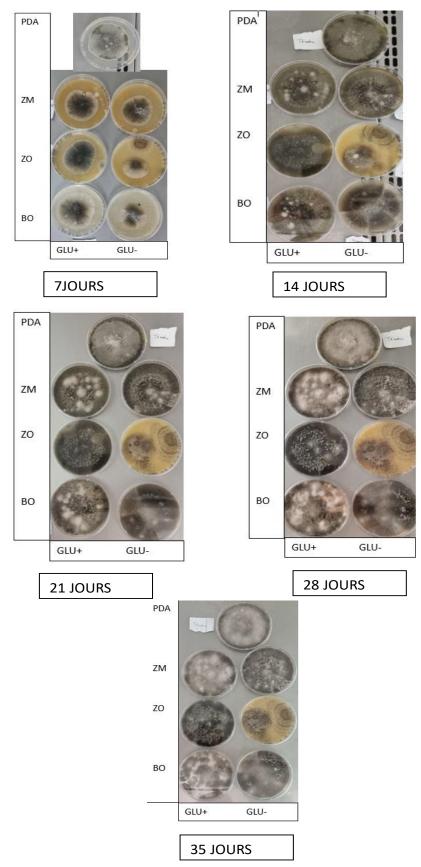


Figure 11. Suivie de *Alternaria alternata* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux testés avec la concentration de 15 g/l.

## À la concentration de 10g/l

D'après la figure 10 et le Tableau 04, après 7 jours de croissance, la souche fongique *Alternaria alternata* a montré une croissance rapide dans les différents milieux testés (avec la concentration de 10g/l) enrichis en glucose. Ceci en comparant avec la croissance importante qui a été également observée sur le milieu standard PDA. En revanche, les milieux dépourvus de glucose ont montré une croissance plus lente. Il convient de souligner que cette croissance concerne uniquement le mycélium primaire, de couleur blanche.

Après 14js et 21 jours de culture, le mycélium de la souche *Alternaria alternata* présente une teinte noire au centre de la colonie, entourée d'un pourtour plus clair. Ce développement est plus rapide dans le milieu PDA ainsi que dans les différents milieux testés enrichis en glucose, comparativement aux milieux dépourvus de glucose.

Après 28 jours et 35 jours de culture, le mycélium noir de la souche *Alternaria* alternata envahit l'ensemble de la boîte de Pétri dans les milieux testés ainsi que dans le milieu PDA. Les spores apparaissent sous forme d'un duvet blanc de texture cotonneuse. Une forte sporulation a été constatée au bout de 35 jours sur tous les milieux, avec ou sans glucose.

## À la concentration 15g/l

Des observations similaires à celles obtenues à la concentration de 10 g/L ont été enregistrées. Toutefois, une exception a été observée dans le milieu ZO, qui a montré un retard de croissance pendant toute la période de suivi, probablement en raison d'une contamination par une autre souche fongique (Figure 11 et Tableau 05).

#### 4.1.2.2. Pour Aspergillus niger

Les résultats de croissance de *Aspergillus niger* dans les différents milieux sont détaillés ci-dessous.

Tableau 6. Développement de *Aspergillus niger* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de 10 g/l .

		Pour la conc	entration de 10	g/l du milieu test	é	
		Ol	bservation après	7 jours		
ZM		ZO	1	ВО		PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	+	+	++	+	+++
<u>'</u>	<u>,                                      </u>	Ob	servation après	14 jours	<u>,                                      </u>	
ZM		zo		ВО		PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	++	++	++	+++
•	<u>,                                      </u>	Ob	servation après	21 jours	<u>,                                      </u>	
ZM		ZO	ZO BO		PDA	
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	++	++	++	+++
		Ob	servation après	28 jours		
ZM		ZO		ВО		PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	++	++	++	+++
	I	Ob	servation après	35 jours	I	
ZM		ZO		ВО		PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	++	++	++	+++

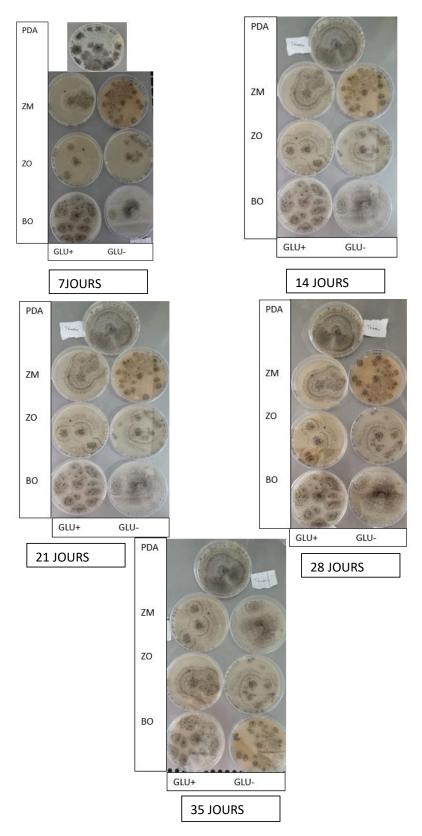


Figure 12. Suivie de *Aspergillus niger* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de 10 g/l.

Tableau 7. Développement de *Aspergillus niger* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de 15 g/l .

		Pour la conc	entration de 15g	/l du milieu testé		
		O	Observation après 7	jours		
	ZM		zo		ВО	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
+++	++	+++	+	++	+	+++
		O	bservation après 1	4 jours		
	ZM		zo		ВО	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	++	++	++	+++
		Ol	bservation après 2	1 Jours		
	ZM		zo		ВО	
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
+++	++	+++	++	+++	++	+++
		Ol	bservation après 28	3 Jours		
	ZM		zo		ВО	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
+++	++	+++	++	+++	++	+++
		O	bservation après 3	5 jours		
	ZM		zo	во		PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+ GLU-		
+++	++	+++	++	+++	++	+++

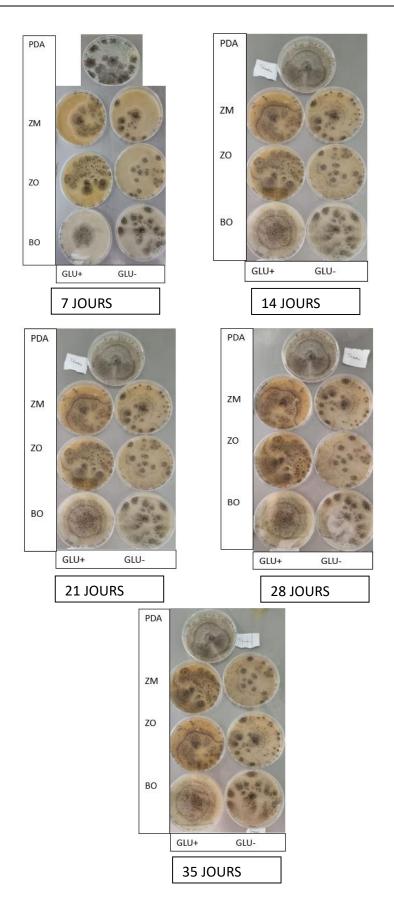


Figure 13. Suivie de *Aspergillus niger* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de 15 g/l.

## À la concentration 10g/l

Selon la figure 12 et le Tableau 06, après 07 jours de culture, la souche *Aspergillus niger* a démontré une prolifération rapide dans la plupart des milieux expérimentés, en particulier ceux enrichis de glucose, présentant une croissance similaire à celui constaté sur le milieu standard PDA. On a observé une croissance légèrement moindre dans les milieux sans glucose.

