



UNIVERSITE
JEAN LOROUGNON GUEDE
UFR AGROFORESTERIE

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Union-Discipline-Travail

Ministère de l'Enseignement Supérieur et
de la Recherche Scientifique

ANNEE : 2024-2025

N° D'ORDRE : 155

THESE DE DOCTORAT

Mention : Agriculture et Foresterie Tropicale

**Spécialité : Biochimie et Technologie
Alimentaire**

CANDIDAT

Nom : KOUMAN

Prénoms : Wimbélé
Epiphanie Marie Leslie
Maureen

**Valorisation des sous-produits et déchets industriels
agricoles par des souches locales de *Aspergillus niger*
pour la production d'acide citrique en Côte d'Ivoire**

JURY

Président : M. BAKAYOKO Sidiky, Professeur Titulaire, Université Jean
LOROUGNON GUÉDÉ

Co-Directeur : M. BEUGRÉ Grah Avit Maxwell, Professeur Titulaire, Université
Jean LOROUGNON GUÉDÉ

Co-Directeur : M. GBASSI Komenan Gildas, Professeur Titulaire, Université
Félix HOUPHOUËT-BOIGNY

Rapporteur : M. YAO Konan Mathurin, Maître de Conférences, Université
Peleforo GON COULIBALY

Examineur 1: M. KOUASSI Kra Athanase, Maître de Conférences, Université
Jean LOROUGNON GUÉDÉ

Examineur 2: M. KOUASSI Kouakou Nestor, Maître de Conférences, Université
NANGUI ABROGOUA

Soutenue publiquement
le :13/09/2025

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	I
DÉDICACE.....	VII
REMERCIEMENTS	VIII
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XI
LISTE DES TABLEAUX	XII
LISTE DES FIGURES.....	XIII
LISTE DES ANNEXES	XV
INTRODUCTION.....	1
PREMIÈRE PARTIE : GÉNÉRALITÉS	5
1. SOUS-PRODUITS ET DECHETS INDUSTRIELS AGRICOLES	6
1.1. Sous-produits agricoles	6
1.1.1. Résidus agricoles	7
1.1.2. Pertes post-récoltes	7
1.2. Déchets industriels agricoles.....	7
1.2.1. Résidus liquides	7
1.2.2. Résidus solides.....	8
2. PRESENTATION DES AMYLACES ET FRUITS	8
2.1. Amylacés.....	8
2.1.1. Cas de la banane	8
2.1.1.1. Potentiel de biomasse issue de la banane.....	9
2.1.1.2. Production mondiale et ivoirienne de banane plantain	9
2.1.1.3. Consommation et valorisation	10
2.1.2. Cas du manioc.....	11
2.1.2.1. Potentiel de biomasse issue du manioc	11
2.1.2.2. Production mondiale et ivoirienne de manioc.....	12
2.1.2.3. Consommation et valorisation	12
2.1.3. Cas du maïs.....	13
2.1.3.1. Potentiel de la biomasse issue du maïs	14
2.1.3.2. Production mondiale et ivoirienne de maïs.....	14
2.1.3.3. Consommation et valorisation	15
2.1.4. Cas du riz	15
2.1.4.1. Potentiel de la biomasse issue du riz.....	16

2.1.4.2. Production mondiale et ivoirienne de riz	18
2.1.4.3. Consommation et valorisation	18
2.2. Fruits	19
2.2.1. Cas de l'anacarde	19
2.2.1.1. Potentiel de la biomasse issue de l'anacarde	20
2.2.1.2. Production mondiale et ivoirienne de l'anacarde.....	21
2.2.1.3. Consommation et valorisation	21
2.2.2. Cas de l'ananas	22
2.2.2.1. Potentiel de la biomasse issue de l'ananas	23
2.2.2.2. Production mondiale et ivoirienne de l'ananas	23
2.2.2.3. Consommation et valorisation	24
2.2.3. Cas de la mangue	24
2.2.3.1. Potentiel de la biomasse issue de la mangue.....	25
2.2.3.2. Production mondiale et ivoirienne de la mangue.....	26
2.2.3.3. Consommation et valorisation	27
3. MICROORGANISMES DE CHOIX POUR LA PRODUCTION D'ACIDE CITRIQUE	28
3.1. Bactéries	28
3.2. Champignons.....	29
3.2.1. Genre <i>Aspergillus</i>	30
3.2.1.1. Espèce <i>Aspergillus niger</i>	31
3.2.1.2. Caractères culturels.....	32
3.2.1.3. Morphologie microscopique	33
3.2.2. Conditions de croissance de <i>Aspergillus niger</i>	34
3.2.2.1. Éléments nutritifs	34
3.2.2.1.1. Source de carbone et d'énergie.....	34
3.2.2.1.2. Source d'azote	34
3.2.2.1.3. Éléments minéraux	35
3.2.2.2. Facteurs physicochimiques	35
3.2.2.2.1. Température	35
3.2.2.2.2. Humidité	35
3.2.2.2.3. pH	36
4. PRODUCTION D'ACIDE CITRIQUE	36
4.1. Historique.....	36

4.2. Fiche du produit	38
4.3. Biosynthèse de l'acide citrique	38
4.4. Fermentation pour la production d'acide citrique	40
4.4.1. Fermentation en milieu liquide	41
4.4.2. Fermentation en milieu solide.....	42
4.5. Facteurs influençant la production d'acide citrique	44
4.5.1. Source de carbone	44
4.5.2. Humidité	44
4.5.3. pH du milieu de fermentation	44
4.5.4. Micronutriments.....	45
4.6. Récupération de l'acide citrique.....	46
4.7. Usages de l'acide citrique	47
4.7.1. Industrie pharmaceutique.....	48
4.7.2. Industrie alimentaire	49
4.7.3. Autres industries	50
4.8. Marché mondial de l'acide citrique.....	51
5. PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE.....	52
5.1. Région des lagunes.....	53
5.2. Région du Zanzan	54
DEUXIÈME PARTIE : MATÉRIEL ET MÉTHODES	55
1. MATERIEL	56
1.1. Matériel biologique	56
1.2. Matériel technique.....	57
1.3. Réactifs, solvants et milieu de culture.....	58
2. METHODES	59
2.1. Isolement et caractérisation des souches de <i>Aspergillus niger</i>	59
2.1.1. Echantillonnage du matériel biologique dédié à l'isolement des souches de <i>A. niger</i> ...	59
2.1.2. Culture de la souche fongique	59
2.1.3. Répiquage des isolats et conservation des isolats purifiés.....	60
2.2. Préparation des milieux de cultures	61
2.2.1. Milieu d'identification et d'isolation de <i>Aspergillus niger</i>	61
2.2.2. Milieu de détection de l'aflatoxine	61
2.2.3. Milieu de criblage de l'acide citrique	61

