

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun-Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par : Belal Sara

Thème

Contribution à la valorisation des déchets de la restauration collective (cantine universitaire comme cas) dans l'élaboration de milieux de culture

Soutenu publiquement le 08-07-2021

Jury:

Grade

Président: Mr.ABBES.A

Encadrant :Mme. Abdi.F

Examineur 1: Mr.ACEM.K

Année universitaire 2020-2021

Remerciement

Je tiens tout d'abord à rendre un grand hommage à mes parents et mes deux sœurs pour leurs conseils et les directives m'ont mené à voir le jour de mes fin d'études.

J'adresse mes remerciements à mon encadrante **Abdi Fatima Zohra** pour son conseil, son encouragement et son aide précieuse pour l'élaboration de ce travail.

Je remercie également les membres de jury Messieurs **Mr. ACEM** et **Mr. ABBES** pour m'avoir fait l'honneur d'examiner et d'évaluer ce travail.

Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance et ma gratitude aux enseignants de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université Ibn Khaldoun de Tiaret qui m'ont aidé à réaliser ce travail.

Je cite en particulier messieurs : **Mr. Yezli**, **Mr. Bensaid**, **Mr. Boussoum**, **Mr Kouadria** et **Mr Guemour**.





Liste des figures

Figure N°01 : Le contenu en pourcentage de chaque composant dans une poubelle.....	1
Figure N°2 : Le développement déchets au cours du temps.....	2
Figure N°3 : Accumulation des déchets alimentaire dans le monde	4
FigureN°4 : Etapes de Valorisation des déchets alimentaire en biocarburants	7
Figures N°5 : Structure d'œuf de la volaille.....	9
Figures N°6 : Transformation des plumes en farine.....	10
FigureN°7 : Localisation des zones de récupérations des échantillons	13
FigureN°8 : Les différentes échantillons de déchets alimentaire utilisé pour cette étude.....	14
FigureN°9 : Décortication de la viande des os de déchets de volaille.....	15
FigureN°10 : Rinçage des échantillons de déchets de volaille(viande).....	15
FigureN°11 : Séchage par étuve des échantillons de déchets de viande de volaille.....	16
FigureN°12 : Farine de déchets de volaille après broyage.....	16
FigureN°13 : Etapes d'extraction par soxhlet de la matière grasse de déchets de viande de volaille en utilisant hexane.....	17
FigureN°14 : Préparation du milieu GN a base de déchet de volaille a des différentes pourcentage...	19
FigureN°15 : Préparation de l'inoculum de Mc.Farland (E.Coli).....	20
FigureN°16 : Coloration de Gram d'E.Coli.....	21
FigureN°17 : Découpage et broyage de déchet de pain	22
FigureN°18 : Préparation du milieu de culture PDA a base de pommes de terre.....	23

FigureN°19 : Mesure du Ph après la préparation du milieu de culture.....	24
FigureN°20 : Souches référentielles de <i>Fusarium</i> (Wy18 , Wy2).....	25
FigureN°21 : Tamisage de la farine de coquille d'œufs	26
FigureN°22 :Antibiotique utilisé comme référence (Céfazoline).....	27
FigureN°23 : Inoculation des milieux de culture a base de coquille d'œufs dans des boites de Petri...	28
FigureN°24 :Etuve d'incubation à 37°C.....	28
FigureN°25 : Flacons des milieux GN (déchet de volaille) et GN commercialise.....	29
FigureN°26 : Déchet de volaille en fonction des colonies d' <i>E. coli</i>	31
FigureN°27 : <i>E. coli</i> dans un milieu GN commercialisé (cas incomptable).....	32
FigureN°28 : <i>E. coli</i> dans un milieu R (aucune croissance).....	32
FigureN°29 : Phénomène d'osmose chez E.Coli.....	32
FigureN°30 : Observations microscopiques d'E.coli (grossissement x1000).....	33
FigureN°31 : Différence entre les parois des grams positif et des grams négatifs.....	34
FigureN°32 : Flacons des milieux PDA (déchet de pain) et PDA commercialise.....	34
FigureN°33 : Aspect macroscopique de différents souche de <i>Fusarium</i> (Wy18,Wy2).....	36
FigureN°34 : Souche de <i>Fusarium</i> (Wy2) dans un milieu a 100% et 75% respectivement après 5jours.....	36
FigureN°35 : Croissance de <i>Fusarium</i> Wy2 après une observation de 5 et 10jours.....	37
FigureN°36 : Espèce de <i>Fusarium</i> (Wy18) dans un milieu PDA commercialisé après 5jours.....	37
FigureN°37 : Espèce de <i>Fusarium</i> (Wy18) dans un milieu PDA (25et 50%) après 5jours.....	38
FigureN°38 : Croissance de <i>Fusarium</i> Wy18 après une observation de 5 et 10jours.....	38
FigureN°39 : Phénomène d'osmose chez <i>Fusarium</i> Wy18.....	39
FigureN°40 : Observation microscopique de <i>Fusarium</i> (Wy18 et Wy2) grossissement x1000.....	39
FigureN°41 : Flacons des milieux GN (coquille d'œufs) et GN commercialise.....	40



Liste des abréviations

GN : La gélose nutritive ou gélose nutritive ordinaire (GNO).

PDA : La gélose dextrose à la pomme de terre.

E. Coli : Escherichia coli, également appelée colibacille.

pH : Unité de mesure d'acidité, sur une échelle allant de 1 à 14.

R : Milieu de culture a aucune substance.

Wy2 : Souche référencée de Fusarium (Solani)

Wy18 : Souche référencée de Fusarium (Oxysporum)

SDS : dodécylsulfate de sodium

EDTA : acide éthylène diamine tétra-acétique



Listes des tableaux

Tableaux N°01 : Composition biochimique de la volaille.....	08
Tableaux N°02 : Composition des produits de panification.....	11

Sommaire

Remerciements

Liste des figures

Liste des tableaux

Listes des abréviations

Introduction

Partie bibliographique

1. Généralités sur déchet.....	01
1.1. Définition	01
1.2. Les déchets et leur développement au cours du temps	02
1.3. La gestion des déchets.....	03
1.4. L'Algérie et la valorisation des déchets.....	04
2. Généralités déchet alimentaire.....	06
2.1. Composition d'un déchet alimentaire.....	06
2.2. Impact d'accumulation des déchets alimentaire sur environnement	07
2.3. Impact d'accumulation des déchets alimentaire sur économie.....	08
2.4. Les catégories des déchets alimentaires.....	09
2.5. Valorisation des déchets alimentaires	10
2.6. Volaille.....	10
2.7. Coquille d'œufs.....	11
2.8. Pain.....	12

Partie Méthodologie

1. Lieu de récupération des échantillons.....	13
2. Matériels.....	14
3. Méthodes.....	17
3.1. Volaille.....	17
3.2. Préparation de farine de déchet de volaille.....	17
3.3. Prétraitement de l'échantillon.....	17
3.4. Choix du milieu de culture.....	20
3.4.1. Préparation de l'agar nutritif a base de déchets de volaille.....	22

3.5. Choix du micro-organisme	23
3.6. Pain.....	26
3.6.1. Préparation de la farine de pain.....	26
3.6.2. Choix du milieu de culture.....	27
3.6.3. Choix du micro-organisme.....	30
3.9 Coquille d'œufs.....	32
3.9.1 La farine de coquille d'œufs.....	33
3.9.2 Choix du milieu de culture, micro-organisme et antibiotique.....	34

Partie Résultats et Discussion

1. Milieu à base de déchets de volaille	35
1.1. Comparaison visuelle entre le milieu (déchet de volaille) et le milieu commercialisé.....	35
1.2. Croissance d' <i>E. Coli</i> dans le milieu à base de déchet de volaille	39
2. Milieu à base de déchets de pain.....	43
2.1 Comparaison visuelle entre le milieu (déchet de pain) et le milieu commercialise.....	43
2.1.1. Croissance de <i>Fusarium</i> Wy18 dans le milieu a base de déchet de pain.....	43
2.1.2. Croissance de <i>Fusarium</i> Wy2 dans le milieu a base de déchet de pain.....	44
3. Milieu à base de déchet de coquille d'œufs.....	52
3.1. Comparaison visuelle entre le milieu à base de déchet de coquille d'œuf et le milieu commercialisé.....	52
3.2. Croissance d' <i>E. Coli</i> dans le milieu à base de déchet de coquille d'œufs.....	52
3.3. Croissance d' <i>E.coli</i> dans le milieu a base d'antibiotique.....	54

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Introduction



‘Algérie génère 13 millions de tonnes déchets par an. 30% de ces déchets sont des matières organiques assimilées, 30% de déchets solides et 50% de déchets inertes. (Algérie presse service,2020) dont, 3 milles tonnes de ces déchets sont des déchets alimentaires ménagers, soit 91 kg par habitant/an.

Les déchets alimentaires sont caractérisés par leur composition qui est riche en une teneur élevée en humidité, en salinité et en matière organique (Östergren.,2014). Ces derniers peuvent être des pertes dues à des dommages mécaniques et/ou à des déversements lors des opérations de récolte agricole ou bien des déchets de restauration (universitaire)

Le déchet alimentaire joue un rôle important dans valorisation qui consiste à produire des engrais. (Christelle ,2015)

A l’heure actuelle, il existe peu méthode de valorisation des déchets alimentaires qui s’intègre dans le domaine microbiologique, ou qui permet de reformuler la constitution d’un milieu de culture bactérien ou un milieu de culture fongique en dehors de la valorisation par compostage qui consiste à transformer biologiquement des matières organiques, en présence des micro-organismes pour utilisation dans le domaine d’agriculture (Sabater,2020).

Partant de cette problématique notre travail consiste à donner une importance a la valorisation des déchets alimentaire (pain, volaille, coquille d’œufs) de la cantine de restauration universitaire

Pour ce faire, les principaux objectifs sont résumés comme suit :

- Contribué à la minimisation et la valorisation des déchets de restauration universitaire.
- Reformulation des milieux de culture a base des déchets avec une performance proche du milieu commercialisé(importé). Qui sont tellement nécessaire à la recherche universitaire.

Afin de mener à terme ce travail et aborder l’ensembles des aspects relatifs à ce thème et en vue d’une meilleure valorisation de son contenu, nous avons adopté la démarche suivante.

Une première partie bibliographique qui donne un aperçu sur les déchets la valorisation de ces derniers, ainsi que la caractérisation des déchets abordé dans ce travail

Une deuxième partie méthodologique présentant la démarche technique notamment le matériel biologique utilisés dans l’expérimentation.

La troisième partie présente les résultats et les discussions des différents paramètres étudiés.

Enfin une conclusion et des perspectives pour mieux affiner et développer cette nouvelle démarche technique.

1. Généralité sur les déchets

1.1. Définition d'un déchet

Les déchets ont été définis comme tout produit ou matériau qui est inutile pour le producteur (Basu, 2009) c'est aussi le résultat de processus de production inefficaces (Cheremisinoff, 2003). Dijkema et al, (2000) ont souligné que les déchets sont des matériaux dont les gens voudraient se débarrasser même lorsque des paiements sont nécessaires pour leur élimination. Bien que les déchets soient un produit essentiel des activités humaines.



Figure1 : Le contenu en pourcentage de chaque composant dans une poubelle

1.2. Les déchets et leur développement au cours du temps

A la préhistoire

– 10 000 avant Jésus-Christ, les hommes préhistoriques jettent les restes de nourriture à l'endroit même où ils mangent. Ces déchets se décomposent naturellement dans la nature. De plus, le nomadisme facilite leur non- gestion des déchets. Les déchets sont utiles car ils sont témoins de notre passé. (Figure2)

Au Moyen Age (de 476 à 1453)

Les hommes commencent à se regrouper dans des villes. Les habitants jettent leurs déchets, excréments, carcasses d'animaux dans la rue ou dans les rivières. Les demeures bourgeoises des grandes Les rues sales et malodorantes, les rats s'y répandent. Les porcs et les chiens qui vivent librement dans la rue nettoient la ville en mangeant les ordures, les vagabonds « traitent » aussi une partie de ces déchets. (Figure2)

La fin du XIXème siècle : le début d'une réelle gestion des déchets

Les découvertes de Louis Pasteur (1870) mettent en évidence le lien entre l'hygiène et la santé.

En 1884, Eugène Poubelle, ordonne le dépôt, devant les portes, des ordures ménagères dans des récipients spéciaux munis d'un couvercle. Elles ne sont alors plus éparpillées dans la rue avant d'être ramassées par les services municipaux. La poubelle est née. (Figure2)

Aujourd'hui,

La récupération et le recyclage prennent de multiples visages. Mais si la collecte municipale des déchets ménagers s'est peu à peu développée dès la fin du XIXe siècle dans les grands centres urbains, elle est restée pratiquement inexistante dans les communes rurales jusqu'à récemment. La gestion des déchets ne faisant pas l'objet d'une réglementation nationale, chaque commune s'organisait comme elle l'entendait. A l'heure actuelle, la plupart des municipalités ont un programme de collecte du papier, du verre, du plastique et du métal. Il y a encore des gens démunis et des brocanteurs qui font le tour des rues et ruelles avant les collectes de déchets. Ainsi il aura fallu attendre près d'un siècle entre l'invention de la poubelle et la mise en place d'une véritable collecte et de lieux de stockage des déchets (Fonds ,2013)



Figure2 : Le développement des déchets au cours du temps

1.3. La gestion des déchets

La gestion des déchets se définit au sens de l'article 541-1-1 du Code de l'Environnement comme étant : « La collecte, le transport, la valorisation et, l'élimination des déchets et, plus largement, toute activité participant de l'organisation de la prise en charge des déchets depuis leur production jusqu'à leur traitement final, y compris les activités de négoce ou de courtage et la supervision de l'ensemble de ces opérations ».

Trois catégories de valorisation des déchets peuvent être identifiées. Chaque type correspond à une catégorie de déchets considérant bien sûr différents modes de traitements possibles pour chacun d'entre eux :

- **Le recyclage ou la valorisation** matière s'adresse aux déchets dits recyclables (cartons, papiers, verre, emballages plastiques, boîtes métalliques...) mais également à tous les appareils électroménagers, les meubles, ...