Au bout de 14 jours, la croissance commence à se stabiliser sur tous les milieux, y compris ceux qui ne contiennent pas de glucose. La sporulation commence à se manifester par des structures filamenteuses caractéristiques, avec des régions sombres signalant la production de spores.

Après une période de 21 à 28 jours, la croissance demeure stable et une densité de sporulation importante est notée, en particulier sur les milieux enrichis de glucose.

Après 35 jours, une sporulation abondante est visible sur tous les milieux, mais elle est plus prononcée sur ceux contenant du glucose. Le développement est similaire, voire légèrement supérieur à celui observé sur PDA.

## À la concentration 15g/l

Les résultats, de la croissance mycélienne, sont généralement comparables à ceux obtenus avec la concentration de 10 g/L. Toutefois, l'expansion de la souche est plus marquée dans les milieux contenant 15 g/L enrichis de glucose, notamment sur ZM et BO. Au bout de 7 jours, la croissance est nettement avancée et on observe un mycélium dense.

Au bout de 14 à 21 jours, la croissance continue de manière accélérée, avec une sporulation noire marquée au centre des colonies. Les milieux dépourvus de glucose démontrent une croissance adéquate, bien que légèrement plus tardive.

Après 28 et 35 jours, tous les milieux enrichis en glucose sont entièrement colonisés, avec une sporulation riche et abondante qui est comparable, voire supérieure, à celle observée sur le PDA (Figure 13 et Tableau 07).

Il est à noter que après 35 jours, la souche présente une capacité sporulante élevée sur tous les milieux testés que se soit avec ou sans glucose.

## 4.1.2.3. Pour Aspergillus ochraceus

Les résultats de croissance de *Aspergillus ochraceus* dans les différents milieux sont détaillés ci-dessous.

Tableau 8. Développement de *Aspergillus ochraceus* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de 10 g/l.

		Pour la conce	entration de 10 g	/ l du milieu testé		
		Ob	oservation après	7 jours		
Z	М	zo		В	80	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
+	+	+	+	+	+	++
		Ob	servation après 1	4 jours		
Z	М	Z	ZO		80	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	++	++	+	+++
	·	Ob	servation après 2	1 jours	·	
Z	M	Z	О	В	80	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	+	+	++	+	+++
1	1	Ob	servation après 2	8 jours	1	
Z	М	Z	О	В	80	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	+	+	++	+	+++
	<u> </u>	Ob	servation après 3	5 jours	•	
Z	M	Z	О	В	ВО	
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	+	+	++	+	+++

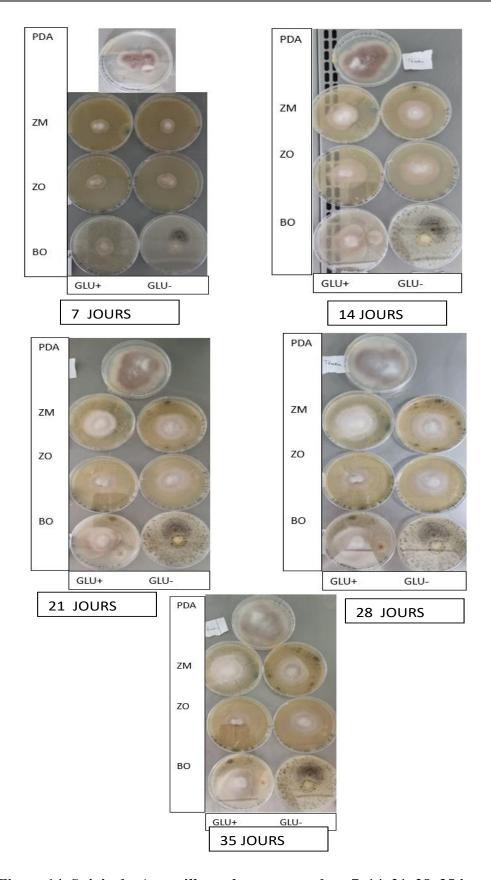


Figure 14. Suivie de *Aspergillus ochraceus* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de  $10~{\rm g}$  /l .

Tableau 9. Développement de Aspergillus ochraceus pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de 15 g /l .

		Pour la concer	ntration de 15 g/l	du milieu testé		
		(	Observation aprè	s 7 jours		
ZM		ZO		ВО		PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
+	+	+	+	+	+	++
	<u>'</u>	C	Observation après	14 jours	•	
Z	ZM		zo	]	во	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	+	++	++	+++
	·	C	Observation après	21 jours	·	
ZM		ZO		ВО		PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	++	++	+	+++
		C	Observation après	28 jours		
ZM		ZO		ВО		PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
+++	+++	+++	+	++	++	+++
		C	Observation après	35 jours		
ZM		ZO		ВО		PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
+++	+++	+++	+	++	++	+++

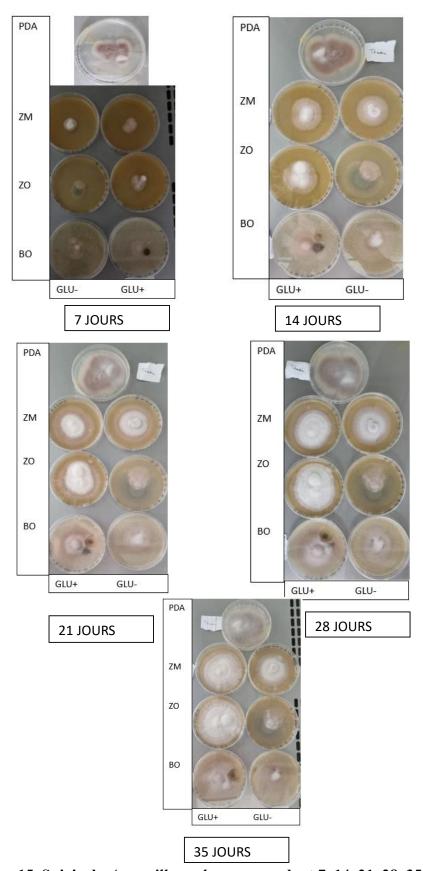


Figure 15. Suivie de *Aspergillus ochraceus* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de 15 g /l .

#### A la concentration 10 g/l

D'après la figure 14 et le Tableau 08, après 7 jours de culture, *Aspergillus ochraceus* présente une croissance modérée sur l'ensemble des milieux testés, avec une croissance légèrement supérieure sur le milieu PDA. Le mycélium est initialement blanc, sans indication claire de sporulation.

Après 14 jours, la croissance devient plus marquée dans les milieux enrichis en glucose, notamment sur ZM et ZO. Une légère sporulation commence à apparaître, perceptible par une teinte blanchâtre. Les milieux sans glucose montrent une croissance plus lente et un mycélium toujours blanc.

Entre 21 et 28 jours, la sporulation s'intensifie, avec un mycélium plus dense dans les milieux avec glucose.

Après 35 jours, la croissance est soutenue sur tous les milieux, avec une colonisation complète dans la majorité des boîtes enrichies en glucose. Une forte sporulation, est surtout observée dans les milieux enrichis de glucose et sur PDA.