2.2.4. Critères d'identification du genre <i>Aspergillus</i>	61
2.2.4.1. Critères d'identification macroscopique.....	62
2.2.4.2. Critères d'identification microscopique.....	62
2.2.5. Recherche d'aflatoxines.....	62
2.2.6. Technique de criblage qualitatif pour la production d'acide citrique.....	63
2.3. Critères d'identification moléculaire.....	63
2.3.1. Extraction de l'ADN génomique.....	63
2.3.2. Electrophorèse des produits d'amplification.....	64
2.3.3. Séquençage du génome complet.....	64
2.3.4. Analyse bio-informatique des données et identification taxonomique.....	65
2.4. Caractéristiques des sous-produits et déchets industriels agricoles pour la production d'acide citrique en fermentation sur substrat solide.....	65
2.4.1. Echantillonnage des substrats servant à la production d'acide citrique.....	65
2.4.1.1. Echantillonnage des déchets industriels agricoles.....	65
2.4.1.2. Echantillonnage des sous-produits agricoles.....	65
2.4.2. Prétraitement des matières premières.....	66
2.4.2.1. Traitement des amylacés.....	66
2.4.2.2. Traitement des fruits.....	66
2.4.3. Réalisation de la fermentation.....	67
2.4.4. Analyse des sous-produits et déchets industriels agricoles.....	68
2.4.4.1. Analyses chimiques.....	68
2.4.4.1.1. Détermination du pH.....	68
2.4.4.1.2. Détermination du taux de sucre.....	68
2.4.4.1.3. Détermination de la conductivité.....	69
2.4.4.2. Analyses biochimiques.....	69
2.4.4.2.1. Teneur en humidité.....	69
2.4.4.2.2. Teneur en cendres.....	69
2.4.4.2.3. Teneur en matières grasses.....	70
2.4.4.2.4. Teneur en protéines.....	70
2.4.4.2.5. Teneur en glucides totaux.....	71
2.4.4.2.6. Teneur en sucres réducteurs.....	71
2.4.4.2.7. Teneur en sucres totaux.....	72
2.4.4.2.8. Teneur en amidon.....	72
2.4.4.2.9. Teneur en fibres totales.....	72

2.4.4.3. Analyse d'éléments minéraux	73
2.4.4.4. Dosage de l'acide citrique.....	73
2.4.5. Protocole de récupération de l'acide citrique	74
2.4.5.1. Filtration.....	75
2.4.5.2. Extraction par solvant	75
2.4.5.3. Cristallisation de l'acide citrique	76
2.4.5.4. Détermination des rendements.....	76
2.4.5.5. Analyses statistiques	77
TROISIÈME PARTIE : RÉSULTATS ET DISCUSSION	78
CHAPITRE 1 : CARACTERISTIQUES DES SOUCHES LOCALES DE <i>ASPERGILLUS NIGER</i> LES PLUS PERFORMANTES POUR PRODUIRE L'ACIDE CITRIQUE A PARTIR DES DECHETS AGRICOLES	79
1. Résultats	79
1.1. Abondance de la flore fongique en fonction des échantillons	79
1.2. Diversité morphologique des souches de <i>Aspergillus</i>	82
1.3. Criblage qualitatif pour la production d'aflatoxine.....	86
1.4. Criblage qualitatif pour la production d'acide citrique.....	86
1.5. Caractéristiques moléculaires des souches.....	87
1.5.1. Profil taxonomique des souches	87
1.5.1.1. Niveau Phylum.....	87
1.5.1.2. Niveau Classe.....	88
1.5.1.3. Niveau Ordre.....	89
1.5.1.4. Niveau Genre	90
1.5.1.5. Comparaison avec les souches de référence	91
1.5.2. Annotation fonctionnelle	92
1.5.2.1. Évaluation de la similarité génétique entre les isolats	92
1.5.2.2. Enzymes impliquées dans la production d'acide citrique.....	94
1.5.2.3. Enzymes impliquées dans la dégradation de l'amidon	95
2. Discussion.....	96
3. Conclusion partielle.....	99
CHAPITRE 2: DETERMINATION DES SOUS-PRODUITS ET DECHETS INDUSTRIELS AGRICOLES LES PLUS PERFORMANTS POUR LA PRODUCTION BIOLOGIQUE D'ACIDE CITRIQUE EN FERMENTATION SUR SUBSTRAT SOLIDE	101
1. Résultats	101