- **La valorisation énergétique** s'adresse principalement aux déchets dits résiduels. Ce sont les déchets restant après le tri des déchets recyclables. Ces déchets selon l'équipement des communes seront traités soit via un procédé thermique (incinération ou gazéification), soit via le stockage. En fonction de la destination finale des déchets résiduels, différentes techniques sont utilisées afin de produire de l'énergie.

-**la valorisation organique** s'adresse aux déchets alimentaires. Cette valorisation consiste à produire des engrais ou amendements pour un retour au sol des déchets. (Christelle ,2015)

1.4. L'Algérie et valorisation des déchets

Algérie génère 13 millions de tonnes déchets par an. 30% de nos déchets sont des matières organiques assimilées, 30% de déchets solides et 50% de déchets inertes et nous avons une valorisation qui est au-dessous de 7%.

Le directeur général du Centre National de Développement des Energies Renouvelables (CDER), qu'en Algérie, 62% des déchets sont organiques et putrescibles, donc valorisables en biogaz. Un milliard de mètre cube (m³) de biogaz peut être ainsi récupéré de ces déchets. C'est l'équivalent de 2.000 gigawatts/an d'électricité".

Puisqu'en Algérie, la chaîne de recyclage n'est pas respectée et la procédure du tri n'est pas perfectionnée, les déchets vont dans la même benne, et ils sont séparés manuellement sur le tapis de tri, au centre d'enfouissement technique.

Une étude révélant que la quantité annuelle des déchets spéciaux générés au niveau national est de l'ordre de 325 000 tonnes. Soit 2 360 tonnes stockées de pesticides périmés, 12 000 T de médicaments, 450 000 T de boues contenant du zinc stocké, 1 000 000 T de boues.

Six wilayas (Alger, Béjaïa, Skikda, Annaba, Tlemcen, Oran), produisent à elles seules 283 000 t/an et détiennent 1,9 millions de tonnes en stock soit 95% du stock détenu au niveau national. (Algérie presse service,2020).

2. Un déchet alimentaire

Selon européen Fusions : « Les déchets alimentaires sont tous les aliments, et les parties non comestibles des aliments, retirés de la chaîne d'approvisionnement alimentaire pour être récupérés ou éliminés (y compris les cultures compostées, labourées / non récolté, digestion anaérobie, production de bioénergie, cogénération, incinération, évacuation à l'égout, décharge ou rejetée en mer) » (Östergren., 2014).

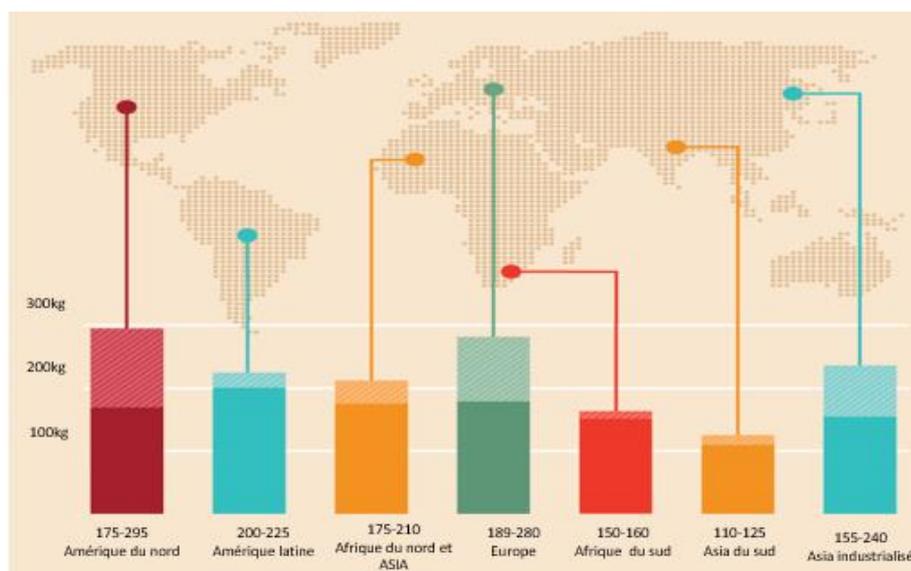


Figure3 : Accumulation des déchets alimentaire dans le monde

2.1. Composition d'un déchet alimentaire

Les déchets alimentaires sont caractérisés par une teneur élevée en humidité, en salinité et en matière organique, ce qui leur confère une duplicité avec les déchets périssables et odorants et le potentiel en tant que ressource biotique de recyclage.

Il existe des variations spatiales et temporelles importantes des composants du gaspillage alimentaire provenant de différentes régions en raison des différences géographiques, des habitudes alimentaires et des traditions culturelles.

2.2. Impact d'accumulation des déchets alimentaire sur environnement

Lorsque Nos aliments sont jetés dans une décharge, ils pourrissent et deviennent une source importante de méthane (un puissant gaz à effet de serre avec 21 fois le potentiel de réchauffement planétaire du dioxyde de carbone).

Les modes de production alimentaire entraînent également dans de nombreux cas une érosion des terres, de la déforestation, une perte de biodiversité liée à d'importantes surfaces de monocultures, une surproduction de lisiers (impactant la qualité des eaux souterraines), une baisse importante des populations de poissons liée à la surpêche de certaines espèces. Cela vient également avec une forte empreinte carbone. (Food Policy,2018)

2.3. Impact d'accumulation des déchets alimentaire sur économie

La production de nos aliments nécessite une importante consommation d'eau qui est récupère par dépendent énorme d'argent , de matières premières (pour la production d'engrais, pesticides) et d'énergie (pour le chauffage des serres, le travail de la terre, la production d'engrais et pesticides...).

Par exemple : Le gaspillage de nourriture nuit non seulement à la capacité de la société de nourrir environ 9,7 milliards de personnes dans le monde d'ici 2050 (ONU, 2015), mais il représente également environ 25% de l'approvisionnement en eau douce des États-Unis chaque année et consomme près de 300 millions de barils de pétrole (Hall et al., 2009).

2.4. Les catégories déchets alimentaires

Cinq frontières de système ont été distinguées dans les chaînes d'approvisionnement alimentaire de légumes et d'animaux marchandises. (Gustavsson,2011)

2.4.1. Marchandises et produits végétaux :

Production agricole : pertes dues à des dommages mécaniques et/ou à des déversements lors des opérations de récolte (par exemple : cueillette des fruits), tri des récoltes après récolte.

Manipulation et stockage post-récolte : y compris les pertes dues aux déversements et à la dégradation lors de la manipulation.

Stockage et transport entre la ferme et la distribution.

Traitement : y compris les pertes dues aux déversements et à la dégradation au cours du traitement industriel ou domestique.

Distribution : y compris les pertes et les gaspillages dans le système de marché.

Consommation : y compris les pertes et gaspillages lors de la consommation au niveau du ménage.

2.4.2. Marchandises et produits animaux :

Production agricole : pour la viande bovine et volaille, les pertes correspondent à la mort d'animaux lors de l'élevage.

Pour le poisson, les pertes se réfèrent aux rejets pendant la pêche. Pour le lait, les pertes se réfèrent à une diminution de la production de lait due à maladie de la vache laitière (mastite).

2.5. Valorisation des déchets alimentaire

Le terme valorisation signifie rediriger les anciens déchets alimentaires vers des produits alimentaires, des produits alimentaires pour animaux, ou les convertir ou extraire des ingrédients destinés à l'alimentation humaine ou animale, en prenant en considération

2.5.1. Compostage

Est un procédé de transformation biologique des matières organiques, en présence d'eau et d'oxygène. Une fermentation s'opère : des micro-organismes transforment les déchets pour former du compost (produit stabilisé, hygiénique et riche en humus, fort utile au jardin.)

2.5.2 Biocarburants

Sont des carburants de substitution obtenus à partir de biomasse (matière première d'origine végétale, animale ou issue de déchets). Ils sont destinés à être utilisés dans les transports, principalement sous forme d'additifs ou de compléments aux carburants fossiles.

Plusieurs types de biocarburants

Les biocarburants qu'on incorpore dans l'essence sont constitués essentiellement d'éthanol, issu principalement de la fermentation des sucres présents dans les betteraves ou les céréales.

Les biocarburants qu'on incorpore dans le gazole, regroupés généralement sous l'appellation « biodiesel », sont fabriqués à partir de matières oléagineuses comme le colza, le tournesol, le soja, la palme, les huiles alimentaires usagées ou les graisses animales.

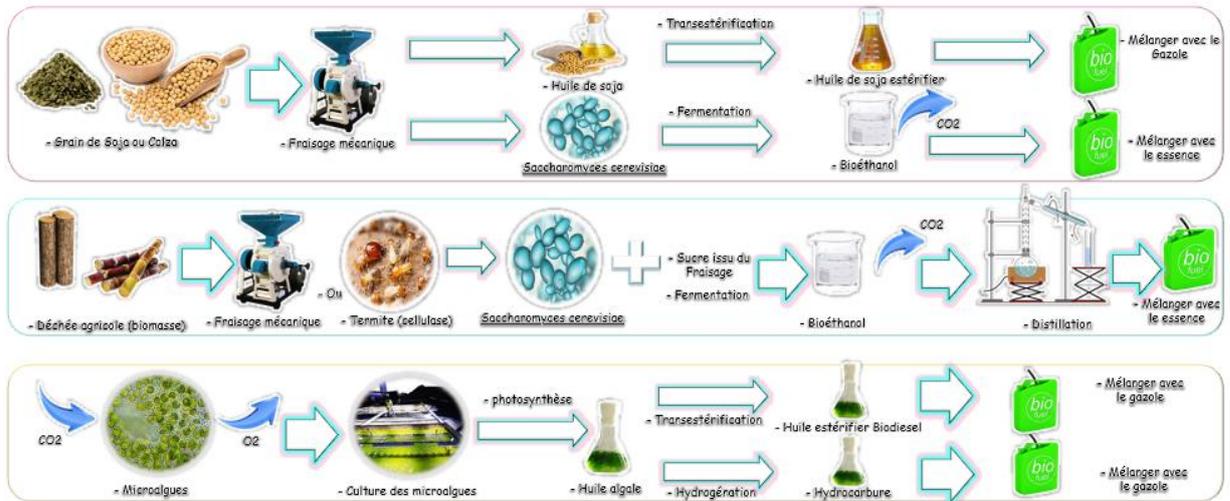


Figure4 : Etapes de Valorisation des déchets alimentaire en biocarburants

2.6. Volaille

Une volaille est un oiseau domestique, appartenant généralement aux gallinacés ou aux palmipèdes, élevé pour sa chair, ses œufs, ses plumes. L'échelle d'élevage des volailles va de l'intensif industriel spécialisé pouvant regrouper des centaines de milliers d'individu à l'élevage paysan, fermier ou familial des quelques oiseaux rustiques.

5.1. Composition biochimique de la volaille

Par une teneur élevée en protéines et une teneur en matières grasses relativement faible (Gordana,2001), elle est une source intéressante de potassium, de phosphore, de fer et de vitamines du groupe B, notamment la vitamine B12. La teneur de ces constituants varie en fonction du sexe, types de muscle et de l'espèce aviaire. (Gordana,2001) tableau ci-dessous

Composants	Unité	Teneur moyenne
Energie	Kcal	124
Eau	g	73
Protéine	g	22,2
Glucides	g	0

Tableau 1: Composition biochimique de la volaille (Unité/Teneur moyenne)

2.7. Définition de la coquille d'œufs

Une coquille d'œuf est une enveloppe minéralisée externe plus ou moins résistante recouvrant les œufs amniotiques. Sécrétée par la glande coquillière de l'oviducte, Elle permet les échanges gazeux respiratoires à travers ses pores, mais limite la pénétration des microbes tout en augmentant la résistance aux chocs et à l'écrasement. (M. Ketta,2016)

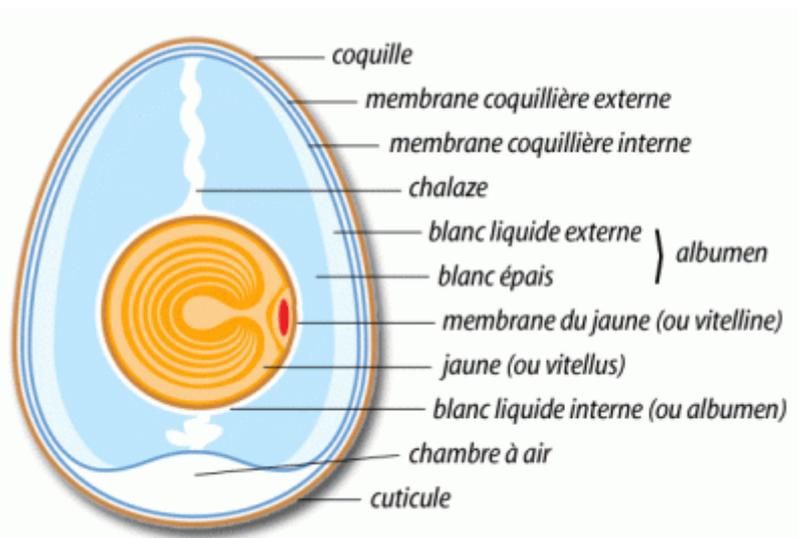


Figure5: Structure d'œuf de la volaille

2.7.1. Composition de la coquille d'œuf

Elle est composée d'une trame protéique sur laquelle se déposent des cristaux de carbonate de calcium (CaCO_3). Cette trame protéique est synthétisée par l'utérus et comprend deux zones (Europe 1,2019).

Elle renferme 1.6 % d'eau et 3.3 % de protéines qui constituent sa trame, la partie minérale qui représente 95.1% est essentiellement composée de carbonate de calcium (93.6 %) sous forme de calcite ainsi que du carbonate de magnésium et du phosphate tricalcique (0.8 % chacun).

2.7.2. Les micro-organismes et volaille

Les bactéries peuvent être trouvées sur le poulet cru ou insuffisamment cuit. Certaines bactéries associées au poulet sont Salmonella, Staphylococcus aureus, Campylobacter jejuni et Listeria monocytogenes (Lm). Ils se multiplient rapidement à des températures comprises entre 40 ° F et 140 ° F - hors réfrigération et avant une cuisson complète.