## À la concentration de 15 g/L

D'après la figure 15 et le Tableau 09, les observations sont similaires à celles enregistrées à 10 g/L, mais avec une intensité légèrement supérieure. Dès 7 jours, *Aspergillus ochraceus* montre une croissance régulière sur tous les milieux, mais plus rapide sur ceux enrichis de glucose, notamment ZM Glu+ et ZO Glu+.

Après 14 et 21 jours, une nette amélioration de la sporulation est visible sur les milieux enrichis de glucose. La colonie devient plus pigmentée, avec une coloration typique de la souche. Sur PDA, la croissance est légèrement plus rapide, mais comparable aux milieux testés.

À 28 et 35 jours, la sporulation atteint son maximum, surtout sur ZM Glu+ et ZO Glu+, dépassant même celle observée sur le milieu PDA. Les milieux sans glucose montrent une croissance continue, mais moins dense et une sporulation moins intense.

## 4.1.2.4. Pour Penicilium crustosum

Les résultats de croissance de *Penicilium crustosum* dnas les différents milieux sont détaillés ci-dessous.

Tableau 10. Développement de *Penicilium crustosum* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de 10 g/l.

	é	g/l du milieu test	oncentration de 10	Pour la co		
		7 jours	Observation après			
PDA	ВО	ВО		ZO		
	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+
+++	+	+	+	+	++	++
	<u> </u>	14 jours	Observation après			
PDA	ВО		zo		ZM	
	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+
+++	+	+	+	+	++	++
		21 jours	Observation après	•		
PDA	ВО		zo		ZM ZO	
	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+
+++	+	+	+	+	++	++
		28 jours	Observation après			
PDA	ВО		ZO		ZM	
	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+
+++	+	+	+	+	++	++
		35 jours	Observation après	•		
PDA	ВО		ZO		ZM	
	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+
+++	+	+	+	+	++	++

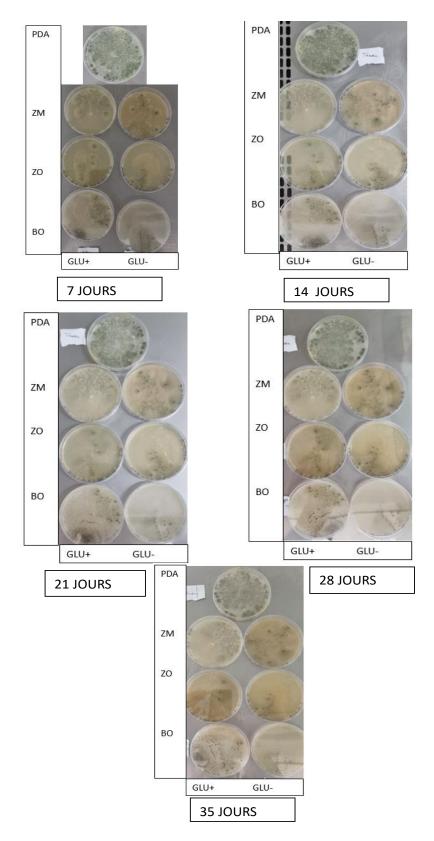


Figure 16. Suivie de *Penicillium crustosum* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de  $10~\rm g$  /l .

Tableau 11. Développement de Penicilium crustosum pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de 15 g /l .

	P	our la concen	itration de 15	g/l du milieu to	esté	
		Obse	ervation aprè	s 7 jours		
	ZM	ZO			ВО	
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
+	++	++	+	+	+	+++
		Obse	rvation après	14 jours	<u> </u>	
	ZM	ZO			ВО	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
+	++	++	+	+	+	+++
		Obse	rvation après	21 jours	<u> </u>	
	ZM		ZO		ВО	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
+	++	++	+	+	+	+++
		Obse	rvation après	28 jours	l l	
	ZM		ZO		ВО	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
+	++	++	+	+	+	+++
		Obse	rvation après	35 jours		
	ZM		ZO	ВО		PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
+	++	++	+	+	+	38 +++

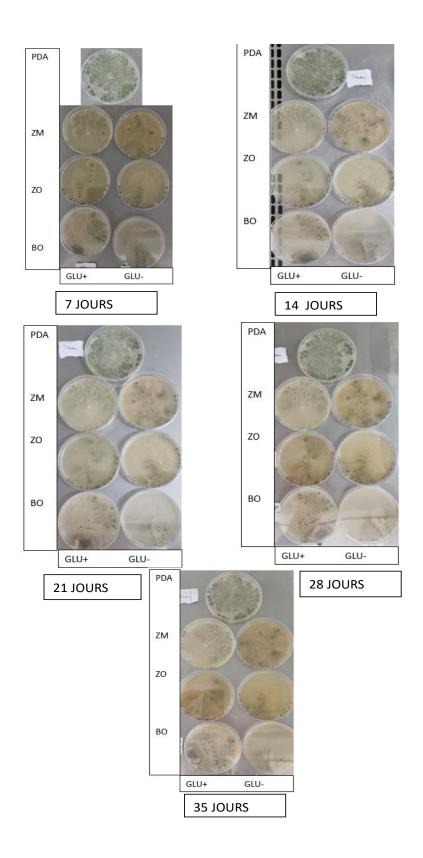


Figure 17. Suivie de *Penicillium crustosum* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de 15 g /l .

## À la concentration de 10 g/L

D'après la figure 16, après 7 jours de culture, *Penicillium crustosum* présente une croissance lente dans les milieux à base de déchets, notamment ceux sans glucose. Le développement est plus net sur le milieu PDA, avec un mycélium blanc au centre virant progressivement au vert, signe d'une bonne adaptation (Tableau 10).

Après 14 jours, une légère amélioration est observée dans les milieux testés contenant du glucose, principalement sur ZM Glu+. Toutefois, les milieux sans glucose restent peu favorables à la croissance. Sur PDA, la croissance est plus rapide et plus étendue, avec les premiers signes de sporulation au centre des colonies.

À partir de 21 jours, la colonisation se poursuit dans les milieux testés enrichis de glucose, avec une sporulation modérée. Les milieux testés sans glucose montrent toujours une croissance réduite.

Après 28 et 35 jours, la colonisation est complète sur PDA, avec une sporulation dense et homogène. Dans les milieux testés à base de déchets enrichis de glucose, la croissance devient plus significative, avec une sporulation visible mais encore inférieure à celle observée dans le PDA. Les milieux sans glucose restent les moins performants.

## À la concentration de 15 g/L

D'après la figure 17 et Tableau 11, les résultats à 15 g/L sont similaires à ceux observés à 10 g/L, avec toutefois une légère amélioration de la croissance et de la sporulation dans les milieux testés enrichis en glucose.

## 4.1.2.5. Pour Penicilium chrysogenum

Les résultats de croissance de *Penicilium chrysogenum* dnas les différents milieux sont détaillés ci-dessous.

Tableau 12. Développement de *Penicilium chrysogenum* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de  $10~\mathrm{g}$  /l .