1.1. Evolution des paramètres chimiques des sous-produits et déchets industriels agricoles avant fermentation.....	101
1.2. Evolution des paramètres chimiques après fermentation.....	103
1.2.1. Variation du potentiel hydrogène pendant la fermentation.....	103
1.2.1.1. Impact des souches de <i>Aspergillus</i> sur l'acidification des substrats amylacés	105
1.2.1.2. Impact des souches de <i>Aspergillus</i> sur l'acidification des substrats de fruits.....	106
1.2.2. Variation du degré Brix pendant la fermentation.....	107
1.2.2.1. Impact des souches de <i>Aspergillus</i> sur le degré Brix des substrats amylacés.....	110
1.2.2.2. Impact des souches de <i>Aspergillus</i> sur le degré Brix des substrats de fruits	111
1.2.3. Variation de la conductivité pendant la fermentation	112
1.2.3.1. Impact des souches de <i>Aspergillus</i> sur la conductivité des substrats amylacés.....	115
1.2.3.2. Impact des souches de <i>Aspergillus</i> sur la conductivité des substrats de fruits.....	116
1.3. Quantification de l'acide citrique issue des sous-produits agricoles et déchets industriels agricoles	117
1.4. Evaluation des propriétés biochimiques des sous-produits et déchets industriels agricoles avant et après fermentation	119
1.5. Evaluation des éléments minéraux.....	124
2. Discussion.....	126
3. Conclusion partielle.....	133
CHAPITRE 3 : RECUPERATION ET PURIFICATION DE L'ACIDE CITRIQUE PRODUIT	135
1. Résultats	135
1.1. Récupération à l'aide du éther di-éthylique sur des substrats amylacés	135
1.2. Récupération à l'aide du éther di-éthylique sur des substrats de fruits.....	136
1.3. Récupération à l'aide de l'acétate d'éthyle sur des substrats amylacés	137
1.4. Récupération à l'aide de l'acétate d'éthyle sur des substrats de fruits.....	138
1.5. Evaluation du rendement d'extraction de l'acide citrique par rapport aux solvants.....	140
1.6. Evaluation du rendement massique de l'acide citrique extrait.....	141
2. Discussion.....	143
3. Conclusion partielle.....	145
CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES	147
RÉFÉRENCES.....	152
ANNEXES	171
PUBLICATIONS ET COMMUNICATION	176

DÉDICACE

Je dédie cette thèse :

À mon très cher père KOUAKOU Kouman et ma précieuse mère DABIRE Hélène

À mon frère Thierry et mes sœurs Sandra, Ariane, Véronique

À mes amis Arnaud, Joseph, Rebeca, Christelle et Winner

En mémoire de Joel Tanguy.

REMERCIEMENTS

La thèse unique représente un travail s'inscrivant dans la durée et constitue, pour cette raison, le fil conducteur d'une tranche de la vie de son auteur. S'il faut beaucoup de dynamisme, d'enthousiasme et de motivation pour mener à bien ses travaux, il faut encore plus de rigueur, d'investigation et de courage, le tout s'alliant à la simplicité. C'est pour moi un agréable plaisir et un devoir d'exprimer ma sincère reconnaissance à toutes ces personnes qui ont contribué de loin ou de près à l'élaboration de ce travail. Qu'elles trouvent ici mes vifs respects et ma profonde gratitude.

Je souhaiterais en premier lieu remercier Madame ADOHI Krou Viviane, Professeure Titulaire, Présidente de l'Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ, pour son dévouement dans la formation des étudiants.

Je tiens ensuite à remercier Monsieur SORO Dognimeton, Professeur Titulaire, Vice-président chargé de la Pédagogie, de la Vie Universitaire et de l'Innovation Technologique de l'Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ, pour sa disponibilité et sa promptitude à répondre aux préoccupations au plan académique.

Mes sincères gratitudee vont également à Monsieur KONÉ Issiaka, Professeur Titulaire, Vice-président chargé de la Planification, de la Programmation et des Relations Extérieures de l'Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ, pour son implication au bien-être des étudiants.

Merci à Monsieur KOUASSI Clément, Maître de Conférences, Directeur de l'unité de formation et de recherche d'Agroforesterie, de l'Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ pour sa disponibilité.

J'adresse mes plus sincères remerciements à Monsieur BEUGRE Grah Avit Maxwell, Professeur Titulaire, Responsable du laboratoire d'Agro-valorisation de l'Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ, par ailleurs mon directeur de thèse, pour sa patience et son accompagnement. Ses judicieux conseils m'ont énormément aidés dans ma réflexion et m'ont permis d'orienter encore plus facilement mes recherches.

Mes sincères remerciements vont également à Monsieur GBASSI Komenan Gildas, Professeur Titulaire à l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, Co-directeur de cette thèse, qui, en plus de m'avoir accueillie au sein du Laboratoire de Contrôle d'Aliments au LNSP (Laboratoire National de la Santé Publique), m'a fourni tous les éléments dont j'ai eu besoin pour mener à bien mes travaux. Aussi, s'est-il assuré de mon intégration dans l'équipe, ce qui a énormément facilité mes nombreuses investigations.

Merci par ailleurs à toute son équipe, qui m'a aussitôt offert sa coopération dès que cela était nécessaire. Ces personnes n'ont pas hésité à prendre de leur temps pour m'aider dans mes travaux de recherche, notamment en répondant à toutes mes questions et en me guidant dans toutes mes manipulations. Ce sont : Professeur N'GUESSAN Deto, Docteur YEHE Désirée, Docteur KOUAMÉ Jean-Kisito, Docteur OVI Vincent De Paul et la Technicienne KOUA Estelle.

Mes sincères et respectueux hommages à Monsieur BAKAYOKO Sidiky, Professeur Titulaire et Secrétaire Général de l'Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ, pour avoir accepté de présider le jury de cette thèse. Sa vision éclairée, son engagement intellectuel et ses orientations précieuses valideront scientifiquement ce travail.

Mes remerciements respectueux vont à monsieur YAO Konan Mathurin, Maître de Conférences à l'Université Peleforo GON COULIBALY, rapporteur de cette thèse, dont les analyses pertinentes et l'exigence intellectuelle ont été déterminantes pour la qualité finale de ce travail.

J'exprime ma profonde gratitude à Monsieur KOUASSI Kra Athanase, Maître de Conférences à l'Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ et examinateur de cette thèse, pour ses conseils éclairants, son dévouement indéfectible envers les étudiants, et son engagement précieux dans la correction rigoureuse de ce travail.

Ma reconnaissance à monsieur KOUASSI Kouakou Nestor, Maître de Conférences à l'Université NANGUI ABROGOUA dont l'œil averti d'examineur affinera la méthodologie de cette recherche. Ses suggestions éclairées resteront des piliers pour mes travaux futurs.

Mes remerciements s'étendent à l'endroit de monsieur NIABA Koffi Valéry et monsieur GROGA Noël, Maîtres de Conférences à l'Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ, pour m'avoir transmis les bonnes références d'études et des conseils en la matière, me permettant ainsi de bénéficier d'un gain de temps et d'énergie considérable dans ce projet.

Je tiens à exprimer ma gratitude toute particulière au Professeur ANGAMAN Djédoux Maxime, Professeur Titulaire à l'Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ, dont l'expertise décisive a guidé les analyses biomoléculaires de cette recherche. Mes remerciements s'étendent à son équipe, notamment à monsieur KACOU Okran pour son assistance technique précieuse et au Docteur N'ZI Parfait pour ses contributions méthodologiques éclairées.