2.7.3. Valorisation des déchets avicoles

Les déchets sont représentés par différentes parties constitutives du poulet à proportions inégales

2.7.4. Valorisation des plumes de volaille

Les plumes de volailles représentent entre 4,5 et 6,2% en poids vif de l'animal. Elles sont classées selon la nomenclature française dans la catégorie de déchets non dangereux (Savaryet, 2004).

Les plumes ont longtemps été considérées comme un déchet dont la destination principale est la destruction par incinération. Ceci engendre un inconvénient écologique, par une dépendance importante d'énergie, une libération de CO_2 et autres gaz indésirables.



Figure6: Transformation des plumes en farine

6.7. Valorisation des viscères de volaille

Les déchets viscéraux peuvent trouver une utilisation dans les engrais agricoles par épandage. Cependant, des craintes de dissémination de maladies ont été soulevées. (Naouad,2011)

6.9. Valorisation des coquilles d'œufs

Au contraire, des avantages environnementaux et économiques significatifs pourraient être obtenus en transformant ces biodéchets en de nouveaux produits à valeur ajoutée. Les biodéchets de coquille d'œuf ont été le matériau de départ pour la synthèse d'hydroxyapatite par une procédure simple et durable et ont été appliqués pour l'élimination du CO_2 + des solutions aqueuses.

Exemple d'extraction keratinique pour la fabrication de peinture résistante à la lumière ou bien la fabrication de textile non tissé avec nappage de plumes (Naouad,2011)

7. Définition du pain

Le blé avec lequel le pain est fabriqué contient des nutriments essentiels tels que les glucides, les minéraux, des graisses et des protéines qui peuvent favoriser la prolifération des micro-organismes dans les produits fabriqués à partir de céréales et conservés dans des conditions de stockage inappropriées.

7.1. Composition des produits de panification

La farine de blé est l'ingrédient de base des produits de panification. Outre l'abondance de cette céréale, son utilisation très répandue est liée à la capacité de la pâte à retenir le gaz permettant, ainsi, son expansion lors de la cuisson (Gan et al., 1995). La farine est un composé complexe comportant différents constituants (protéines, lipides, sucres...) qui jouent un rôle direct ou indirect dans la structuration et l'aération de la pâte.

Composants	% matière sèche
Eau	14
Protéine	7-15
Amidon	63-72
Polysaccharide non amylacés	4,5-5
Lipides	1-2

Tableau 2 : Composition des produits de panification en (% de matière sèche)

7.2. Les déchets de pain dans le monde

Pour savoir accumulation des déchets du pain il faut en effet jeter un œil aux plus gros consommateurs de pain dans le monde (Malo,2017)

1-Les Turques : 120 kg/personne et par an

2- Les Algériens : 110 kg/personne

Avec 49 millions de baguettes consommées quotidiennement, l'Algérie serait le pays où l'on mange proportionnellement le plus de pain dans le monde. Mais certains émettent quelques réserves, partant du principe que le poids officiel de la baguette de 250g est rarement respecté (on parlerait plutôt de 180g). Une bidouille qui ferait chuter la consommation moyenne par personne à 78 kg par an et par personne. Ce qui est déjà pas mal. Gros consommateurs de pain au quotidien, les Algériens passent même à 40 baguettes par personne pendant le mois du Ramadan.

7.3. Valorisation des déchets de pain en microbiologie

Des études de recherche ont montré que les résidus de pain ont un rendement élevé substrats bioénergétiques principalement pour la production d'éthanol et de biohydrogène

Une méthode alternative de valorisation des déchets de pain est rapportée en l'utilisant comme fermentation substrat pour champignons filamenteux de qualité alimentaire, générant une gamme de produits à valeur ajoutée tels sous forme d'éthanol, de glycérol et de composants d'aliments pour animaux. (Ramkumar B. Nair)

Autre moyenne de valorisation de déchets de pain

Parmi les industries qui s'intéressent à la collection de déchets de pain on site

-ONDAINE AGRO consiste à récolter le pain non consommé dans les boulangeries et grandes surfaces notamment, de le trier (enlever les emballages, le pain moisi...) de le trancher, le faire sécher (pour le conserver) le broyer, afin d'obtenir une panure qui sera vendue en tant qu'aliment pour les animaux, auprès des agriculteurs pour nourrir les vaches laitières, les porcs et les volailles.

1. Lieu de récupération des échantillons

Pour réaliser notre travail, nous avons prévu la récupération des déchets alimentaires (pain, volaille, coquille d'œufs) au niveau du restaurant de campus universitaire Karman de l'université de Tiaret et la cité universitaire Karman 1

Mais en raison de causes exceptionnelles de la pandémie de corona virus, les repas préparés pour les étudiants ont été emportés donc par la suite absence de quelques déchets alimentaires universitaire comme la volaille pour cela nous nous sommes dirigés vers les fournisseurs de volailles. (Figure ci-dessous)

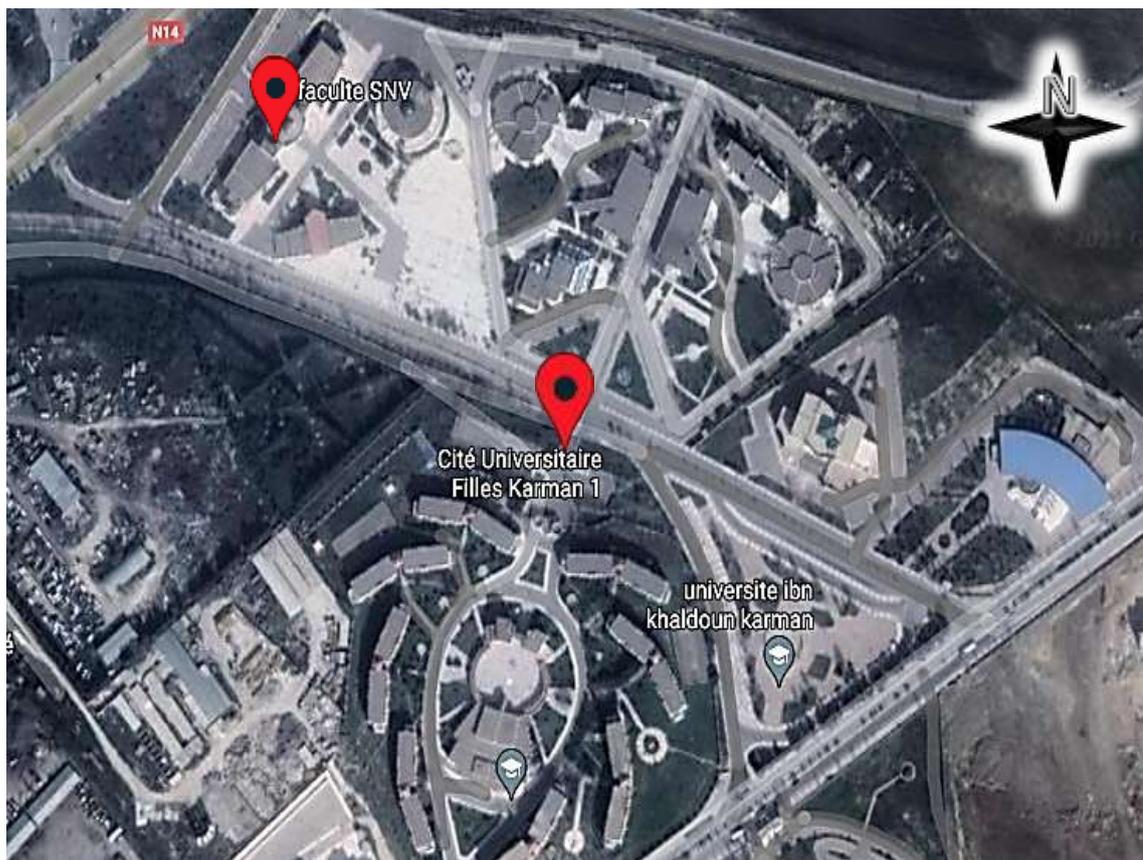


Figure 1: localisation des zones de récupération des échantillons.

2. Matériels

Les déchets de pain ont été collectés au niveau de la résidence universitaire des filles Asia Kebir de Tiaret.

Les déchets de coquille d'oeufs ont été collectés au niveau du restaurant universitaire de la faculté science de la nature et de la vie de Tiaret.

Les déchets de volaille ont été achetés au niveau de marché de la ville de Tiaret.(Figure ci-dessous)



Figure 2 : Les différents échantillons des déchets alimentaires utilisés pour cette étude.

3. Méthodes

3.1. Volaille

3.1.1. Préparation de farine de déchets volaille

Des carcasses de volaille ont été conservées à 4 °C dans des glacières jusqu'à l'arrivée au laboratoire.

3.1.2. Prétraitement de l'échantillon

3.1.3. Préparation des carcasses

L'échantillon de déchet de volaille est d'abord décortiqué en éliminant la viande de la peau et de l'os pour lui permettre d'être hachée, car plus la taille de mouture est fine plus la libération de graisse et de protéines solubles de la structure musculaire est importante (Saint-Pierre, 1991).(Figure ci-dessous)

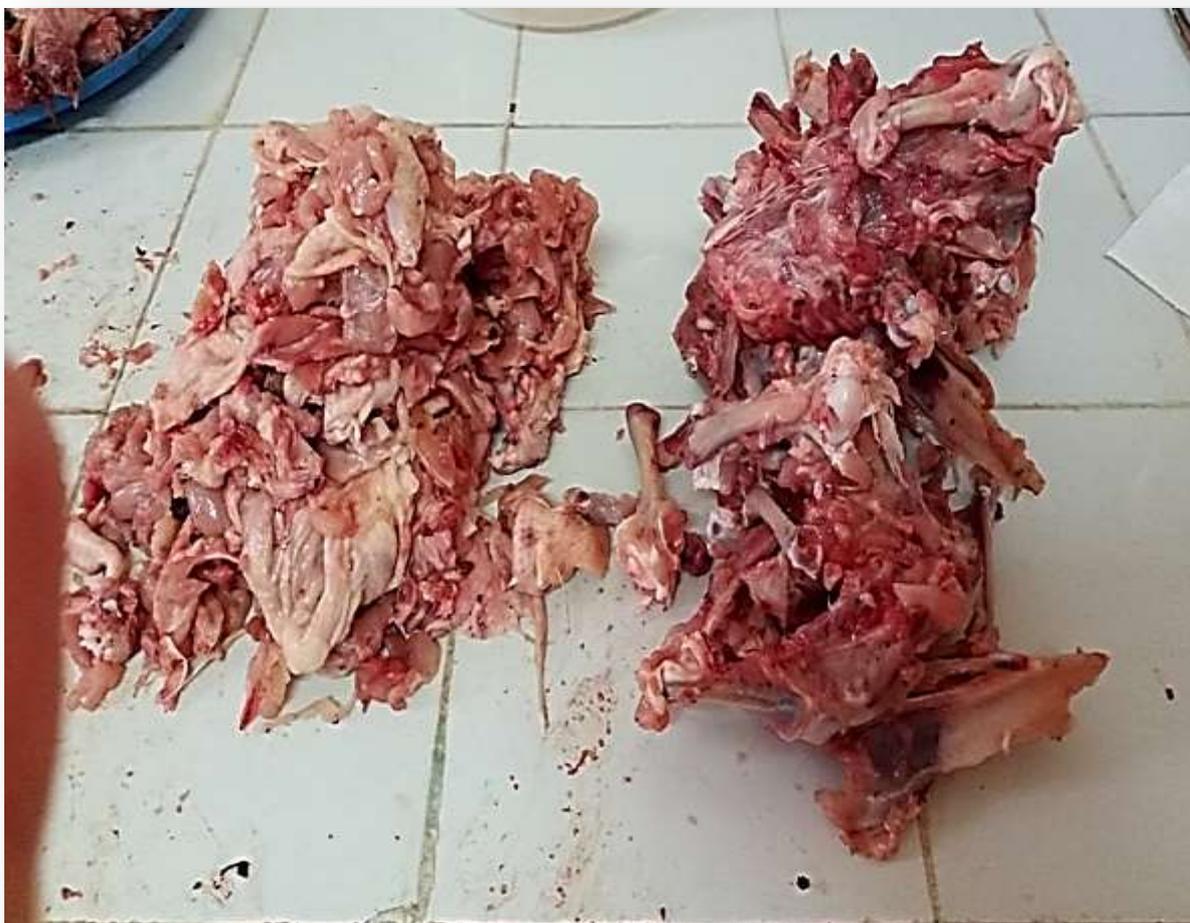


Figure 3 : Décortication de la viande des os des déchets de volaille.

Ensuite le lavage du déchet de viande de volaille avec de l'eau distillée. (Figure ci-dessous)



Figure 4 : Rincage des échantillons de déchets de viande de volaille.

3.1.4. Séchage des échantillons de déchets de viande volaille

Un processus de séchage conçu pour produire une poudre de viande fonctionnera à des températures de cuisson 45°,75°,200° C pendant 30 min à une heure. Les protéines auront subi une hydrolyse minimale et les saveurs résultantes seront douces (Saint-Pierre ,1991).(Figure ci-dessous)



Figure 5: Séchage par étuve des échantillons de déchets de viande de volaille.

3.1.5. Obtention d'une farine de volaille

Broyer les déchets de viande de volaille dans un broyeur pour réduire la taille des particules (Saint-Pierre ,1991). (Figure ci-dessous)



Figure 6 : Farine de déchets de viande de volaille après broyage.