		Pour la con	centration de 10	g/l du milieu to	esté	
		C	Observation aprè	ès 7 jours		
	ZM	ZO			ВО	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	+	++	+	+++
		o	bservation aprè	s 14 jours		
	ZM		zo		ВО	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	+	++	+	+++
		o	bservation aprè	s 21 jours	•	
	ZM		zo	ВО		PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	++	++	++	+++
			Observation après	28 jours		
	ZM		zo		ВО	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	++	++	++	+++
		O	bservation aprè	s 35 jours		
	ZM		zo		ВО	
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	++	++	++	+++

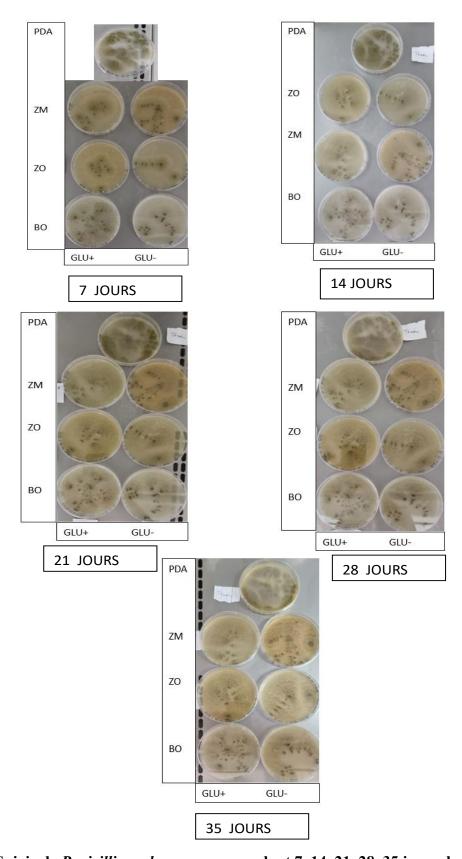


Figure 18. Suivie de *Penicillium chrysogenum* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de  $10~{\rm g}$  /l .

Tableau 13. Développement de *Penicillium chrysogenum* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de 15 g/l.

		Pour la cor	ncentration de 1	5 g/l du milieu t	esté	
		(	Observation apr	ès 7 jours		
	ZM	zo			ВО	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	+	++	++	+++
		O	bservation aprè	ès 14 jours		
	ZM		ZO		ВО	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	++	++	++	+++
		0	bservation aprè	ès 21 jours		
	ZM		ZO		во	
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	++	++	++	+++
		0	bservation aprè	ès 28 jours		
	ZM		zo		ВО	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	++	++	++	+++
		0	bservation aprò	ès 35 jours		
	ZM		ZO		во	
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	++	++	++	+++

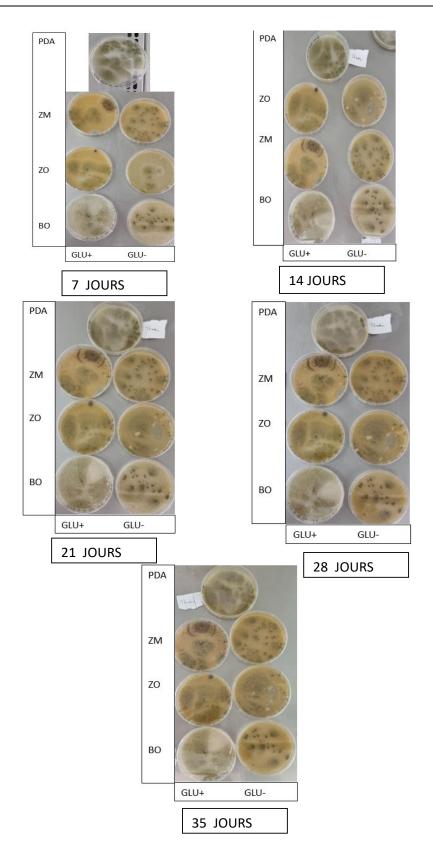


Figure 19. Suivie de *Penicillium chrysogenum* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de 15 g /l .

## À la concentration de 10 g/L

D'après la figure 18 et Tableau 12, après 7 jours de culture, *Penicillium chrysogenum* montre une croissance modérée sur toutes les milieux, avec une progression plus marquée sur les milieux enrichis en glucose. Sur le milieu PDA, la croissance est dense, homogène et bien visible dès les premiers jours.

Après 14 et 21 jours, la croissance devient uniforme sur tous les milieux , avec l'apparition de la coloration verdâtre typique de la souche fongique en question. Les milieux sans glucose présentent un développement presque similaire à celu dans les milieux supplémentés en glucose. La croissance se stabilise avec une colonisation quasi complète sur toutes les milieux à ce stade.

Après 28 et 35 jours, la croissance est maximale sur tous les milieux. Une forte sporulation est observée sur le milieu PDA, mais aussi sur les milieux à base de déchets .

## À la concentration de 15 g/L

D'après la figure 19, la croissance de *Penicillium chrysogenum* est plus rapide et plus intense que celle observée à 10 g/L. Dès 7 jours, les milieux enrichis en glucose (ZM Glu+, ZO Glu+, BO Glu+) montrent une croissance bien visible, avec un mycélium dense. La croissance sur PDA reste supérieure toujours (Tableau 13).

Après 14 et 21 jours, les colonies dans les milieux enrichis en glucose atteignent une structure similaire à celle du PDA, avec une sporulation visible. La souche montre une bonne vitalité dans toutes les milieux, où le mycélium devient compact et vert clair.

Après 28 et 35 jours, la croissance atteint son maximum dans tous les milieux, avec une sporulation abondante, légèrement inférieure à celle observée sur le PDA. Les milieux sans glucose permettent également une croissance satisfaisante.

## .4.1.2.6.Pour Aspergillus flavus

Les résultats de croissance de *Aspergillus flavus* dnas les différents milieux sont détaillés ci-dessous.

Tableau 14. Développement de *Aspergillus flavus* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de 10 g/l.

		Pour la coi	ncentration 15	g/l du milieu test	é	
		O	bservation aprè	ės 7 jours		
Z	M	ZO		В	О	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	+	++	+	+++
		Ob	servation aprè	s 14 jours		
Z	M	Z	0	В	О	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	+	++	+	+++
		Ob	servation aprè	s 21 jours		
Z	M	Z	0	В	o	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	++	++	++	+++
		Ob	servation aprè	s 28 jours		
Z	M	Z	0	В	О	PDA
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	++	++	++	+++
		Ob	servation aprè	s 35 jours	·	
Z	ZM		0	BO PDA		
GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	
++	++	++	++	++	++	+++

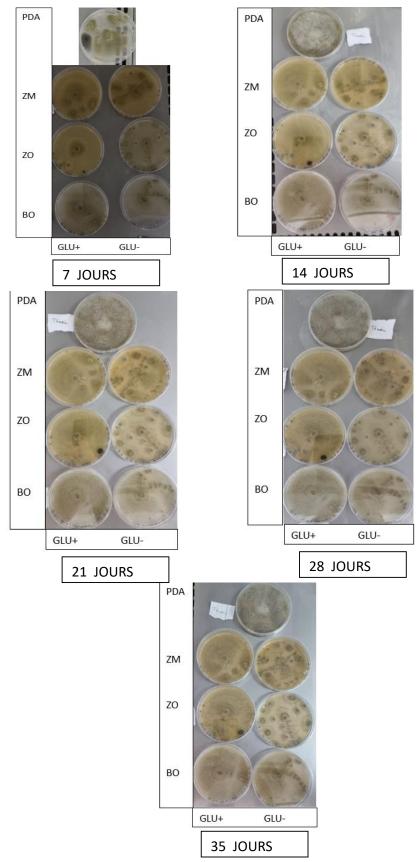


Figure 20. Suivie de *Aspergillus flavus* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de 10 g/l.

Tableau 15. Développement de *Aspergillus flavus* pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de 15 g /l .