Mes hommages respectueux à monsieur KONAN Séraphin, Professeur Titulaire à l'Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ, dont le mentorat éclairé a guidé mes réflexions scientifiques. Son investissement intellectuel et matériel demeure un pilier invisible de ce travail.

Je tiens à exprimer ma vive reconnaissance à l'équipe de Microbiologie, Enzymologie et Biochimie de l'Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ, dont l'expertise collective a été le socle de cette recherche. Mes remerciements particuliers vont au Docteur VOKO Bi Rosin pour ses conseils en microbiologie et son regard perspicace sur le document, au Docteur GNAMIEN Yah pour son expertise en dosage des sucres, au Docteur ZEBRE Arthur pour ses innovations en production d'acide citrique, au Docteur KOKO Anauma pour ses analyses statistiques et au Docteur GNAHE Hermann pour ses remarques pertinentes. Que chacun trouve ici l'hommage de ma gratitude scientifique.

Mes remerciements les plus profonds vont au LNSP qui a généreusement ouvert ses installations de pointe à cette recherche. C'est entre ses murs techniques que la majorité de mes manipulations expérimentales ont pris vie, bénéficiant tant de ses équipements de précision que de l'environnement scientifique rigoureux qui caractérisent cette institution d'excellence.

Mes remerciements émus vont aux unités industrielles et coopératives agricoles qui ont ouvert leurs portes à cette recherche. Leur confiance a permis l'échantillonnage des sous-produits et déchets industriels agricoles, matière première de cette thèse. Ce sont : la Société IVORIO, la Coopérative des Femmes du Gontougo, les Artisanes d'attiéké de Grand-Bassam, les Riziculteurs de N'Douci.

Mes hommages les plus profonds et tendres vont à mon père, Monsieur KOUAKOU Kouman, dont les sages conseils et le soutien inébranlable ont cultivé en moi l'amour du travail bien fait. Que ces pages soient l'accomplissement de ses vœux les plus chers et ma mère, Madame DABIRE Hélène épouse KOUMAN, dont les sacrifices silencieux et les efforts constants ont tissé le tissu de mon éducation et veillé sur mon bien-être à chaque étape de ce parcours. Vous êtes les racines invisibles et la lumière constante de cette réalisation académique.

En dernier lieu, j'adresse ma reconnaissance particulière à mes proches que sont Abdelaziz, Marc-Antoine, Joël, Fatim, Christelle, James et Jean-Yves, pour leur soutien, qui m'a permis de mener à terme mes travaux.

Je voudrais exprimer ma profonde gratitude à toutes les autres personnes qui, même sans être citées personnellement, ont tout autant contribué à la réalisation de ce projet par leurs conseils et leurs diverses compétences.

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

AC: Acide Citrique

Acétyl Co-A : Acétyl coenzyme A

ANADER : Agence Nationale d'Appui au Développement Rural

A. niger : *Aspergillus niger*

ATP : Adénosine Triphosphate

CAS : Chemical Abstract Service

CEA : Coconut extract agar (milieu extrait de noix de coco)

CCD: Coupled Charged Device

CNRA : Centre National de Recherche Agronomique

DIA : Déchets Industriels Agricoles

EINECS : European Inventory of Existing Commercial Substances

FDA : Food and Drug Administration

FML: Fermentation en Milieu Liquide

FsB : Fermentation submergée

Fs : Fermentation de surface

FSS : Fermentation sur Substrat Solide

GRAS : Generally Recognized As Safe

NADH : Nicotinamide Adénine di-nucléotide

PDA : Potato Dextrose Agar (milieu gélose dextrosée à la pomme de terre)

pH : potentiel Hydrogène

SAA: Spectrophotomètre d'Absorption Atomique

SPA : Sous-Produits Agricoles

TCA : cycle d'acide tricarboxylique

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Quantification des résidus.....	9
Tableau II: composition moyenne (%) des fractions organiques de la balle et de ses fractions de broyage à 14 % d'humidité.....	18
Tableau III: composition nutritionnelle de la pomme de cajou	21
Tableau IV: quelques bactéries productrices d'acide citrique	29
Tableau V: quelques champignons producteurs d'acide citrique	29
Tableau VI: avantages et inconvénients des différents types de fermentations.....	43
Tableau VII: micronutriments affectant la production d'acide citrique	46
Tableau VIII: différents usages de l'acide citrique dans l'industrie pharmaceutique	49
Tableau IX: différents usages de l'acide citrique dans l'industrie alimentaire	50
Tableau X: différents usages de l'acide citrique dans diverses industries.....	51
Tableau XI: présentation du matériel biologique utilisé pour la recherche de <i>Aspergillus niger</i>	56
Tableau XII : présentation du matériel biologique utilisé pour la production d'acide citrique	56
Tableau XIII: Présentation du matériel de laboratoire	57
Tableau XIV: présentation des réactifs, solvants et milieu de culture	58
Tableau XV: quantité d'isolats retrouvés dans le matériel biologique	79
Tableau XVI: Identification phénotypique des souches de <i>Aspergillus</i>	83
Tableau XVII: Capacité des isolats à produire l'aflatoxine	86
Tableau XVIII: Capacité des isolats à produire l'acide citrique.....	87
Tableau XIX: comparaison des isolats avec les souches de références	92
Tableau XX: Résultats des paramètres chimiques avant fermentation	102
Tableau XXI: Données biochimiques des sous-produits et déchets industriels agricoles	123
Tableau XXII: Composition minérale des sous-produits et déchets industriels agricoles.....	125
Tableau XXIII: Récupération avec l'éther di-éthylique sur substrat amylicé.....	136
Tableau XXIV: Récupération avec l'éther di-éthylique sur substrat de fruits.....	137
Tableau XXV: Récupération avec l'acétate d'éthyle sur substrat amylicés.....	138
Tableau XXVI: Récupération avec l'acétate d'éthyle sur substrat de fruits	139
Tableau XXVII: Rendement d'extraction de l'acide citrique sur substrat amylicé.....	140
Tableau XXVIII: Rendement d'extraction de l'acide citrique sur substrats de fruits.....	141
Tableau XXIX : Rendement massique de l'acide citrique extrait par rapport aux amylicés	142
Tableau XXX: Rendement massique de l'acide citrique extrait par rapport aux fruits	143