3.1.6. Extraction de la matière grasse de la farine de volaille

Pesez exactement 50g d'échantillon dans des cartouches d'extraction de cellulose puis couvrir le dessus de chaqu'un avec de la laine de verre pour éviter de flotter. Extraire les lipides avec 1000 ml d'hexane au point d'ébullition (environ 69°C) pendant 7 à 12 h ensuite laissez l'échantillon de déchet de viande de volaille refroidir. Eliminer le solvant de l'extrait par lavage a eau distillée en plaçant l'eau distillée à la place du solvant dans la fiole à 1000 ml pendant 1 h (Saint-Pierre ,1991)

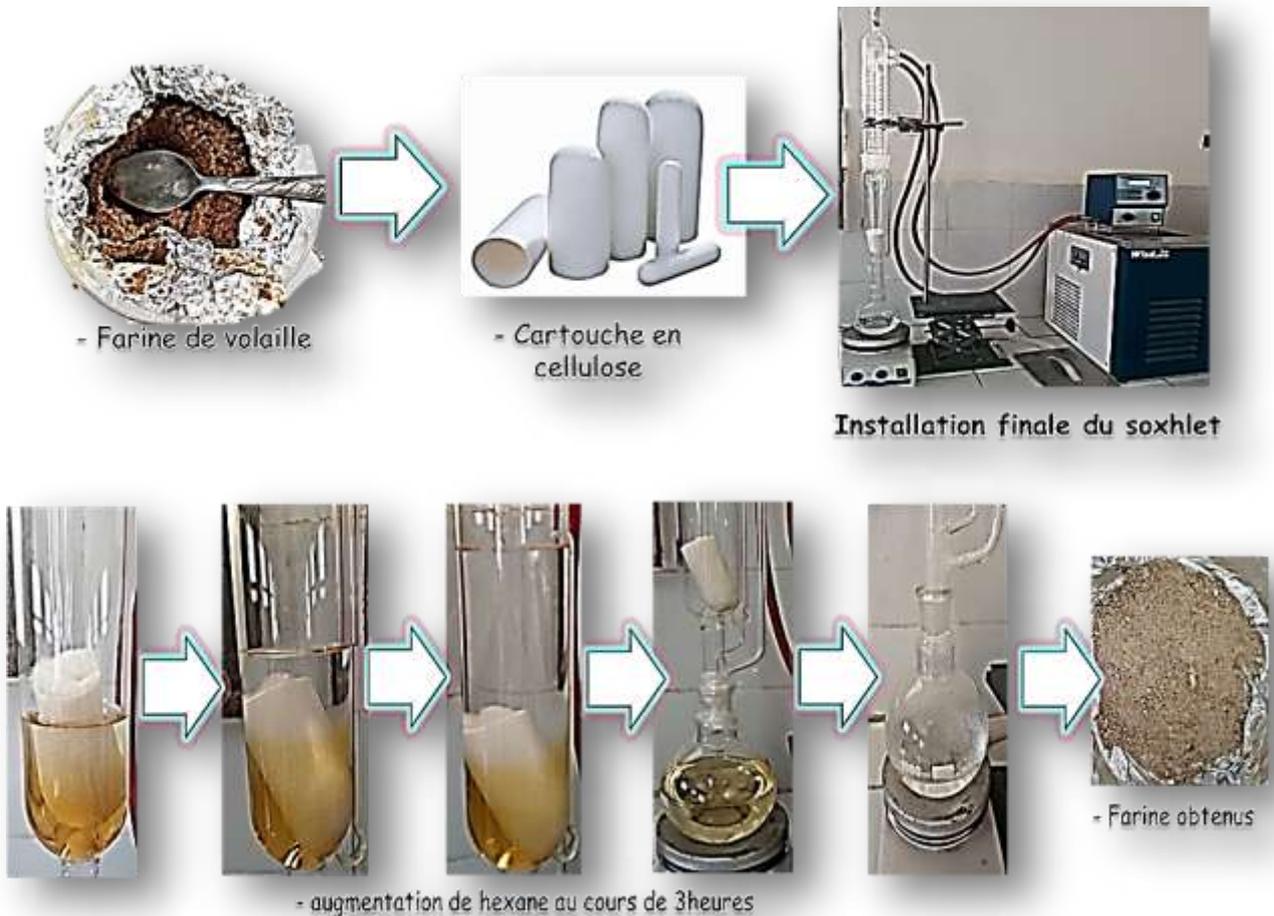


Figure 7 : Etapes d'extraction par soxhlet de matière grasse de déchets de viande de volaille en utilisant l'hexane.

3.1.7. Choix du milieu de culture

Milieux de base sont appelés aussi milieux usuels non sélectifs, on regroupe sous ce vocable tous les milieux ne contenant aucune molécule inhibitrice. Ils sont en général de préparation assez simple et généralement peu coûteuse, ces milieux contiennent une base nutritive constituée de molécules azotées (acides aminés, molécules organiques diverses...) provenant de l'hydrolyse de produit d'origine vivante (animale, végétale, mycélienne) comme les peptones, les extraits de viande ou de levure exemple gélose et bouillon nutritif, gélose et Bouillon (Khadir Oran,).

3.1.8. La gélose agar nutritif

3.1.9. L'agar nutritif commercialisé

Dissoudre le milieu déshydraté dans le volume approprié d'eau distillée ,23g d'agar nutritif déshydraté (voir les instructions du fabricant) dans 1000ml d'eau distillée. Chauffer avec agitation fréquente à l'aide d'un agitateur magnétique et faire bouillir pendant 1 minute pour dissoudre complètement la poudre, la poudre va contenir la composition suivante (normes ISO 21528.)

- Extrait de viande.....3g

- Peptone.....5g
- Agar...15g
- Eau distillée.....1000ml
- Ph final (6,8 +/-0,2)



Figure 8 : Mesure de PH *après* préparation de la gélose commercialisée.

Puis la stérilisation du milieu par autoclavage (121°C pendant 15 min), distribuer le milieu dans des tubes (c a d 3ml pour faire des pentes d'agar nutritif, 5ml pour faire des profondeurs d'agar nutritif) ou des plaques. Laisser le milieu gélose se solidifier et datez le support et attribuez – lui un numéro de lot.

3.1.10. Préparation de l'agar nutritif à base de déchets de la volaille

Dissoudre les constituant du milieu dans le volume approprié 250ml d'eau distillée, avec des pourcentages différents d'incorporation du déchet de la volaille à la place de l'extrait de bœuf. (Figure et tableau ci-dessous)

Le Milieu utilisé	Composition	Date de fabrication
Gélose nutritive a 0% (sans déchets seulement extrait de viande)	-Eau 250ml -Extrait de viande 0,75g -Peptone 1,25g -Agar 3,75g -Na Cl 1,25g	05-05-2021 
Gélose nutritive à 25% (mélange entre le déchet de la volaille et extrait de viande)	-Eau 250ml -Extrait de viande 0,56g -Farine de déchet du volaille 0,187g -Peptone 1,25g -Agar 3,75g -Na Cl 1,25g	05-05-2021 
Gélose nutritive à 50% (mélange entre le déchet de la volaille et extrait de viande)	-Eau 250ml -Extrait de viande 0,375g -Farine de déchet du volaille 0,375g -Peptone 1,25g -Agar 3,75g -Na Cl 1,25g	05-05-2021 
Gélose nutritive a 100% de déchet de volaille	-Eau 250ml -Farine de déchet du volaille 0,75g -Peptone 1,25g -Agar 3,75g -Na Cl 1,25g	05-05-2021 
Gélose nutritive R (sans extrait de viande et sans déchet de la volaille)	-Eau 250ml -Peptone 1,25g -Agar 3,75g -Na Cl 1,25g	05-05-2021 

Gélose commercialisé	-Eau 250ml -Poudre de gélose 5,75g	05-05-2021 
----------------------	---------------------------------------	---



Figure 9 : préparation du milieu de culture GN de déchets de volaille à des différentes pourcentages.

3.1.11. Choix du micro-organisme utilisé

Escherichia coli (*E. coli*) est une bactérie qui s'établit dans le tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud. Les souches de *E. Coli* sont la cause d'intoxications alimentaires via la consommation de produits animaux mal cuits ou consommés crus. Les fruits et les légumes frais, ayant été en contact avec ces souches peuvent être également à risque. (Institut Pasteur-2018)
Ces derniers sont faciles a manipulé et ne présente aucune exigence vise a vie leur croissance dans le milieu de culture GN.

-Préparation du standard de turbidité McFarland

Un standard de McFarland 0,5 doit être préparé et un contrôle de la qualité sera effectué avant de commencer le test de sensibilité. S'il est hermétiquement fermé et gardé dans le noir, le standard peut être conservé pendant 6 mois. Le standard McFarland est utilisé pour ajuster la turbidité de l'inoculum pour le test de sensibilité.

-Préparation de l'inoculum

Chaque culture doit êtreensemencée en stries sur une gélose non inhibitrice pour obtenir des colonies isolées.

Après une incubation d'une nuit à une température comprise entre 35 et 37°C

Émulsionner une quantité suffisante de culture bactérienne(*E.coli*) dans une solution salée ou le bouillon pour que la turbidité avoisine celle du standard McFarland 0,5.

Cette comparaison peut être faite plus facilement si les tubes sont observés contre une fiche de papier blanc avec lignes noires, si c'est nécessaire, la turbidité peut être diminuée en ajoutant plus de solution saline stérile ou de bouillon. (Jorgensen JH,1999)(Figure ci-dessous)

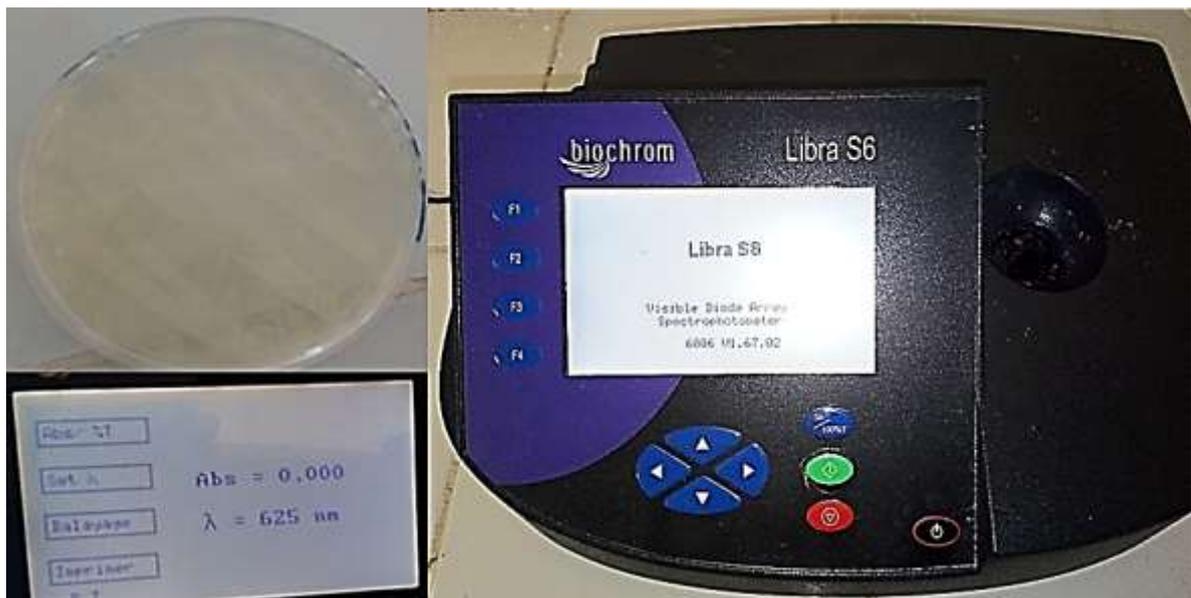


Figure 10 : Préparation de inoculum de Mc Farland (*E. Coli*) .

-Méthode de Nevot pour l'ensemencement du *E. Coli*

- Prélever à l'aide de l'anse de platine une fraction de l'inoculum préalablement préparé d'*E.Coli*
 - Ensemencer par stries fines et très serrées le premier demi- cercle
 - Flamber l'anse de platine, laisser refroidir
 - Ensemencer le deuxième demi- cercle
 - Flamber l'anse de platine
 - Ensemencer le troisième demi-cercle
- Incubation des boîte de Petri du *E.Coli***

La lecture se fait après 18 heures d'incubation dans une étuve à 37°C

-Coloration de Gram

C'est la coloration de base en bactériologie qui permet de distinguer les bactéries en Gram positif et en Gram négatif, cette distinction est fondamentale pour leur identification.

- Réaliser un frottis et le fixer à la flamme
- Verser le Violet de Gentiane sur la lame ; laisser en contact 1 minute
- Jeter le colorant et finir de la chasser par la solution de Lugol ; laisser agir le Lugol environ 1 min
- Jeter le Lugol et faire couler de l'alcool sur la préparation ; rincer immédiatement à l'eau
- Recouvrir la préparation de Safranine, laisser agir environ 1 min. laver abondamment.
- Sécher au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen.



Figure 11 : Coloration de Gram d'E.Coli

3.2. Pain

3.2.1. Préparation de la farine de pain

Pain a été collecté à partir du restaurant de la faculté découpé en petite morceaux, séché à l'air libre. (Figure ci-dessous)



Figure 12 : Pain séché et découpé en petite morceaux .

3.2.2. Choix du milieu de culture : le milieu PDA est choisi à cause de la facilité de sa préparation et la disponibilité de ces ingrédients (pommes de terre)

-Préparation de la gélose PDA à partir des pommes de terre

-Pour préparer une infusion de pommes de terre, faite bouillir 200 g de pommes de terre tranchée non pelées dans 1 litre d'eau distillée pendant 30 min (Figure ci-dessous)

-Filtrer à travers une étamine, économisant l'effluent, qui est une infusion de pommes de terre

-Mélanger les 300 ml d'eau (pomme de terre préalablement cuit) avec du dextrose(20mg), de la gélose(20mg) et de l'eau distillée (200ml) (normes ISO)

-autoclavage 20 min à 121°C

-Repartir des portions de 20 à 25ml dans des boîtes de Petri stériles

-pH final 5,6 +/- 0,2

- Composition

Patate 200mg

Dextrose (dans notre cas saccharose) 20mg

Agar 20mg

Eau distillée 1 L



Figure 13 : Préparation de milieu de culture de PDA à base de pomme de terre.

-La gélose PDA Commercialisé

- Ajouter 39g de poudre PDA commerciale a 1 litre d'eau distillée (Figure ci-dessous)
- Faire bouillir tout en mélangeant pour dissoudre
- Autoclave 15 min a 121°C

- Composition

- Dextrose20mg
- Potato starch.....4mg
- Agar.....15mg



Figure 14 : Mesure de PH après préparation de milieu PDA commercialisé.

-Conservation

Les milieux de culture obtenus ont été conservé dans un réfrigérateur a des températures basses dans des flacons de 250ml.



Figure 15 : Poudre de milieu de culture PDA commercialisé.