	é	/l du milieu testé	oncentration de 15 g/	Pour la cor		
		7 jours	Observation après 7	(		
PDA	ВО	ВО		ZO		Zľ
	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+
+++	+	++	+	++	+	++
		4 jours	Observation après 14	O		
PDA	ВО		zo		M	Z
	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+
+++	++	++	++	++	++	++
		1 Jours	Observation après 21	O		
PDA	ВО		zo		ZM	
	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+
+++	++	++	++	++	++	++
		8 jours	Observation après 28	C		
PDA	ВО		zo		M	ZI
	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+
+++	++	++	++	++	++	++
		5 jours	Observation après 35	C		
PDA	ВО		zo		M	Z
	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+	GLU-	GLU+
+++	++	++	++	++	++	++

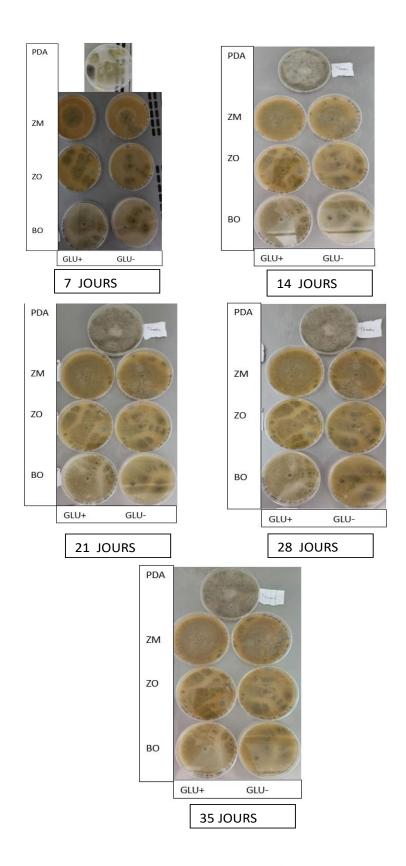


Figure 20. Suivie de Aspergillus flavus pendant 7, 14, 21, 28, 35 jours dans les différents milieux avec la concentration de 15 g /l .

#### A la concentration de 10 g/l

La figure 20 montre que après 7 jours de culture une forte croissance d'*Aspergillus flavus* dans le PDA par rapport les milieux testés, avec une coloration foncée et des colonies denses. les milieux ZM Glu+ et BO Glu+ présentent également un bon développement.

dans les milieux dépourvu de glucose la croissance est visible mais plus limitée que en présence de GLU+. Les colonies sont plus petites et moins pigmentées.

Après 14 et 21 jours d'incubation, la croissance de la souche fongique est importante sur le milieu PDA, et elle reste notable sur les milieux ZM Glu+ et BO Glu+. Sur les milieux dépourvus de glucose, la croissance demeure lente, mais une amélioration visible est observée par rapport à celle notée au bout de 7 jours (Tableau 14).

Après 28 et 35 jours d'incubation, les boîtes de Pétri sont entièrement colonisées par la souche fongique sur le milieu PDA ainsi que sur les milieux enrichis en glucose. La croissance y est abondante, accompagnée d'une coloration intense. Les colonies apparaissent pigmentées et homogènes, témoignant d'un développement fongique soutenu dans les milieux riches en glucose

#### A la concentration 15g/l

D'après la figure 21et le Tableau 15, une amélioration nette de la croissance est observée dans les milieux enrichis en glucose, dès les premiers jours. Après 7 jours, la souche fongique présente déjà une croissance significative sur ZM Glu+, BO Glu+ et PDA, tandis que les milieux sans glucose restent très peu colonisés.

Après 14 à 21 jours, la croissance devient significative dans les milieux enrichis en glucose, notamment sur ZM Glu+, où la sporulation commence à apparaître. La colonie sur PDA est dense et pigmentée. Sur les milieux sans glucose, le mycélium reste blanc et peu développé.

Après 28 à 35 jours, la croissance maximale sur le PDA, avec une colonisation complète de la boîte et une sporulation abondante. Les milieux à base de déchets enrichis en glucose permettent également une croissance satisfaisante, bien que légèrement inférieure à celle obsevée sur le PDA. La sporulation est bien visible, en particulier sur ZM Glu+. Les milieux sans glucose restent peu favorables au développement de la souche fongique.

#### 4.2. Discussion

Les micromycètes cultivés sur des milieux standardisés tels que la gélose dextrose de pomme de terre (PDA), la gélose dextrose de Sabouraud (SDA) et le milieu au rose bengale présentent une croissance optimale, en raison de la richesse de ces milieux en nutriments essentiels à leur développement. Toutefois, leur principal inconvénient réside dans leur coût élevé et leur disponibilité parfois limitée.

Les pelures de fruits, considérées comme des déchets organiques issus de l'agroalimentaire, représentent une ressource organique abondante pouvant être valorisée comme substrat pour la culture des micromycètes. Grâce à leur richesse en nutriments essentiels, ces déchets offrent une alternative économique, durable et écologique aux milieux de culture fongiques conventionnels, coûteux et peu disponibles sur le marché. (Alagamba & Noah, 2020).

La partie du fruit valorisée dans notre étude est celle qui n'est pas comestible: l'écorce ou le péricarpe. Elle se compose de deux strates : le flavédo (épicarpe) et l'albédo (mésocarpe). Le flavédo représente la couche extérieure, dont la teinte peut différer (jaune, verte, rouge ou orange) selon sa composition en pigments. Le flavédo contient une forte concentration en composés phénoliques. Les huiles essentielles qui donnent aux agrumes leur parfum distinctif se trouvent dans leurs glandes oléifères. L'albédo désigne la couche intermédiaire, de couleur blanche et spongieuse. Selon les espèces, l'épaisseur de cette couche peut varier. Sa taille peut fluctuer de quelques millimètres pour les mandarines et les oranges à plusieurs centimètres pour les cédrats et les pamplemousses. L'albédo est principalement composé de polysaccharides : Pectine, cellulose et hémicellulose (Sally, 2018).

Dans la présente étude, nous avons formulé 12 milieux de culture, pour les micromycètes, à base de zest d'orange, le zest de mandarine et le blanc d'orange. Ces derniers ont été comparés avec un milieu de culture standard (PDA)

Suite à l'analyse des résultats, nous avons noté une croissance accrue et une sporulation riche pour quatre (04) types de micromycètes : *Alternaria alternata*, Penicillium chrysogenum, *Aspergillus niger* et *Aspergillus ochraceus*. Même sur le milieu standard PDA, la croissance et la sporulation de ces souches étaient importantes..

Deux souches de micromycètes ont montré une faible croissance et une faible sporulation (Aspergillus flavus ; Penicillium crustosum).

Les micromycètes ont besoin de différents nutriments pour élaborer leurs éléments cellulaires et assurer leur métabolisme, tels que :

Macronutriments : Carbone, hydrogène, oxygène, azote, soufre et phosphore.

Micronutriments : Des oligo-éléments tels que le fer, le manganèse, le zinc et le cuivre (Ravimannan et al., 2014).

Pour la croissance et la reproduction de plusieurs espèces fongiques, la présence d'ions minéraux dans le milieu de culture est indispensable. Ces ions comprennent principalement le sulfate, le magnésium, le potassium, le sodium et le phosphore, dont les concentrations varient selon l'espèce (Uchikoba *et al.*, 2001). La plupart des moisissures ont besoin de traces d'éléments comme le fer, le cuivre, le manganèse, le zinc et le molybdène pour produire des cytochromes, des pigments, des acides organiques (Boiron, 1999).