LISTE DES FIGURES

Figure 1: différence entre sous-produits agricoles et déchets industriels agricoles	6
Figure 2: présentation de la banane plantain	9
Figure 3: présentation de la racine de manioc	11
Figure 4: présentation des sous-produits de manioc	12
Figure 5 : présentation du maïs	13
Figure 6: présentation des rafles de maïs	14
Figure 7 : présentation du riz.....	16
Figure 8: différents types de riz et procédés d'obtention	17
Figure 9: présentation de l'anacarde	20
Figure 10: présentation de l'ananas.....	22
Figure 11: présentation de la mangue	25
Figure 12: présentation des mangues classées hors circuit commercial	26
Figure 13: photographie de quelques <i>Aspergillus</i>	31
Figure 14: schéma de <i>Aspergillus niger</i>	32
Figure 15: culture de <i>A. niger</i> sur gélose de Sabouraud âgée de 8 jours	33
Figure 16: <i>Aspergillus niger</i> au microscope optique objectif 40	33
Figure 17: formule développée de l'acide citrique	38
Figure 18: production d'acide citrique par <i>Aspergillus niger</i>	40
Figure 19: différents procédés de fermentation pour la production d'acide citrique.....	41
Figure 20 : processus de récupération de l'acide citrique	47
Figure 21: usages de l'acide citrique	48
Figure 22 : prévision du marché mondial de l'acide citrique.....	52
Figure 23: zone d'étude	53
Figure 24: recherche de la souche de <i>Aspergillus</i>	60
Figure 25: substrats amylicés	66
Figure 26: substrats de fruit.....	67
Figure 27: diagramme de préparation du milieu de fermentation	68
Figure 28: diagramme de récupération de l'acide citrique	74
Figure 29: Groupe 1- <i>Aspergillus</i> sp ₁	79
Figure 30: Groupe 2- <i>Aspergillus</i> sp ₂	80
Figure 31: Groupe 3- <i>Aspergillus</i> sp ₃	80
Figure 32: Groupe 4- <i>Aspergillus</i> sp ₄	80
Figure 33: Groupe 5- <i>Aspergillus</i> sp ₅	81

Figure 34: Groupe 6- <i>Aspergillus</i> sp ₆	81
Figure 35: Groupe 7- <i>Aspergillus</i> sp ₇	81
Figure 36 : Profil taxonomique spécifique au phylum.....	88
Figure 37: Répartition des classes fongiques	89
Figure 38: hiérarchie des ordres fongiques	90
Figure 39: hiérarchie du genre fongique	91
Figure 40: distribution des marqueurs génétiques et relations entre les isolats	93
Figure 41: Dendrogramme de similarité entre les échantillons.....	94
Figure 42: Enzymes impliquées dans la production d'acide citrique.....	95
Figure 43: Enzymes impliquées dans la dégradation de l'amidon.....	96
Figure 44: Evolution du pH avec l'isolat E1	103
Figure 45 : Evolution du pH avec l'isolat E2.....	104
Figure 46: Evolution du pH avec l'isolat E3.....	104
Figure 47: Evolution du pH avec l'isolat E4.....	105
Figure 48: Impact des souches sur l'acidification des substrats amylacés	106
Figure 49: Impact des souches sur l'acidification des substrats de fruits.....	107
Figure 50: évolution du degré Brix avec la souche E1	108
Figure 51: évolution du degré Brix avec la souche E2	109
Figure 52: évolution du degré Brix avec la souche E3	109
Figure 53: Evolution du degré Brix avec l'isolat E4.....	110
Figure 54: Impact des souches sur les substrats amylacés	111
Figure 55: Impact des souches sur les substrats de fruits.....	112
Figure 56 : Evolution de la conductivité avec l'isolat E2	113
Figure 57: Evolution de la conductivité avec l'isolat E3	114
Figure 58: Evolution de la conductivité avec l'isolat E1	115
Figure 59: Evolution de la conductivité avec l'isolat E4	115
Figure 60: Impact des souches sur la conductivité des substrats amylacés	116
Figure 61: Impact des souches sur la conductivité des substrats de fruits	117
Figure 62 : Production d'acide citrique par quatre isolats sur les substrats amylacés	118
Figure 63: Production d'acide citrique par quatre isolats sur les substrats de fruits.....	119

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1: Souche de <i>Aspergillus</i> (Groupe 1) non productrice d'aflatoxine	172
Annexe 2: Souche de <i>Aspergillus</i> (Groupe 2) productrice d'aflatoxine	172
Annexe 3: Souche de <i>Aspergillus</i> (Groupe 3) productrice d'aflatoxine	172
Annexe 4: Souche de <i>Aspergillus</i> (Groupe 4) non productrice d'aflatoxine	173
Annexe 5: Souche de <i>Aspergillus</i> (Groupe 5) productrice d'aflatoxine	173
Annexe 6: Souche de <i>Aspergillus</i> (Groupe 6) non productrice d'aflatoxine	173
Annexe 7 : Souche de <i>Aspergillus</i> (Groupe 7) non productrice d'aflatoxine	174
Annexe 8: Capacité des 24 isolats à produire l'acide citrique sur le milieu Czapeck additionné au vert de bromocrésol	174
Annexe 9: Production d'acide citrique par E2	175
Annexe 10: Production d'acide citrique par E1	175
Annexe 11: Production d'acide citrique par E3	175
Annexe 12: Production d'acide citrique par E4	175

INTRODUCTION

Chaque année, plus d'un tiers de la production agricole destinée à la consommation dans le monde est perdue ou gaspillée. Selon la FAO (2023), ces résidus, atteignant environ 1,3 milliard de tonnes par an, participent à la dégradation de l'environnement. Ce paradoxe, où des ressources agricoles valorisables deviennent des polluants, cristallise les défis de l'économie circulaire dans les pays en développement.