- Préparation de la gélose PDA a base de déchets de pain

La farine de déchet de pain était introduite à la place du dextrose dans le milieu PDA ordinaire sans changement du reste de la composition ensuite testé avec des souches de *Fusarium* Wy18 et Wy2. (Tableau ci-dessous)

Partie Méthodologie

Milieu de culture	Composition	Date de fabrication
PDA a 0% (sans farine de pain)	-Eau distillée 500ml -Dextrose 10g -Agar 10g	20-04-2021 
PDA a 75%	-Eau distillée 500ml -Dextrose 2g -Farine 8g -Agar 10g	20-04-2021 
PDA a 50%	-Eau distillée 500ml -Dextrose 5g - Farine de pain 5g -Agar 10g	20-04-2021 
PDA (témoin ; sans dextrose farine seul)	-Eau distillée 500ml -Farine 10g -Agar 10g	20-04-2021 
PDA (commercialisé)	-Eau distillée 250ml -Poudre 5,75g	20-04-2021 
PDA 25%	-Eau distillée 500ml -Farine 2,5g -Dextrose 7,5g -Agar 10g	20-04-2021 

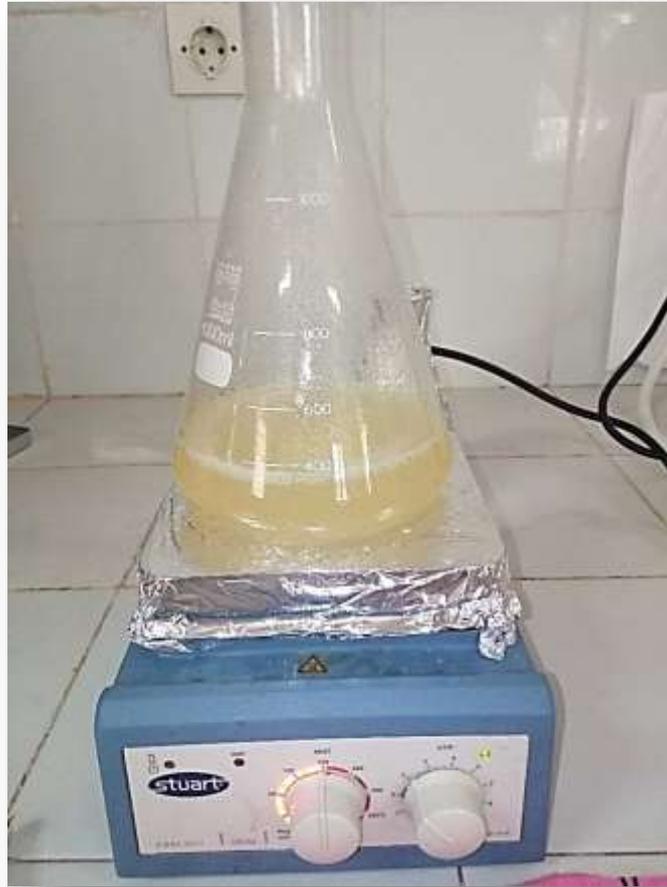


Figure 16 : Préparation de milieu de culture PDA à base de déchets de pain à des différentes pourcentages .

3.2.3. Choix du micro-organisme utilisé :La disponibilité des souches de *Fusarium* est la principale cause de ce choix.

-Repiquage des souches *Fusarium* wy2 et w18

Après un bon développement des souches de *Fusarium* sur un milieu PDA, on effectue des repiquages de chaque colonie (Guiraud,1998) sur les milieux de cultures préalablement préparés PDA a 0%, PDA a 25% , PDA a 50% , PDA a 100% et enfin un PDA commercialisé.(Figure ci-dessous)

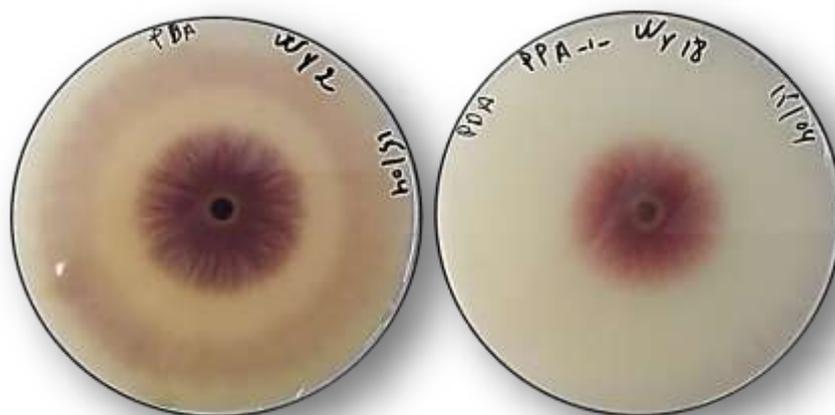


Figure 17 : Des souches référentielles de *Fusarium* (Wy18, Wy2).

- Fonder le milieu dans un bain marin a une température de 120°C
- Allumer le bec et travailler proche de la zone d'aseptique
- Marquer les boites de Petri avec la date, le nom des micro-organismes utilisé, le milieu de culture
- Ecouler le milieu l'orsque la température de ce dernier attient 30°C afin d'éviter tout type de contamination
- La répartition des portions de 20 à 25ml des milieux de culture dans des boites de Petri stériles
- Laissez le milieu se gélifier proche du bec bunsen
- Le repiquage se fait par prélèvement d'un fragment de colonie des souches pure de *Fusarium* wy2 et w18 à l'aide d'une anse stérilisée tout en assurant qu'anse ne sort pas de la zone aseptique
- Incubation se fait a une température de 25°C pendant des périodes variable (5 jours, 10 jours)

3.3. Coquille d'œufs

3.3.1. La farine de coquille d'œufs(Figure ci-dessous)



Figure 18 : préparation de la farine d'œufs.

3.3.1.1.Séparation de la coquille d'œuf et de la membrane

Une méthode modifiée par rapport à un travail précédent de Maojie Zhang a été utilisée pour séparer la coquille d'œuf de la membrane et augmenté absorption par *E. Coli* au cours du processus. Brièvement, les coquilles d'œufs fraîches ont été rincées à l'eau courante du robinet pour éliminer la saleté et le blanc d'œuf résiduel à la surface.

Séchage au four à 25 °C ensuite, les coquilles d'œufs séchées ont été brisées rapidement (10 s), suivi d'un passage à travers un tamis (200 um).

Les membranes de coquille d'œuf étaient dans la couche supérieure tandis que les poudres de coquille d'œuf étaient dans la couche inférieure, qui ont été filtrées et séchées pour obtenir des membranes et des poudres de coquille d'œuf, respectivement. Aucun traitement chimique na était appliqué.



Figure 19 : Tamisage de la farine de coquille d'œufs.

3.3.2. Choix de milieu de culture

Le milieu GN commercialisé

3.3.3. Choix de micro-organisme utilisé

E. Coli était choisi comme référence pour étudier le cas d'une bactérie a Gram (-)

3.3.4. Choix d'antibiotique utilisé

L'amoxicilline est un antibiotique qui appartient à un groupe de médicaments appelés pénicilline. Il traite de nombreuses infections bactériennes en arrêtant la croissance des bactéries pathogènes en inhibant la biosynthèse de la paroi cellulaire, qui entraîne la mort des bactéries.

Classification du médicament : antibactérien

Catégorie : maladies infectieuses



Figure 20 : Antibiotique utilisé comme référence (Céfazoline).

Après la préparation du milieu GN commercialisé, on ajoute les éléments selon le tableau ci-dessous

-Ensemencement sur un milieu solide de GN avec des compositions différentes

-Milieu en boîte de pétri

Il existe plusieurs techniques d'ensemencement sur boîtes la méthode utilisée est celle du Isolement ou épuisement ; La méthode de Nevot a été appliquée pour l'ensemencement du *E. Coli* (Hansal,2020)

Milieu de culture	GN Commercialisée	GN Commercialisée	GN Commercialisée	GN	GN
Antibiotique référencé (Biopamox)	0 capsule 	1 capsule (0,5g) 	2 capsules (1g) 		
Farine de coquille d'œuf	0,5g 	1g 	1,5g 	2g 	2,5g 



Figure 21 : L'inoculation de milieux de cultures à base de coquille d'œufs dans des boîtes de Pétri.

3.3.5.2. Incubation des boîtes de Petri du *E. Coli*

La lecture se fait après 18 heures d'incubation dans une étuve à 37°C

3.1 Résultats de la comparaison visuel entre milieu GN préparé à base de déchets de volaille et le milieu GN commercialisé

Après une constatation visuelle, nous avons remarqué que le milieu GN dans les flacons préparés à base de déchet de volaille a un aspect jaune clair que le milieu commercialisé et avec une turbidité qui ne permet pas une bonne visualisation du milieu par rapport au milieu GN commercialisé.

Nous avons constaté aussi que la turbidité est proportionnelle avec le pourcentage des déchets (plus le pourcentage de déchets de volaille augmente dans la composition du milieu plus la turbidité augmente)

Après la conservation du milieu, une couche blanche résiduelle apparaît au-dessus du flacon. (Figure ci-dessous).

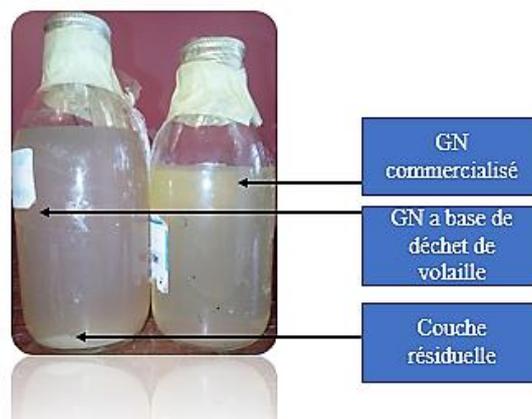
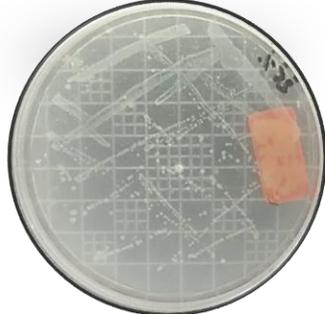
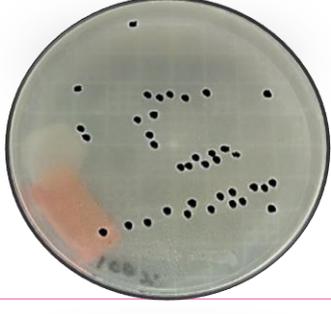


Figure25 : Flacons des milieux GN (déchet de volaille) et GN commercialisé

3.2 Résultats de la croissance d'E. coli dans chaque milieu de culture

Le Milieu utilisé	La lecture	Aspect macroscopique et nombre de colonie	Aspect réelle
Gélose nutritive à 0%	Après 18heures	Nombre de colonie 56 Sur milieux solides les colonies sont arrondies, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre et avec une couleur blanche	
Gélose nutritive à 25%	Après 18heures	Nombre de colonie 250 colonie Sur milieux solides les colonies sont arrondies, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre et avec une couleur blanche	

Résultat et discussion

Gélose nutritive à 50%	Après 18heures	Nombre de colonie 151 colonie Sur milieux solides les colonies sont arrondies, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre et avec une couleur blanche	
Gélose nutritive a 100%	Après 18-24heures	Nombre de colonie 37 colonie Sur milieux solides les colonies sont arrondies, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre et avec une couleur blanche	
Gélose nutritive R	Après 18-24heures	Aucune croissance	
Gélose commercialisé	Après 18 heures	Incomptable Sur milieux solides les colonies apparaissent comme un tapis qui remplit la boîte de Petri	

Les micro-organismes dépendent d'un certain nombre de facteurs tels que les nutriments, l'oxygène, l'humidité et température pour croître et se diviser

Les protéines sont l'une des sources d'azote organique les plus importantes ajoutées au milieu de culture pour la culture de micro-organismes. (Dufosse *et al.* 1997 ; Poernomo et Buckle 2002 ; Vasileva-Tonkova *et al.* 2007)

Nous avons remarqué que l'extrait de viande à base de déchets de volaille a une dose de 25% atteint presque le même résultats que le milieu commercialisé, nous avons constaté aussi que plus le pourcentage de déchet de volaille augmente (50%, 100%) dans le milieu de culture plus nombre de colonies d'*E.Coli* régresse. (Xiang, 2019).

On peut aussi représenter les résultats de croissance d'*E. Coli* dans des milieux différents par le graphe ci-dessous

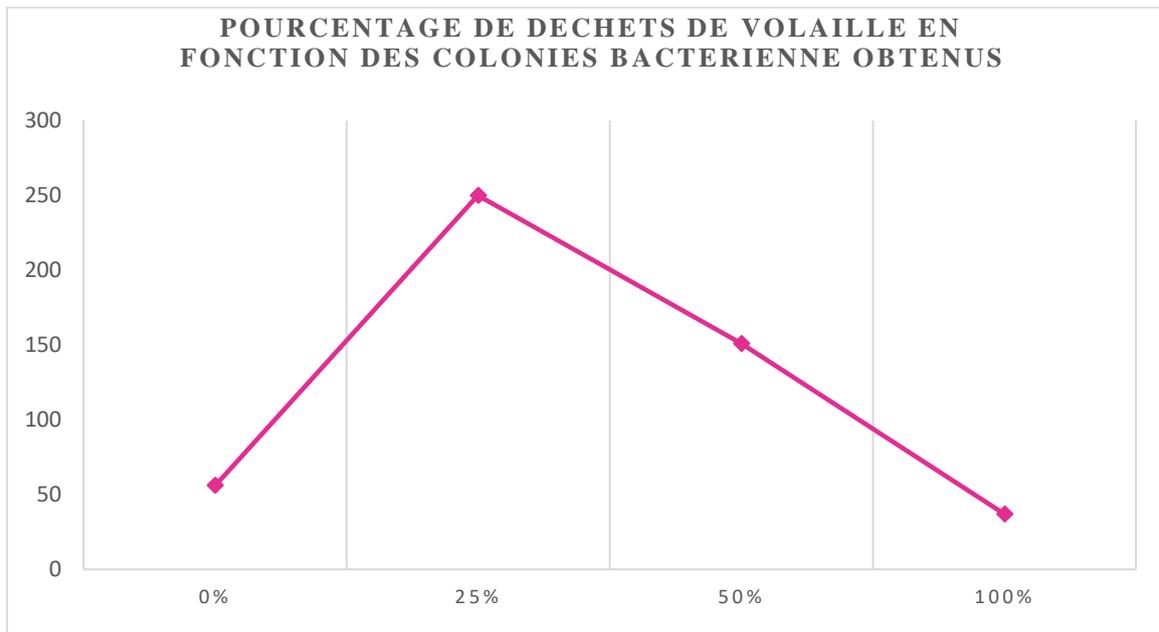


Figure26 : Déchet de volaille en fonction des colonies d'*E. coli*

Basant sur ces résultats on peut dire que *E.coli* tolèrent tous les milieux de culture GN avec des pourcentages de déchets de viande de volaille mais atteint un maximum de croissance à 25% (extrait de volaille avec un nombre de colonie 250).