Les écorces d'agrumes présentent des teneurs élevées en eau , (soit 60% à 75% en base humide) et en sucres solubles. De ce fait, c'est un coproduit hautement périssable qui fermente et présente un développement des moisissures. De plus, ce coproduit est riche en protéines et en minéraux alors que les lipides sont très peu abondants (M'hiri, 2015).

Le milieu de culture formulé à base des écorces des agrumesà la concentration de 15 g/l supplémenté en glucose a montré une efficacité similaire que le milieu standard PDA, pour la plupart des souches fongiques utilisées (*Alternaria alternata, Aspergillus niger, Aspergillus ochraceus, Penicillium chrysogenum*).

Les écorces d'agrumes sont riches en minéraux majeurs (Ca, Mg, K, Na) et quelques Minéraux mineurs (Zn, Fer, Cu). Ces teneurs varient selon la variété considérée d'agrumes (M'hiri, 2015).

L'acide citrique industriel est facilement produit à partir de différentes sources sucrées comme la mélasse, l'extrait de gousse de caroube, l'huile de colza, les épis de maïs, les résidus de pomme et de raisin, les peaux de kiwi, en plus des pelures d'agrumes (citron, orange) qui sont des sous-produits riches en sucres fermentescibles (amylacée), valorisés et transformés en acide citrique. (Roukas, 1998).

L'Aspergillus niger est un champignon filamenteux courant, qui peut se développer notamment dans les pelures d'agrumes. C'est l'un des micro-organismes les plus essentiels employés en biotechnologie. On l'utilise depuis des dizaines d'années pour la production d'enzymes alimentaires et d'acides tels que l'acide citrique (Dunn-Coleman & Dijck, 2002).

Ces déchets sont chargés en pectines, un composant qui stimule la production de pectinases. Ainsi, les résidus d'orange issus de l'agro-industrie ont servi de substrat pour la production d'enzymes pectinolytiques par voie biologique, dans le but de valoriser ces déchets; L'analyse de la composition des résidus d'orange montre une forte teneur en sucres. Cette proportion facilite son emploi en tant que milieu de culture pour les microorganismes et source principale de carbone lors de la fermentation (Bouhadi et al., 2016).

La croissance optimale de 04 souches fongiques (Alternaria alternata, Aspergillus niger, Aspergillus ochraceus, Penicillium chrysogenum) sur les milieux à base de pelures d'agrume peut être expliqué par la richesse de ces derniers en sucres, acides organiques, fibres et certains minéraux, ce qui constitue une source nutritive favorable à la croissance des micromycètes. Utilisées comme substrat ou base pour la préparation de milieux de culture, elles offrent un environnement propice au développement fongique. Par ailleurs, l'étude de Ben Miri, (2019) a démontré que les extraits de zeste de Citrus limon possèdent des propriétés antifongiques notables. À cause de l'huile essentielle extraite du zeste de citron présente une activité fongistatique contre Aspergillus fumigatus. Ce qui explique la croissance fongique limitée des deux autres souches fongique (Aspergillus flavus; Penicillium crustosum) Ces résultats suggèrent que les pelures d'agrumes peuvent non seulement servir de substrat nutritif pour la culture des micromycètes, mais aussi offrir des composés bioactifs ayant des applications potentielles dans la lutte contre certaines souches fongiques pathogènes (Himed et al., 2020; Ben Miri, 2019).

## Conclusion

#### **Conclusion**

Les milieux de culture élaborés à partir de déchets d'agrumes (zestes et partie blanche d'orange et de mandarine), enrichis ou non en glucose, ont permis d'évaluer la capacité de ces substrats à soutenir la croissance et la sporulation de plusieurs souches fongiques isolées. Les résultats ont révélé que l'ajout de glucose, notamment à 15 g/L, améliore significativement la croissance mycélienne et favorise la sporulation chez certaines souches telles que *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger* et *Penicillium chrysogenum*.

À partir des observations effectuées, les conclusions suivantes peuvent être tirées :

- 1. Les milieux à base de déchets d'agrumes enrichis en glucose constituent des substrats nutritifs efficaces, capables de soutenir la croissance rapide des champignons testés.
- 2. Ces milieux peuvent également présenter un effet sélectif, car certaines souches réagissent mieux selon la composition du substrat (type de zeste, présence ou absence de glucose).
- 3. La valorisation des déchets d'agrumes, produits en grandes quantités par les ménages et l'industrie agroalimentaire, représente une alternative économique et écologique aux milieux synthétiques classiques.
- 4. Cette approche contribue à la réduction des déchets organiques tout en proposant une solution durable pour le développement de milieux de culture à faible coût, utiles en microbiologie appliquée.

Ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes pour l'utilisation de déchets alimentaires dans la formulation de milieux de culture innovants, adaptés aux besoins spécifiques des champignons filamenteux, notamment en contexte de biotechnologie et d'agriculture durable.

# Référence bibliographie

#### Référence bibliographie

Ademosun, A. O. (2024). Enrichment with citrus peels as a strategy for improving the health benefits and nutritional value of breakfast cereals: A review. Human Nutrition & Metabolism, 36, 200239.

Ahmadou, A. (2019). Réduction de la mycotoxicité dans l'agriculture malienne à partir de l'utilisation de biochar obtenu des sous-produits de la filière cajou.

Aid, A., & Bouadam, R. (2021). Pour une gestion intégrée des déchets ménagers et assimilés dans la ville de Bejaia : Esquisse d'une approche de coordination entre les acteurs. مجلة العمارة . 39-25, (2)6, وبيئة الطفل, 26, (2)6,

Al Riza, D. F., Yolanda, J., Tulsi, A. A., Ikarini, I., Hanif, Z., Nasution, A., & Widodo, S. (2023). Mandarin orange (Citrus reticulata Blanco cv. Batu 55) ripeness level prediction using combination reflectance-fluorescence spectroscopy. Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 302, 123061.

Alagamba, E., & Noah, A. (2020). UTILIZATION OF INDIGENOUS FRUIT PEELS IN FORMULATION OF AFFORDABLE FUNGAL CULTURE MEDIA.

Albagnac, G., Varoquaux, P., & Montigaud, J. C. (2002). Technologies de transformation des fruits.

Aneja, K. R. (2007). Experiments In Microbiology, Plant Pathology And Biotechnology. New Age International.

Aruoma, O. I., Landes, B., Ramful-Baboolall, D., Bourdon, E., Neergheen-Bhujun, V., Wagner, K.-H., & Bahorun, T. (2012). Functional benefits of citrus fruits in the management of diabetes. Preventive Medicine, 54 Suppl, S12-16.

Audary, D. J. (2015). Contribution à l'étude phytochimique et moléculaire de la synthèse des coumarines et furocoumarines chez diverses variétés d'agrumes du genre Citrus.

Badaoui, ouassila. (2019). Contribution à l'étude de Séchage Solaire des Déchets Alimentaires Sous Serre. UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA.

Baldwin, E. A. (1993). Citrus fruit. In G. B. Seymour, J. E. Taylor, & G. A. Tucker (Éds.), Biochemistry of Fruit Ripening (p. 107-149). Springer Netherlands.

Ben Miri, Y. (2019). Etude du potentiel antifongique, antiaflatoxinogène et antioxydant de certaines huiles essentielles et leur efficacité dans le système alimentaire.