La Côte d'Ivoire, ayant bâti une partie de son économie sur l'agriculture (Banque mondiale, 2023), incarne cette contradiction. Premier exportateur mondial de cacao, de noix de cajou et de mangues, le pays génère annuellement entre 15 et 17 millions de tonnes de sous-produits agricoles selon les estimations gouvernementales (GIZ, 2020). Ces résidus, issus à 65 % des cultures de rente (cacao, anacarde) et à 22 % des filières vivrières (manioc, banane plantain), sont majoritairement enfouis, brûlés à ciel ouvert ou rejetés dans les cours d'eau, faute de filières structurées. Les déchets industriels agricoles, quant à eux, demeurent non répertoriés de manière systématique, bien que leur présence dans les décharges municipales atteigne 34 % du flux total selon une étude récente (Rapport Final de Benchmark, 2022). Pourtant, cette biomasse négligée recèle un potentiel sous-exploité dans la mesure où plus de 15 % de ces déchets peuvent être valorisée (GIZ, 2020). En effet, leurs teneurs en cellulose (38-52 %), en hémicelluloses (18-30 %) et autre composé biodisponible font de ces résidus, une ressource stratégique pour l'industrie des bioproduits (OECD & FAO, 2021; DGDDI, 2022).

Selon Royer *et al.* (2020), cette sous-exploitation est due à de multiples raisons à savoir le manque de sensibilisation et de connaissance, vu que les agriculteurs et les acteurs du secteur agricole ne sont pas suffisamment informés sur les avantages et les opportunités de valorisation des sous-produits agricoles. De plus, la Côte d'Ivoire ne dispose que d'un nombre limité d'infrastructures et de technologies pour la valorisation efficace des sous-produits agricoles. Par ailleurs, les agriculteurs préfèrent les méthodes traditionnelles d'élimination des sous-produits. Une autre raison se situe au niveau de la faible demande, voire, l'absence de marché local et sous régional pour les produits dérivés des sous-produits agricoles. Ainsi, la valorisation des sous-produits et les déchets industriels agricoles en Côte d'Ivoire est assez embryonnaire malgré la disponibilité de la matière première. Alors que les sous-produits et les déchets industriels agricoles pourraient jouer un rôle essentiel dans l'économie ivoirienne en tant que facteurs d'opportunité. En effet, ce sont des ressources précieuses qui peuvent être utilisées de manière efficace et durable. Leur réutilisation permet de diversifier les sources de revenus des agriculteurs, de réduire les impacts environnementaux et d'améliorer la productivité agricole (FAO, 2014; Rajeev, 2021). Ces résidus sont généralement utilisés dans l'alimentation animale, le compostage, l'énergie renouvelable et les biogaz (GIZ, 2020).

Bien que l'utilisation de sous-produits agricoles et de déchets industriels agricoles pour la production d'additifs alimentaires tels que l'acide citrique (AC) ne fasse pas partie des méthodes de valorisation en Côte d'Ivoire, elle reste une alternative à étudier (Kouassi, 2018). En effet, l'acide citrique est un produit commercialement précieux. C'est le deuxième acide organique le plus produit sur le marché mondial (Kouassi, 2018; Sawant *et al.*, 2018). Il domine 65 % du marché des acidifiants alimentaires (Codex alimentarius, 2014), tout en s'imposant comme un composé multifonctionnel dans la pharmacopée (20 % des formulations galéniques), les détergents écologiques (pH tampon idéal) et la chélation des métaux lourds (traitement des eaux). La production mondiale de l'acide citrique est passée de 1,8 million de tonnes en 2010 à 2,8 millions de tonnes en 2023 (Cairns *et al.*, 2018; Zwiercheczewski de Oliveira *et al.*, 2024). Il est actuellement deuxième des acides organiques et les sources de substrats pour le produire sont à explorer. Son marché, évalué à 3,7 milliards USD en 2023, repose encore majoritairement sur des substrats coûteux (sirops de glucose), alors que des études récentes démontrent des rendements supérieurs avec des résidus agricoles ivoiriens comme les cabosses de cacao (Cairns *et al.*, 2018). La quasi-totalité de l'acide citrique produit mondialement est obtenue par fermentation microbienne, principalement via le champignon filamenteux *Aspergillus niger* (99 % de la production). Seule une infime partie (< 1 %) est synthétisée chimiquement, une méthode non compétitive en raison de ses coûts élevés et de son faible rendement (Zwiercheczewski de Oliveira *et al.*, 2024). *Aspergillus niger* est un organisme GRAS (*Generally Recognized As Safe*) pour l'industrie alimentaire et champion de la conversion de substrats complexes en acide citrique, avec des souches industrielles atteignant 220 g/L en fermentation submergée (Cairns *et al.*, 2018). Néanmoins, le potentiel de *Aspergillus niger* sur matrices ivoiriennes reste inexploré.

Au cours des dernières décennies, de nombreux travaux de recherche ont été réalisés dans le domaine de la valorisation agricole et de la production d'acide citrique à partir de microorganismes comme *Aspergillus niger* (Behera, 2020). Ces études ont mis en évidence les avantages de cette voie de production, tels que la disponibilité des matières, l'efficacité du processus de fermentation et la production d'acide citrique de haute qualité (Show *et al.*, 2015). Des progrès significatifs ont été réalisés dans la compréhension des paramètres de fermentation, des conditions optimales de croissance des microorganismes et des techniques analytiques pour suivre la production d'acide citrique (Dhillon, 2012). Toutefois, en dépit de ces progrès, il demeure encore des défis scientifiques et technologiques à relever comme le criblage phénotypique/génomique de souches sauvages de *A. niger* isolées de sols ivoiriens, la sélection appropriée des déchets industriels agricoles et sous-produits agricoles pour la

maximisation des rendements de production d'acide citrique et le perfectionnement des techniques de purification de l'acide citrique produit.

Face à ces défis, dans quelle mesure l'exploitation de souches locales de *Aspergillus niger*, couplée à une fermentation sur substrats de résidus agricoles ivoiriens, peut-elle contribuer à la production durable d'acide citrique tout en réduisant la pollution due aux ressources agricoles?

C'est dans ce contexte que ce travail s'inscrit en proposant une étude de la valorisation des sous-produits agricoles et déchets industriels agricoles pour la production biologique d'acide citrique.