Le milieu GN commercialisé reste le plus favorable à *E.coli* avec une croissance. La valeur μ est maximale et constante. (Cas incomptable). (Figure ci-dessous)



Figure 27: *E. coli* dans un milieu GN commercialisé (cas incomptable)

Sauf le milieu R apparaît avec aucune colonie ceci est justifié par l'absence de source de peptone nécessaire pour sa croissance. (Figure ci-dessous)



Figure 28: *E. coli* dans un milieu R (aucune croissance)

La présence des concentrations supérieures (50% et 100%) de déchet de volaille dans le milieu a considérablement réduit le nombre de colonies de la bactérie testée (*E.Coli*). La raison de cet effet inhibiteur peut s'expliquer de deux manières. La première peut être la présence d'une concentration élevée de sel (Figure ci dessous) et de certaines matières toxiques dans le déchet de volaille(Figure ci-dessous)

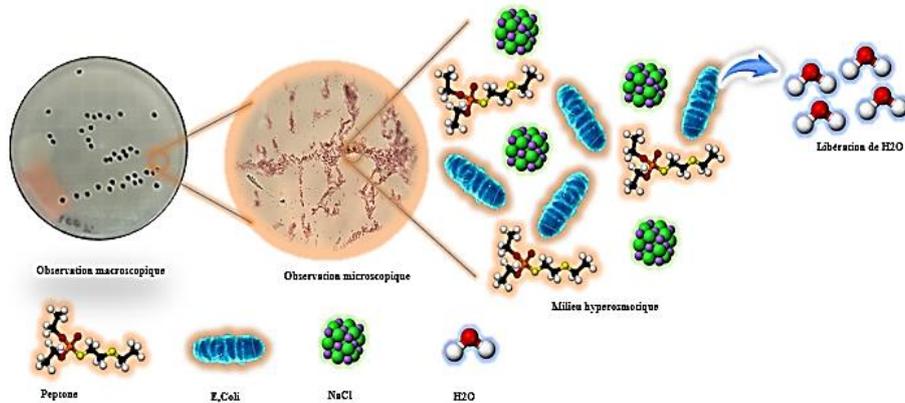


Figure 29: Phénomène d'osmose chez *E.Coli*

La seconde peut être le taux C/N du milieu de culture. Parce qu'il est bien connu que le taux de C/N du milieu de culture peut affecter non seulement les performances de croissance des micro-organismes mais aussi les rendements des substances produites par les micro-organismes.

3.3 Aspect microscopique des colonies sur les boîtes de Petri

Les boîtes de Petri avec les différentes compositions de milieu de culture ont subi une coloration de gram et on a obtenu le résultat suivant (Figure ci-dessous)

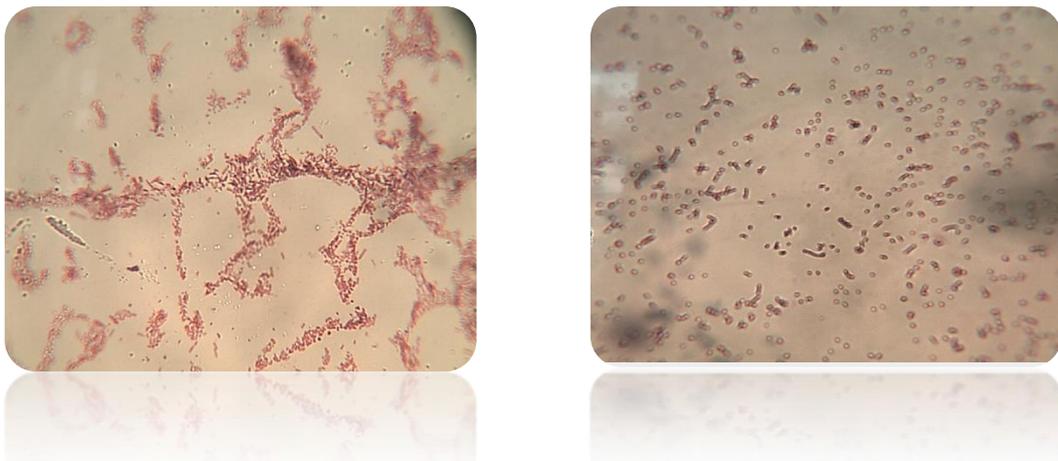


Figure30 : Observations microscopiques d'*E.coli* (grossissement x1000)

Après la coloration de Gram, on a observé une coloration rose pour la souche d'*E.coli*, ce qui montre qu'elle est Gram – (gram négatif) avec une forme colibacilles, fine et allongée à extrémité arrondie (Diassana,.2018)

Les bactéries sont généralement classées en deux groupes, selon la morphologie de leur enveloppe, qui est étroitement associée à la réponse à la coloration de Gram.

Les bactéries Gram + sont caractérisées par la présence d'un peptidoglycane épais (20 à 80 nm), séparé de la membrane plasmique par un espace périplasmique ; tandis que les bactéries dites Gram– possèdent au-dessus du périplasm un peptidoglycane fin (1 à 8 nm) sur lequel repose une deuxième bicouche lipidique dans laquelle s'insèrent des porines permettant le passage de composés hydrophiles nécessaire à la survie de la bactérie.

Au terme du processus de coloration les bactéries dites Gram négatif apparaissent roses tandis que les bactéries dites gram positif en bleu foncé / violet (Baldent,1997)

L'observation des frottis colorés d'*E. coli* sous microscope optique nous permet de s'assurer que la bactérie n'a rien subit pendant l'incubation et que le milieu préparé à base de déchets de volaille n'affecte pas la forme de cette dernière. (Figure ci-dessous)

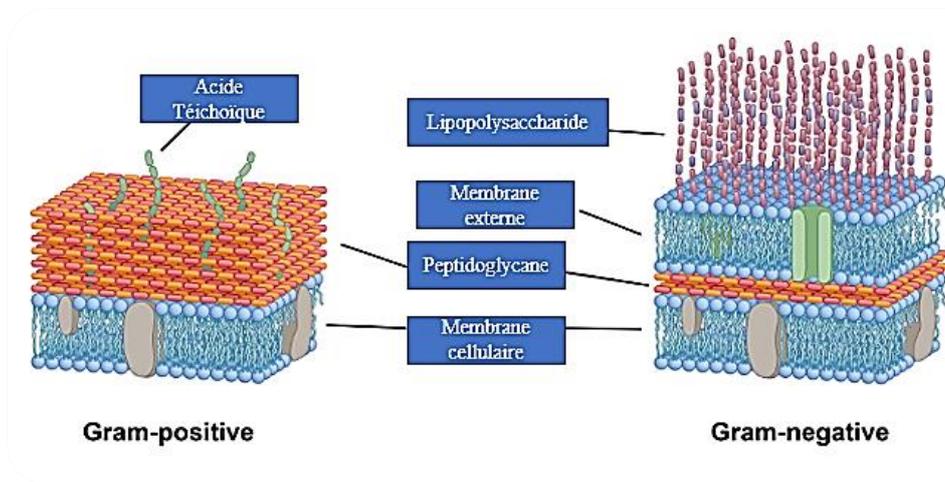


Figure 31: Différence entre les parois des Grams positifs et des Grams négatifs

3.4 Résultats de la comparaison visuel entre milieu PDA préparé à base de déchets de pain et le milieu PDA commercialisé

Après une constatation visuelle, nous avons remarqué que le milieu PDA dans les flacons préparés à base de déchet de pain a une couleur blanchâtre et avec une turbidité qui malgré sa présence permet une bonne visualisation.

Après la conservation du milieu, une couche blanche résiduelle apparaît à la base du flacon. (Figure ci-dessous)

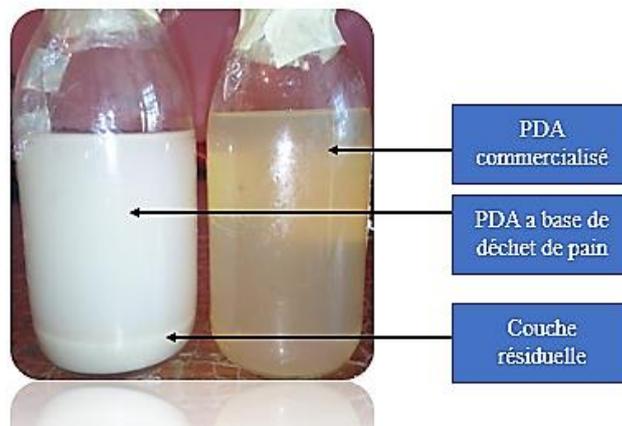


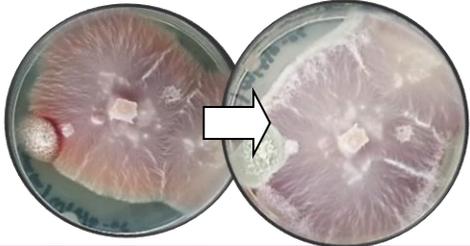
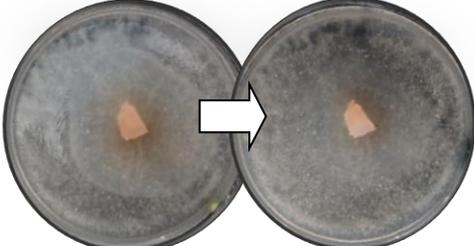
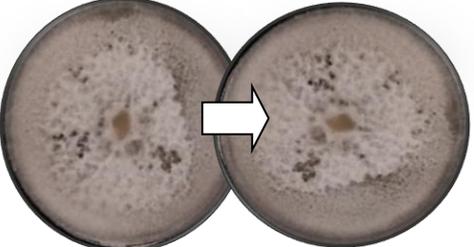
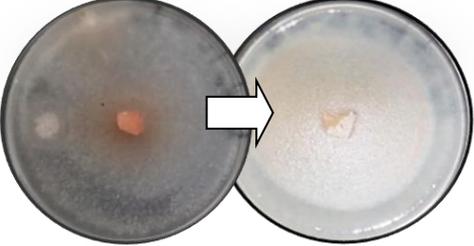
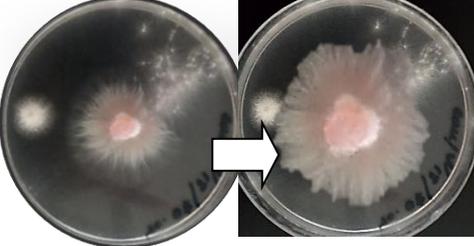
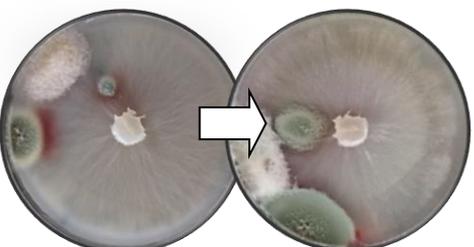
Figure32 : Flacons des milieux PDA (déchet de pain) et PDA commercialise

3.5 La mesure de croissance des souches de fusarium sur boîte de Pétri

A partir des souches mères en conservation, un repiquage a été réaliser sur milieu PDA dans boîtes des Pétri de 9 cm de diamètre.

Deux diamètres ont été mesurés après 5 jours et 10 jours d'incubation. Ces mesures ont permis de déterminer la vitesse de croissance de chaque souche de *Fusarium* en cm par jour (Wy2= *Fusarium solani* et Wy18 = *Fusarium Oxysporum*)(Tableau ci-dessous)

Résultat et discussion

Le milieu utilisé	La souche de <i>Fusarium</i> utilisé	Diamètre	Aspect réelle
PDA commercialisé	Wy18	-5jours avec 8cm -10jours avec 9cm	
PDA a 50%	Wy18	-5jours avec 5cm -10jours avec 8cm	
PDA a 100%	Wy2	-5jours avec un diamètre de 9cm	
PDA a 25%	Wy18	5jours avec 4cm 10 jours avec 7cm	
PDA eau de patate	Wy18	5jours avec 3cm 10jours 5cm	
PDA a 75%	Wy2	5jours avec 9cm 10jours avec 9cm (contamination)	

Les *Fusarium* poussent sur milieu Sabouraud, mais se développent mieux sur gélose au malt ou sur milieu PDA. Leur température optimale de croissance est comprise entre 22 et 37°C.

Sur les milieux de culture, les *Fusarium* forment des colonies duveteuses ou cotonneuses de couleur variable (blanche, crème, jaune, rose, rouge, violette ou lilas) selon les espèces. Le revers peut être crème, rouge à pourpre, lilas ou violet. Les pigments diffusent souvent dans la gélose (Chermette,1993). (Figure ci-dessous)

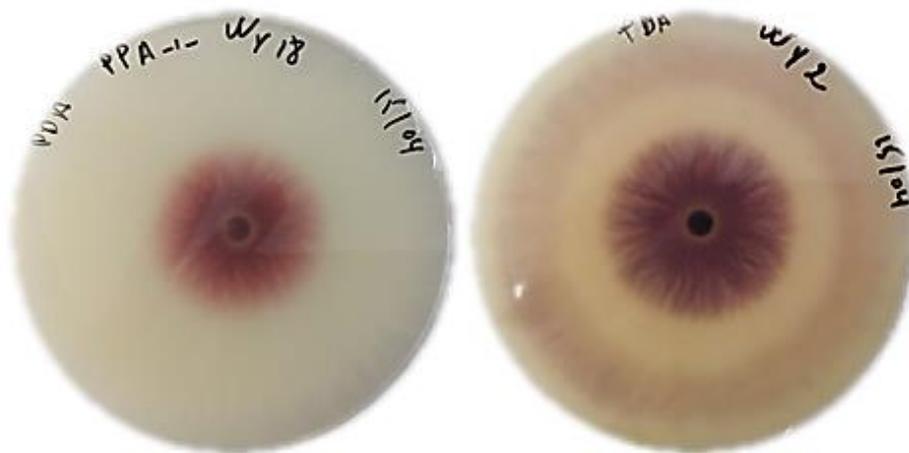


Figure 33: Aspect macroscopique de différents souche de *Fusarium* (Wy18,Wy2)

La moisissure *Fusarium* utilise l'amidon présent dans le milieu de culture, le dégrade en glucose puis utilise le glucose en énergie pour se reproduire et donc se multiplier.