Bennici, A., & Tani, C. (2004). Anatomical and ultrastructural study of the secretory cavity development of Citrus sinensis and Citrus limon: Evaluation of schizolysigenous ontogeny. Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, 199(6), 464-475.

bensaada, s, bouziane, M., benmachiche, m, & mazouz, h. (2015). ENVIRONNEMENT ET RECYCLAGE DES DECHETS.

Bicu, I., & Mustata, F. (2011). Cellulose extraction from orange peel using sulfite digestion reagents. Bioresource Technology, 102(21), 10013-10019.

Boiron, P. (1999). Organisation et biologie des champignons. Nathan Université.

Boudih, S. (2011). Identification des moisissures et de leurs métabolites secondaires colonisant des supports papiers : Évaluation de la toxicité sur des cellules épithéliales respiratoires in vitro.

Bouhadi, N., Nouani, A., Benmalek, N., & Benchabane, A. (2016). Valorisation des sous produits d'agrumes: Production d'enzymes pectinolytiques par bioconversion. Algerian Journal of Environmental Science and Technology, 2(1).

Bourgeois, Claude, M., & Jean, F. (1996). Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments.

Castelli, B. (1999). Les impacts urbains du recyclage de l'argent de la drogue dans la région des Andes.

cheniti, hamza. (2014). LA GESTION DES DECHETS URBAINS SOLIDES : CAS DE LA VILLE D'ANNABA. Université Badji Mokhtar-Annaba-Badji Mokhtar-Annaba-University.

Cirrincione, F., Ferranti, P., Ferrara, A., & Romano, A. (2024). A critical evaluation on the valorization strategies to reduce and reuse orange waste in bakery industry. Food Research International, 187, 114422.

Davet, P. (1996). Amazon.fr—Vie microbienne du sol et production végétale -.

Derguine, L. (2019). Production et caractérisation des biosurfactants par des levures et des moisissures.

Dominguez Lopez, A. (2002). Caractérisation et optimisation de la flaveur de jus d'orange non fait de concentré.

Dunn-Coleman, & Dijck, P. V. (2002). On the safety of Aspergillus niger—A review. Applied Microbiology and Biotechnology, 59(4-5), 426-435.

Gangneux, J.-P., Harel, F., & Guegan, H. (2023). Moisissures dans l'environnement et impacts sur la santé humaine. Revue Francophone des Laboratoires, 2023(550), 44-52.

Grohmann, K., Cameron, R. G., & Buslig, B. S. (1995). Fractionation and pretreatment of orange peel by dilute acid hydrolysis. Bioresource Technology, 54, 129-141.

Haineault, S. (2011). Les vertus thérapeutiques des agrumes—Citron /lime/ pamplemousse / orange (3e édition). Québecor.

Hamidi, F., & Limam, F. (2018). ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET POUVOIR ANTIOXYDANT DE L'ECORCE D'ORANGE ET CITRON.

Himed, L., Merniz, S., Benbraham, M., Boudjouada, E., & Barkat, M. (2020). Preservation du concentre de tomate par un agent antifongique (Huile essentielle du citron). African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development, 20(2), Article 2.

Huet, R. (1991). Les huiles essentielles d'agrumes. Fruits.

Karimi, E., Oskoueian, E., Hendra, R., Oskoueian, A., & Jaafar, H. Z. E. (2012). Phenolic compounds characterization and biological activities of Citrus aurantium bloom. Molecules (Basel, Switzerland), 17(2), 1203-1218.

Kemassi, hamida. (2021). Essais de recyclage de déchets issus de la transformation technologique et/ou biotechnologique de dattes. UNIVERSITE KASDI MERBAH-OUARGLA.

Ladaniya. (2017). Etude comparative entre deux méthodes d'extraction de la pectine de l'écorce de deux variétés d'orange (Thomson et Sanguine).

Lu, D., Cao, Q., Li, X., Cao, X., Luo, F., & Shao, W. (2009). Kinetics and equilibrium of Cu(II) adsorption onto chemically modified orange peel cellulose biosorbents. Hydrometallurgy, 95(1), 145-152.

Lu, X., Zhao ,Chengying, Shi ,Huan, Liao ,Yongcheng, Xu ,Fei, Du ,Hengjun, Xiao ,Hang, & and Zheng, J. (2023). Nutrients and bioactives in citrus fruits: Different citrus varieties, fruit parts, and growth stages. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 63(14), 2018-2041.

M'hiri, nouha. (2015). Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydante des extraits des écorces de l'orange « Maltaise demi sanguine» et exploration de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone. Université de Lorraine École Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires École Doctorale Ressources Procédés Produits Environnement Laboratoire d'Ingénierie des Biomolécules.

Multari, S., Guzzon, R., Caruso, M., Licciardello, C., & Martens, S. (2021). Alcoholic fermentation of citrus flavedo and albedo with pure and mixed yeast strains: Physicochemical characteristics and phytochemical profiles. LWT, 144, 111133.

Musara, C., Aladejana, E. B., & Mudyiwa, S. M. (2020). Review of the nutritional composition, medicinal, phytochemical and pharmacological properties of Citrus reticulata Blanco (Rutaceae) (No. 9:1387). F1000Research.

Nayak, A., & Bhushan, B. (2019). An overview of the recent trends on the waste valorization techniques for food wastes. Journal of Environmental Management, 233, 352-370.

Presscot, M., Jhon P, H., & Donald, K. (2003). Microbiologie.

Rakotoniaina, V. A. (2015). Co-méthanisation des déchets fermiers et alimentaires : Expérimentation et modélisation.

Ramful, D., Bahorun, T., Bourdon, E., Tarnus, E., & Aruoma, O. I. (2010). Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits: Potential prophylactic ingredients for functional foods application. Toxicology, 278(1), 75-87.

Ravimannan, N., Arulanantham, R., Pathmanathan, S., & Niranjan, K. (2014). Alternative culture media for fungal growth using different formulation of protein sources.

Redouane-Salah, S. (2016). Caractérisation mycologique des fourrages pour ruminants et recherche d'Aflatoxine M1 dans le lait cru de vache : Étude comparative aux laits pasteurisé et lyophilisé. Frères Mentouri-Constantine Département de microbiologie.

Robert, J. (1999). Handbook of Citrus By-Products and Processing Technology | Wiley.

Roukas, T. (1998). Carob pod: A new substrate for citric acid production by Aspergillus niger. Applied Biochemistry and Biotechnology, 74(1), 43-53.

Ruffy, M. (1993). La gestion, le traitement, le recyclage et la commercialisation des déchets.

Sally, E. kantar. (2018). Valorisation des coproduits issus des industries d'agrumes : Extraction des molécules bioactives par des technologies innovantes.

Santos, R. M., Fortes, G. A. C., Ferri, P. H., & Santos, S. C. (2011). Influence of foliar nutrients on phenol levels in leaves of Eugenia uniflora. Revista Brasileira de Farmacognosia, 21, 581-586.

Shariq, M., & Sohail, M. (2019). Citrus limetta peels: A promising substrate for the production of multienzyme preparation from a yeast consortium. Bioresources and Bioprocessing, 6(1), 43.

Uchikoba, T., Mase, T., Arima, K., Yonezawa, H., & Kaneda, M. (2001). Isolation and characterization of a trypsin-like protease from Trichoderma viride. Biological Chemistry, 382(10), 1509-1513.