L'objectif de cette étude est donc d'évaluer le potentiel des déchets industriels agricoles et sous-produits agricoles pour la production efficace et continue d'acide citrique à partir de souches locales de *A. niger*. Il s'agira spécifiquement de :

- caractériser les souches locales de *A. niger* les plus performantes pour produire l'acide citrique à partir des sous-produits et déchets industriels issus de l'agriculture ivoirienne ;
- déterminer les sous-produits et déchets industriels agricoles les plus performants pour la production biologique d'acide citrique en fermentation sur substrat solide ;
- mettre au point un protocole de récupération et de purification de l'acide citrique.

En plus de l'introduction et de la conclusion générale, ce mémoire de thèse est composé de trois parties. D'abord, la première partie est consacrée aux généralités sur les matières premières, *A.niger* et l'acide citrique. Ensuite, la seconde partie de ce manuscrit décrit le matériel et les principales méthodes utilisés. Elle présente également le protocole, les critères d'étude retenus et les analyses statistiques réalisées. Puis, les résultats obtenus sont regroupés dans la troisième partie du manuscrit et sont discutés. Les résultats obtenus ont été organisés en trois (03) chapitres. Le manuscrit se conclut, enfin, en présentant les principales perspectives envisagées pour la poursuite de cette thématique de recherche.

PREMIÈRE PARTIE : **GÉNÉRALITÉS**

1. SOUS-PRODUITS ET DECHETS INDUSTRIELS AGRICOLES

Les termes "déchets industriels agricoles (DIA)" et "sous-produits agricoles (SPA)" sont souvent utilisés pour décrire des matériaux générés dans le secteur agricole, mais ils ont des significations différentes en termes d'utilisation et de gestion (Figure 1).

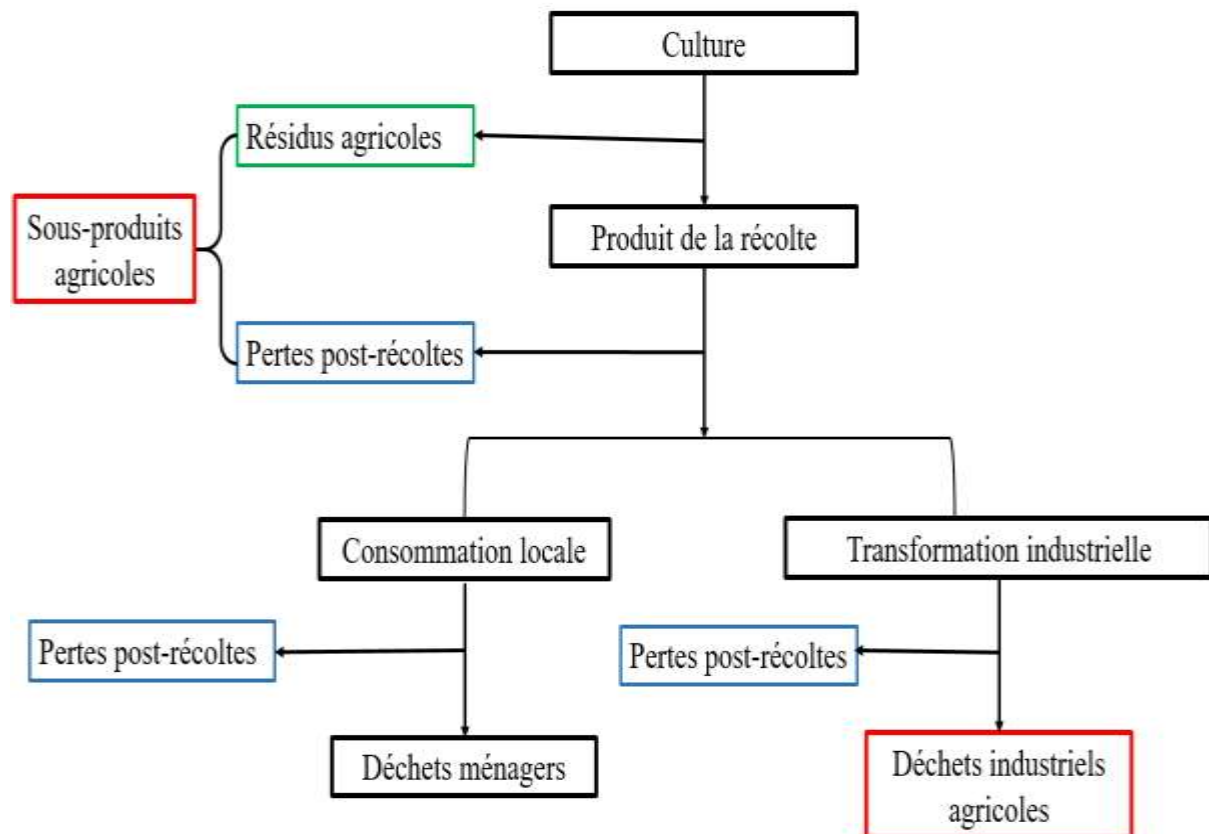


Figure 1: différence entre sous-produits agricoles et déchets industriels agricoles
Source : (Lambaré, 2015)

1.1. Sous-produits agricoles

Les sous-produits agricoles sont des produits secondaires ou des matériaux qui sont générés lors des activités agricoles ou de la transformation des produits agricoles, mais qui ont une valeur ou une utilisation potentielle. Contrairement aux déchets agricoles, les sous-produits sont souvent récupérés et valorisés dans d'autres industries ou processus (FAO, 2014; Saidou, 2024). D'après le GIZ (2020), les sous-produits agricoles ivoiriens représentent 15 à 17 millions de tonnes par an. On les classe en deux catégories que sont les résidus agricoles et les pertes post-récoltes.

1.1.1. Résidus agricoles

Le terme «résidus agricoles» fait référence aux parties fibreuses des végétaux à faible teneur en nutriments, non consommées par les humains après les récoltes, mais également à faible valeur alimentaire pour les animaux (FAO, 2014). Ce sont : les pailles, les sons, les feuilles, les chaumes, les coques, les cabosses, etc.