Ce qui nous donne que le diamètre de la moisissure grandis au fur et à mesure de la présence de l'amidon dans le milieu de culture utilisé pour cultiver cette dernière

L'utilisation de différentes espèces de *Fusarium* indique que le milieu synthétique à base de déchet de pain est compatible avec la croissance des moisissures.

Chaque souche de *Fusarium* (Wy2, Wy18) se caractérise par une variation de vitesse de croissance qui se traduit par un diamètre mesuré par une règle de 20cm

Le milieu PDA a 100% (contient seulement déchets de pain) et le milieu PDA a 75% (mélange entre dextrose et déchet pain) pour l'espèce Wy2 (de ces deux milieux) atteint un diamètre de 9cm dans 5jours, qui se justifie par la disponibilité du substrats (amidon) et sa teneur élevée dans le déchet de pain .



Figure34: Souche de *Fusarium* (Wy2) dans un milieu a 100% et 75% respectivement après 5jours

On peut traduire ces résultats par histogramme comparatif ci-dessous

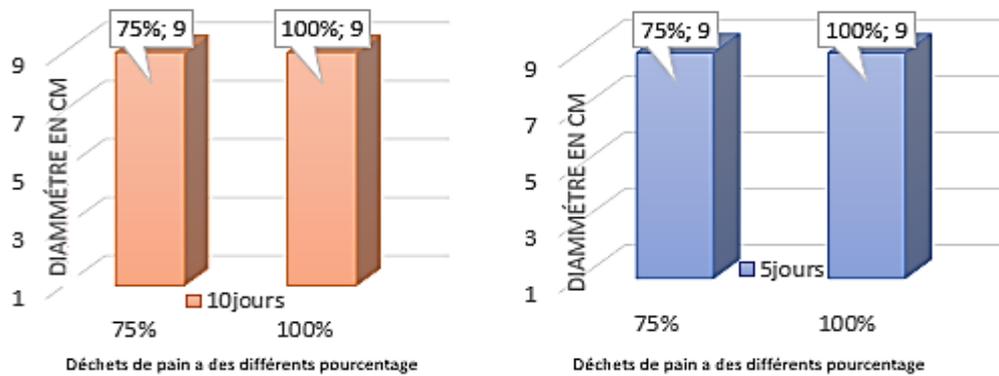


Figure 35: Croissance de *Fusarium* Wy2 après une observation de 5 et 10jours.

En se basant sur les recherches précédentes qui indique que le pain a une teneur en amidon plus élevée (72%) que les pommes de terre (60%), teneur élevée en sucre contribuant à réduire davantage les possibilités de croissance bactérienne et donc par la suite favorise la croissance des moisissures.

Le milieu PDA commercialisé reste favorable pour la souche Wy18 avec une croissance qui atteint les 8cm dans 5 jours. (Figure ci-dessous)



Figure 36: Espèce de *Fusarium* (Wy18) dans un milieu PDA commercialisé après 5jours

Le milieu PDA a 25% ,50% (mélange entre dextrose et déchets de pain) ont presque le même résultat de croissance de la souche Wy18 avec un diamètre de (4-5cm respectivement)



Figure 37: Espèce de *Fusarium* (Wy18) dans un milieu PDA (25et 50%) après 5jours

Les résultats obtenus peuvent se traduire par un histogramme ci-dessous

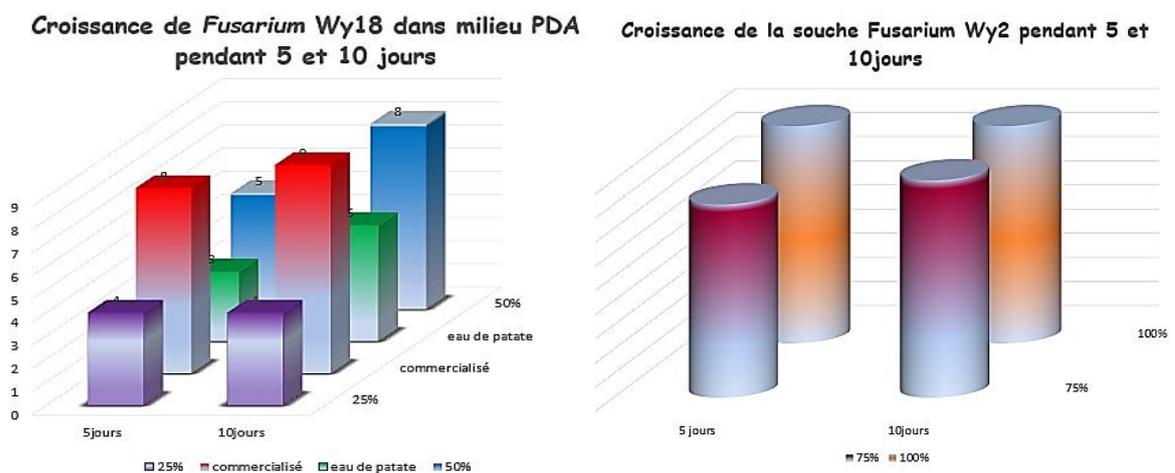


Figure 38: Croissance de *Fusarium* Wy18 et Wy2 après une observation de 5 et 10jours.

Ces observations prouvent que le phénomène qui empêche la croissance de la moisissure *Fusarium Wy18* s'agit de la disponibilité d'eau dans le milieu.

Les moisissures ont besoin a_w très élevée, pour se développer, mais certains genres comprennent des espèces capables de croître à des niveaux d' a_w beaucoup plus faibles. L'activité de l'eau (A_w) est inversement proportionnelle à la pression osmotique d'un composé

Ce phénomène se produit lorsqu'une substance est présente à des concentrations différentes de part et d'autre de la membrane, la présence d'amidon dans l'eau de patate, farine de pain et dextrose ajoutés. Au lieu qu'ils favorisent la croissance de *Fusarium Wy18* on remarque une répression de diamètre de croissance jusqu'à un arrêt total de croissance.

Cette différence engendre un excès de pression appelé pression osmotique. Le corps dissous dans l'eau franchit la membrane vers la solution la moins concentrée sous l'effet de la pression osmotique. Ce transfert spontané ne nécessite aucune dépense d'énergie.

Lorsque l'environnement est hyper-osmotique ; une augmentation brusque de l'osmolarité du milieu extérieur (choc hyper-osmotique) entraîne un rapide flux d'eau vers l'extérieur de la cellule, le volume du cytoplasme diminue (Koch,1984)

Par conséquent inhibe certaines fonctions comme l'absorption de nutriments, la réplication de l'ADN ou la biosynthèse des macromolécules. (Csonka,1989)

Cependant un stress osmotique entrainera quand même un arrêt de la croissance ainsi que l'inhibition des fonctions biologique. (Glaasker,1998)

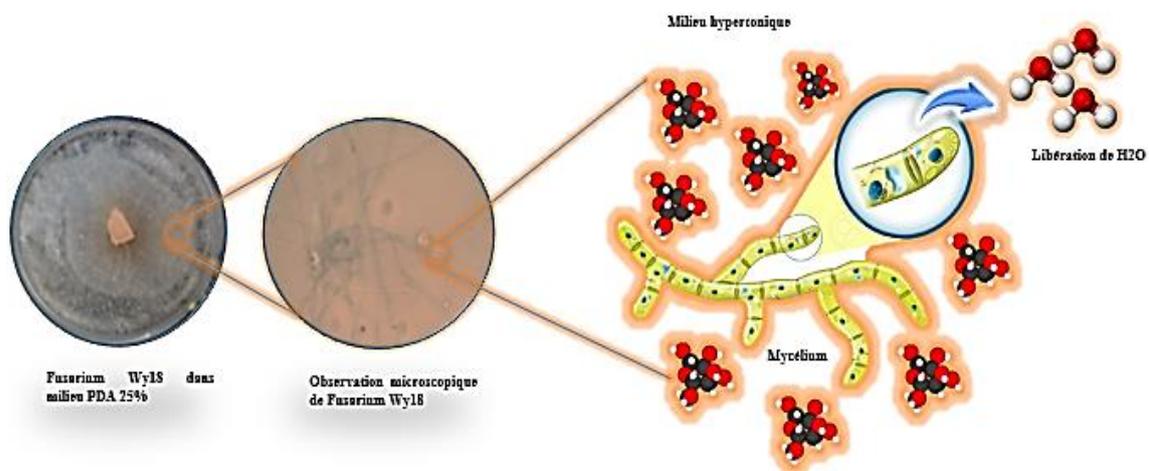


Figure39 : Phénomène d'osmose chez *Fusarium Wy18*

3.6 Résultat de l'observation microscopique de la souche Wy2 et Wy18 de *Fusarium*

La détermination des moisissures fait appel aux caractères morphologiques des hyphes et des structures de reproduction.

Les hyphes : couleur, présence ou non de cloisons, diamètre approximatif, structures particulières.

Organes de reproduction (1 ou plusieurs types) : localisation (partie aérienne, ...), couleur, taille et forme des organes de reproduction.

Structure et disposition des spores : couleur, forme, cloisons, ornementation, taille ...

Les études microscopiques sont faites à partir d'un échantillon monté entre lame et lamelle dans une goutte d'eau ou de colorant

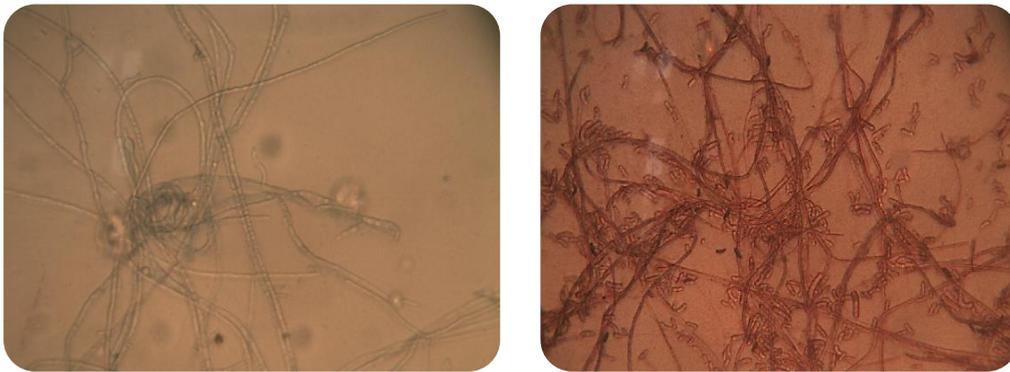


Figure40 : Observation microscopique de *Fusarium* (Wy18 et Wy2) grossissement x1000

3.7 Résultats de la comparaison visuel entre milieu GN préparé à base de déchets de coquille d'œufs, à base d'antibiotique et le milieu GN commercialisé

Après une constatation visuelle, nous avons remarqué que le milieu GN dans les flacons préparés à base de déchet de coquille d'œufs a un aspect marron et avec une turbidité qui ne permet pas du tout une bonne visualisation du milieu par rapport au milieu GN commercialisé, le milieu a base d'antibiotique a un aspect jaune foncé que le milieu commercialisé avec une odeur agréable et qui est absente chez le milieu commercialisé

Nous avons constaté aussi que la turbidité est proportionnelle avec le pourcentage des déchets (plus le pourcentage de déchets de coquille d'œufs augmente dans la composition du milieu plus la turbidité augmente)

Après la conservation du milieu, une couche marron résiduelle apparaît au-dessus du flacon.

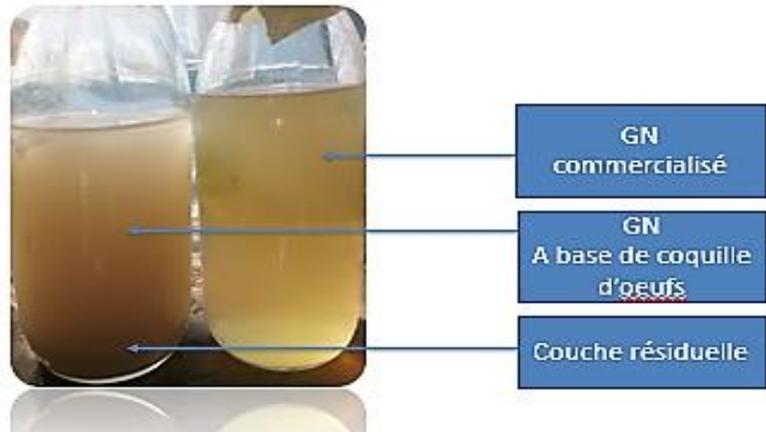


Figure41 : Flacons des milieux GN (coquille d'œufs) et GN commercialise

3.8 Résultat de l'effet de la coquille d'œufs sur la croissance d'*E. coli*

A partir de la souche *E. Coli* préalablement développé, un repiquage a été réalisé sur milieu GN, ce dernier contient soit antibiotique ou bien la farine de coquille d'œufs a des pourcentages différents

Substance utilisé	La dose utilisé	Aspect réelle (milieu GN)
Sans aucun antibiotique	0g	
Antibiotique (Biopamox)	0,5g (1capsule)	
Antibiotique (Biopamox)	1g (2 capsules)	
Farine d'œuf	0,5g	

Résultat et discussion

Farine d'œuf	1g	
Farine d'œuf	1,5g	
Farine d'œuf	2g	
Farine d'œuf	2,5g	

La bio-informatique indique que les protéines matricielles spécifiques à la coquille d'œuf peuvent avoir de nombreuses fonctions biologiques telles que la combinaison biologique, la catalyse, la modulation enzymatique, la bio minéralisation, antibactérien. (Brionne *et al.*, 2014 ; Sun *et al.*, 2013)

Les résultats observés montrent que les milieux à base de farine d'œufs n'ont aucune activité inhibitrice contre la bactérie testée (*E. Coli*).