Vasanthakumari, R. (2016). Textbook of Microbiology. Wolters kluwer india Pvt Ltd.

Zh, K., Kg, J., G, K., & A, R. (2023). Fortification of Chlorella vulgaris with citrus peel amino acid for improvement biomass and protein quality. Biotechnology Reports (Amsterdam, Netherlands), 39.

#### Annexe

Préparation de milieu PDA (potato extrose agar) :

Pour préparer un milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar), commencez par préparer un extrait de pomme de terre en faisant bouillir 200 g de pommes de terre pelées et coupées dans environ 500 mL d'eau distillée. Après 30 à 45 minutes de cuisson, filtrez la solution pour obtenir un extrait concentré, puis complétez avec de l'eau distillée jusqu'à un volume final de 1 L. Ajoutez ensuite 15 g de dextrose (glucose) et 15 g d'agar dans cet extrait, puis chauffez doucement la solution tout en remuant pour dissoudre complètement les ingrédients. Stérilisez la solution en autoclave à 121°C pendant 15-20 minutes pour éliminer toute contamination. Après stérilisation, laissez la solution refroidir à environ 45-50°C, puis versez-la dans des boîtes de Petri stériles. Laissez l'agar se solidifier à 52 température ambiante, et votre milieu PDA est prêt pour cultiver des champignons, et autres microorganismes.

#### Résumé

Ce projet, qui se base sur les principes de gestion durable des déchets et de réduction des coûts en microbiologie, vise à valoriser les déchets alimentaires tels que les pelures d'oranges et de mandarines pour la production de milieux de culture destinés à la culture des moisissures. 12 milieux ont été préparés en utilisant des zestes et des parties blanches des pelures , à deux concentrations différents (10 g/L et 15 g/L), avec ou sans addition de glucose. On a fait une comparaison entre ces milieux et le milieu standard PDA. On a effectué des tests sur six souches de moisissures : *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger, Aspergillus ochraceus, Aspergillus flavus, Penicillium chrysogenum* et *Penicillium crustosum*. Les observations ont indiqué une prolifération fongique importante, en particulier dans les milieux enrichis en glucose à base de zeste de mandarine et d'orange. Les souches *A. niger, A. ochraceus, P. chrysogenum et A. alternata* ont montré une bonne réponse à ces milieux alternatifs , présentant une croissance et sporulation similaires à celles réalisées sur PDA.

Ce travail met en évidence le potentiel des pelures d'agrumes comme source nutritive pour des milieux de culture fongiques, offrant une solution à la fois écologique, économique et durable.

Mots-clés: Valorisation – Déchets alimentaires – Agrumes – Milieux de culture – Moisissures – PDA.

#### Abstract

This project, based on the principles of sustainable waste management and cost reduction in microbiology, aims to valorize food waste such as orange and mandarin peels for the production of culture media for mold cultivation. 12 media were prepared using peels and white parts of peels, at two different concentrations (10 g/L and 15 g/L), with or without the addition of glucose. A comparison was made between these media and the standard PDA medium. Tests were carried out on six mold strains: Alternaria alternata, Aspergillus niger, Aspergillus ochraceus, Aspergillus flavus, Penicillium chrysogenum and Penicillium crustosum. Observations indicated significant fungal proliferation, especially in glucose-enriched media based on mandarin and orange peel. The strains A. niger, A. ochraceus, P. chrysogenum, and A. alternata showed a good response to these alternative media, exhibiting growth and sporulation similar to those achieved on PDA.

This work highlights the potential of citrus peels as a nutrient source for fungal culture media, offering an ecological, economical, and sustainable solution.

Keywords: Recovery - Food waste - Citrus fruits - Culture media - Molds - PDA.

تلخيص

يهدف هذا المشروع، القائم على مبادئ الإدارة المستدامة للنفايات وخفض التكاليف في علم الأحياء الدقيقة، إلى تعظيم الاستفادة من نفايات الطعام، مثل قشور البرتقال واليوسفي، لإنتاج أوساط زراعة العفن. تم تحضير 12 وسطًا باستخدام قشور البرتقال والأجزاء البيضاء منها، بتركيزين مختلفين (10 جم/لتر و15 جم/لتر و10 جم/لتر)، مع أو بدون إضافة الجلوكوز. قارن الباحثون هذه الأوساط بوسط PDA القياسي. أجريت الاختبارات على ست سلالات من العفن Aspergillus ochraceus و Aspergillus niger، و Aspergillus flavus، و Penicillium chrysogenum، و Aspergillus flavus، و العفرت المحتفات الله تكاثر فطري ملحوظ، خاصةً في الأوساط الغنية بالجلوكوز والمُصنّعة من قشور البرتقال واليوسفي. أظهرت سلالات ما تم تحقيقه على P. chrysogenum، و وتبويضًا مماثلين لما تم تحقيقه على PDA.

يُسلِّط هذا البحث الضوء على إمكانات قشور الحمضيات كمصدر غذائي لوسط زراعة الفطريات، مُقدِّمًا حلاً بيئيًا واقتصاديًا ومستدامً

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED KHIDER - BISKRA
Faculté: Sciences de la nature et de la vie et Sciences de
la Terre et de l'univers
Département:....Sciences de la nature et de la vie



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعب وزارة التعليم العالى والبحث العلمي

جامعة مجمح خيضر بسكرة

قدء: -علوم الطبيعة والحياة -----

#### Déclaration de correction de mémoire de master 2025

Référence du mémoire N°:			PV de soutenance N°: / 2025 لقب و إسم الطالب(ة) :		
La mention التقدير	العلامة (20/./Note	,	L'intitulé de mémoireة عنوان المذكرة		
Ealvication des déc	de milien de ci hets a limenta	eltine pe	rus les maissisures à partir		

تصريح وقرار الأستاذ المشرف: . Déclaration etdécision de l'enseignant promoteur Déclaration: Je soussigné (e), ....., (grade) .....à l'université de.....avoir examiné intégralement ce memoire après les modifications apportées par l'étudiant. أصرح بأننى راجعت محتوى هذه المذكرة كليا مراجعة دقيقة J'atteste que : وهذا بعد التصحيحات التي أجراها الطالب بعد المناقشة، وعليه \* le document à été corrigé et il est conforme au model de la forme du département SNV \* المذكرة تتوافق بشكلها الحالي مع النموذج المعتمد لقسم علوم \* toutes les corrections ont été faites strictement aux recommandations du jury. \* d'autres anomalies ont été corrigées \* المذكرة صححت و فقا لكل توصيات لجنة المناقشة

Sur la base du conte et de pourcentage de ce mémoire d	<u>Décision</u> : nu scientifique, de es fautes linguistic loit être classé sou	ues. Je déciden	~	قرار: اعتمادا على درجة مطابقتها للنموذج، على نسبة الأخطاء اللغوية وعلى المحتوى العلمي أقرر أن تصنف هذه المذكرة في الدرجة		
مقبول acceptable	عادي ordinaire	bien حسن	très bien اجید جدا	ممتاز excellent	overeties 1: 5	
E	D	C	X B	A	تمیز exceptionnel + 🛦	



\* تم تدارك الكثير من الإختلالات المكتشفة بعد المناقشة

NB: Cette fiche doit être collée d'une façon permanente derrière la page de garde sur les copies de mémoire déposées au niveau de la bibliothèque universitaire