Au lieu que la concentration élevée des minéraux présents dans la coquille d'œufs inhibe la croissance *E. Coli*, on observe une croissance parallèle de celle du milieu commercialisé ces résultats sont dus à l'absence de la séparation de la membrane de la coquille d'œufs

Les coquilles d'œufs doivent être traitées avec de l'EDTA et SDS pour éliminer les membranes de coquille associées.

En basant sur les recherches précédentes, la coquille d'œufs semble avoir une composition bénéfique avec environ 39 % de **Ca** élémentaire, des quantités pertinentes de **Sr** et de faibles niveaux d'**Al**, **Pb**, **Cd** et **Hg**. Il peut être utilisé comme source de **Ca** en nutrition humaine. (Schaafsma, 2000)

Conclusion



Les différents travaux réalisés dans ce mémoire ont permis d'atteindre les objectifs fixés. Ils ont permis de valoriser les déchets alimentaires du restaurant universitaire et de reformuler un milieu de culture qui est compétant avec les milieux commercialisés.

Le premier échantillon (déchets de volaille) son taux élevé en matière grasse a empêché son broyage, un traitement d'extraction de la matière grasse a été appliqué. Après la préparation des milieux de culture d'*E. Coli*, on a obtenus un résultat proche de celui du milieu commercialisé (à un pourcentage précis 25%)

Le deuxième échantillon (déchets de pain) a été facilement préparer avec aucune nécessité de traitement chimique préalable. Après la préparation du milieu de culture et la cultivation de différentes espèces de *Fusarium*, les résultats ont montré la croissance rapide d'une espèce (Wy2) dans milieu reformuler tandis que l'autre (Wy18) arrêt totale de croissance, cela est justifier par des phénomènes d'osmose qui revient à la composition chargée en dextrose et en amidon.

Le troisième échantillon (déchet de coquille d'œufs) a été ajouté au milieu de culture a fin de jouer un rôle d'inhibiteur contre *E. Coli* mais malheureusement la croissance de ce dernier a atteint son maximale qui est due à l'absence du traitement chimique qui élimine la membrane de coquille et permet une meilleure absorption.

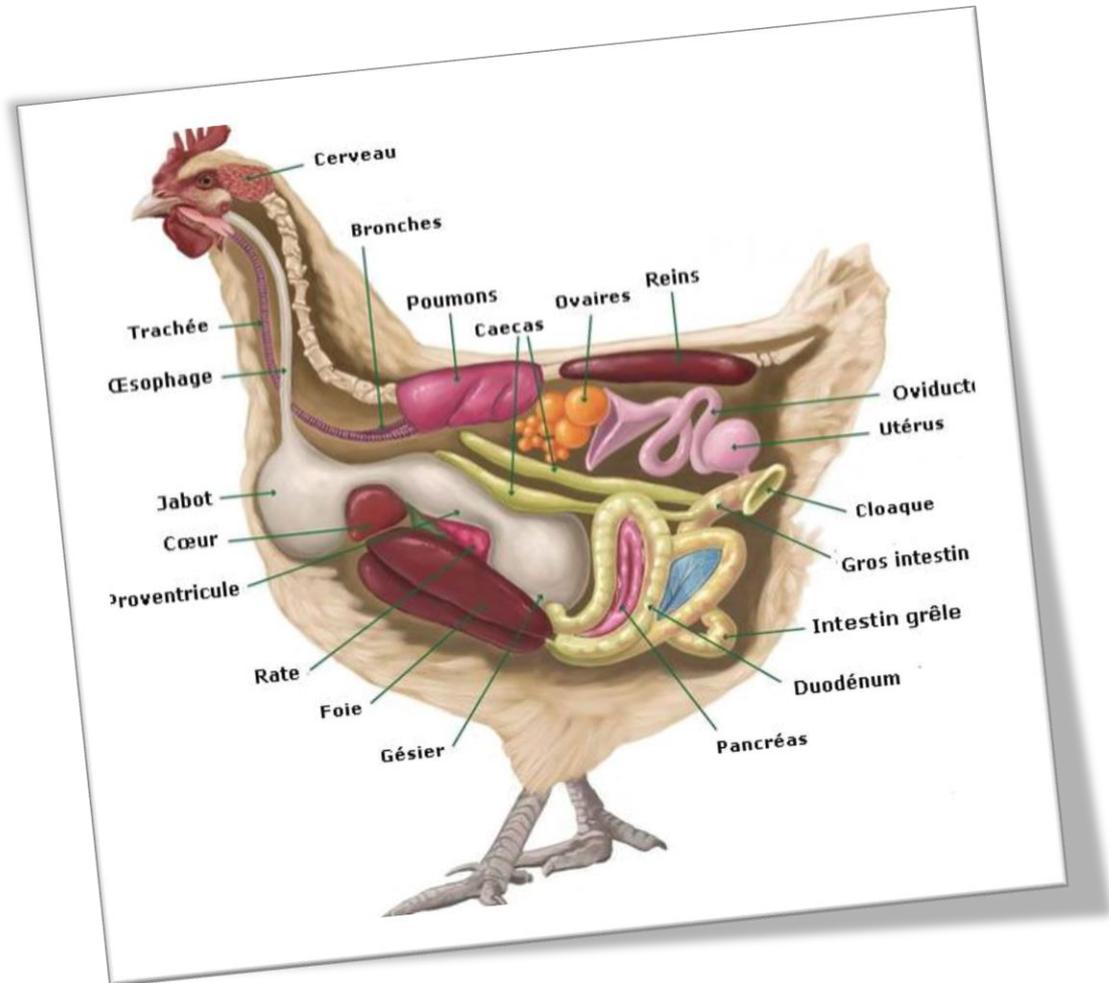
Les résultats obtenus sont dans l'ensemble encourageants. Néanmoins d'autres expérimentations et essais doivent être menés en multipliant le type de déchets alimentaire utilisé afin de couvrir les besoins et l'exigence a certain des micro-organismes, des répétitions aussi sont appliqués pour confirmer la croissance ou inhibitions des micro-organismes sélectionné, encourager la valorisation microbiologique des déchets alimentaire et réduire ces effets écologiques pour une meilleure protection de l'environnement.

Références bibliographiques

- ✓ Alpha Amadou Diallo. Escherichia coli pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Pages (90-94).2013
- ✓ Aminetou Bent Mohamed ,Aicha mint Sidi Baba. Manuel des travaux pratique microbiologique. Pages(5-9).2008
- ✓ Benbougeurra Nawel. Traitement et valorisation des déchets d'origine animale « extraction de la gélatine à partir de l'os bovin ».Pages(3-5).2016
- ✓ Bouhafis Belkis. Evaluation de la qualité microbiologique de la viande de volailles (cas de poule de dinde) commercialisé au niveau de différentes boucherie de wilaya de Blida.Pages (3-7).2017
- ✓ Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique Association déclarée à la Préfecture de la Haute-Garonne .FICHE TECHNIQUE : Escherichia coli.1973
- ✓ Christelle Hatik. Proposition de scénarios de gestion raisonnée des déchets en vue de leur valorisation énergétique. Pages (25-55).2015
- ✓ Commissions canadiennes des grains. Méthodes et analyses utilisées par la Commission canadiennes des grains pour mesurer la qualité du blé.
<https://www.grainscanada.gc.ca/fr/recherche-donnees/qualiteexportations/cereales/ble/methodes-et-analyses.html>
- ✓ Djamer Sofiane. Contribution à la connaissance et à la gestion des déchets d'abattoir- Cas de l'abattoir de l'Office Régionale Avicole du Centre (ORAC) de TABoukirt, Wilaya de Tizi- Wilaya de Tizi-Ouzou.Pages(3-9).2013
- ✓ Diassana Abraham. IDENTIFICATION DES SOUCHES D'Escherichia coli DANS LES SELLES EN RAPPORT AVEC LA MALNUTRITION A DIORO. Pages(5-10).2018
- ✓ Europe1. Gaspillage alimentaire : quelles conséquences pour la planète ?
[https://www.europe1.fr/societe/gaspillage-alimentaire-queelles-consequences-pour-la-planete-3912664#:~:text=Des%20cons%C3%A9quences%20%C3%A9conomiques&text=Selon%20la%20FAO%2C%20cette%20perte,l'%C3%89nergie%20\(ADEME\).](https://www.europe1.fr/societe/gaspillage-alimentaire-queelles-consequences-pour-la-planete-3912664#:~:text=Des%20cons%C3%A9quences%20%C3%A9conomiques&text=Selon%20la%20FAO%2C%20cette%20perte,l'%C3%89nergie%20(ADEME).)
- ✓ Fetouhi Aouatef. Panification à base de blé tendre ou de rizfèverole (sans gluten) : essai de prédiction de la qualité technologique par dissociation chimique des interactions impliquées. Pages (22-23).2014
- ✓ Fiche Contenu 8-1 : Vue d'ensemble du Contrôle Qualité pour les procédures qualitatives et semi quantitatives. https://www.who.int/ihr/training/laboratory_quality/8_b_content_qualqc_fr.pdf?ua
- ✓ Foughali Ouissem. CHIAL Hanane. Isolement et caractérisation de microorganismes capables de dégrader l'herbicide Apyros (sulfosulfuron) à partir d'un sol agricole contaminé par le même herbicide.Pages(35-38).2016

- ✓ Société Marocaine d'infectiologie pédiatrique et de vaccinologie. Guide pratique des bacteries pathogene. <https://pharmacie.ma/uploads/pdfs/Le-guide-pratique-des-bacteries-pathogenes.pdf>.2017
- ✓ Solidarité Laïque avec le soutien du Fonds MAIF pour l'aducation . <https://www.solidarite-laique.org/app/uploads/2017/04/Lhistoire-des-d%C3%A9chets-et-de-leur-gestion.pdf>.2013
- ✓ Stéphanie Suarez. Microbiologie clinique et spectrométrie de masse.2013.
- ✓ QisenXiang, ChaodiKang, DianboZhao,LiyuanNiu,XiaoLiu,YanhongBai. Volume 99, Pages (28-33). Influence of organic matters on the inactivation efficacy of plasma-activated water against E. coli O157:H7 and S. aureus.2019
- ✓ Yanne Goossens. Sustainability Assessment of Food Waste Prevention Measures: Review of Existing Evaluation Practices. 10 October 2019.

✓ Anatomie de la volaille



✓ Hexane



✓ Broyeur



✓ Compteur de colonies



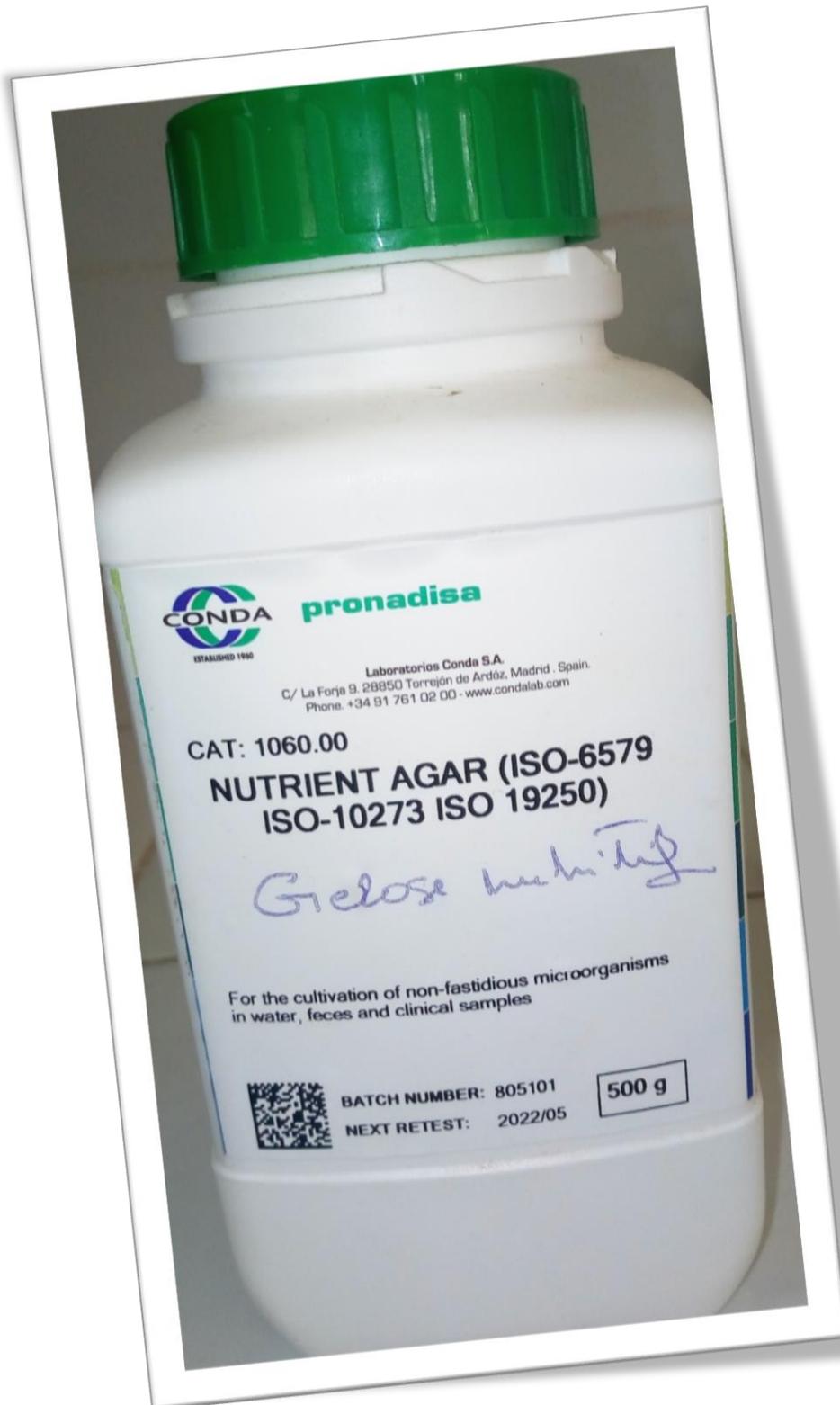
✓ Extraction par soxhlet



✓ Peptone bactériologique et Agar-Agar



✓ Gélose GN



✓ NaCl et extrait de viande