1.1.2. Pertes post-récoltes

Elles englobent toutes les pertes de produits agricoles, notamment alimentaires, le long de la chaîne de valeur agricole, de la culture dans les champs jusqu'à l'assiette du consommateur. Ces pertes sont dues à des activités telles que la récolte elle-même, la manutention, la transformation, le stockage, le conditionnement, le transport et la commercialisation (Gounga *et al.*, 2023).

1.2. Déchets industriels agricoles

Les déchets industriels agricoles font référence aux matériaux qui n'ont plus d'utilisation ou de valeur dans le processus de transformation et qui sont généralement éliminés. Ce sont des matériaux non souhaités qui ne sont pas destinés à être récupérés ou valorisés (World Bank *et al.*, 2018 ; Portillo, 2022). Ces déchets sont créés au cours des processus post-récolte générés par le nettoyage, le tamisage, le broyage, etc. et sont classés en deux groupes : les résidus liquides et les résidus solides (Lim *et al.*, 2012). Selon le Rapport Final de Benchmark (2022), les déchets industriels agricoles ivoiriens sont estimés à environ 5 590 000 tonnes / an.

1.2.1. Résidus liquides

Les résidus industriels agricoles liquides sont des effluents issus de processus industriels liés à l'agriculture (Drechsel *et al.*, 2023). Ces résidus résultent principalement de la transformation des matières premières agricoles (comme les céréales, les fruits, les légumes, etc.) dans des usines agroalimentaires ou agro-industrielles. Ils sont généralement composés d'eau contenant des matières organiques dissoutes ou en suspension, ainsi que des composés minéraux et parfois des produits chimiques utilisés lors des processus industriels (Drechsel *et al.*, 2023). Selon Wassenaar *et al.* (2016), ces résidus peuvent inclure :

- des eaux usées : eaux de lavage des matières premières, eaux usées amidonnées, etc. ;
- des liquides résiduels : mélasse, boue d'ultrafiltration de jus, etc. ;
- des eaux de process : lactosérum, graisse, etc.

1.2.2. Résidus solides

Ce sont des déchets issus des activités industrielles de transformation de matières premières agricoles (Awogbemi & Kallon, 2023). Ces résidus solides peuvent inclure :

- des fibres végétales ;
- des coques et des épiluchures ;
- des pulpes et des tourteaux ;
- d'autres parties non utilisées des plantes ou de la production animale.

Ces matériaux sont souvent riches en matières organiques et peuvent contenir des nutriments, des fibres, des protéines ou d'autres composés valorisables (Awogbemi & Kallon, 2023).

2. PRESENTATION DES AMYLACES ET FRUITS

2.1. Amylacés

Les amylacés sont des corps qui sont composés d'amidon (CNRTL, 2012). On les trouve principalement dans les grains de céréales, les tubercules et les légumineuses. Dans le cadre de cette étude, nous nous intéressons spécifiquement aux sous-produits amylacés de quatre cultures clés : la banane plantain, le manioc, le riz et le maïs, dont les résidus seront valorisés.

2.1.1. Cas de la banane

Le bananier (*Musa*) est un genre de plantes monocotylédones vivaces de la famille des Musaceae (Figure 2). Le bananier, contrairement aux apparences, n'est pas un arbre mais une plante herbacée (CNRA, 2021). En effet, ce genre comprend environ soixante espèces, toutes tropicales, dont plusieurs sont largement cultivées pour la production de bananes (CNRA, 2021). La banane plantain est plus riche en amidon que celles fréquemment consommées en dessert. Aussi, la banane plantain est couramment consommée dans une grande partie de l'Afrique, en Amérique centrale, dans les Caraïbes et dans certains pays d'Amérique du Sud.



Figure 2: présentation de la banane plantain
Source : Compagniefruitière.fr

2.1.1.1. Potentiel de biomasse issue de la banane

Les résidus de banane plantain en Côte d'Ivoire se répartissent en trois catégories principales (Tableau I). D'abord, les épluchures représentent 25 à 35 % du poids total des régimes, soit une production annuelle estimée entre 450 000 et 630 000 tonnes ; un gisement majoritairement gaspillé malgré sa richesse en cellulose (Kumar *et al.*, 2024). Quant aux rachis (tiges), ils constituent 15 à 20 % de la biomasse résiduelle, générant 270 000 à 360 000 tonnes par an, souvent abandonnés dans les champs après récolte. Puis, les feuilles mortes, bien que moins volumineuses (10-15 %), contribuent à hauteur de 180 000 à 270 000 tonnes annuelles, une ressource sous-utilisée dans la production de compost ou de bioplastiques. Au total, ce sont près de 900 000 à 1,26 million de tonnes de biomasse qui pourraient être valorisées annuellement, selon les données de Kumar *et al.* (2024).

Tableau I: Quantification des résidus

Type de résidu	Part du poids total	Rendement annuel en Côte d'ivoire
Peaux (épluchures)	25 – 35 %	450 000 – 630 000 tonnes
Rachis (tiges)	15 – 20 %	270 000 – 360 000 tonnes
Feuilles mortes	10 – 15 %	180 000 – 270 000 tonnes

Source : CNRA, 2021

2.1.1.2. Production mondiale et ivoirienne de banane plantain

La banane plantain occupe une place centrale dans l'agriculture vivrière et l'économie des régions tropicales. À l'échelle mondiale, la production annuelle est estimée à 35 millions de

tonnes (FAO, 2022), dont plus de 70 % proviennent de l’Afrique subsaharienne. Le Cameroun, la Côte d’Ivoire, le Ghana et le Nigeria dominent le classement continental, avec des volumes dépassant chacun 4 millions de tonnes par an. Ces chiffres reflètent l’importance socio-économique de cette culture pour la sécurité alimentaire et les revenus des petits exploitants. Dans les pays producteurs, la banane plantain constitue une ressource alimentaire importante pour plus de 400 millions d’habitants des pays tropicaux de la planète (Fouré & Tézenas Du Montcel, 2000). Au niveau mondial, les bananes plantain sont la quatrième denrée alimentaire de base, derrière le riz, le blé et le maïs (FAO, 2014).

En Côte d’Ivoire, la banane plantain constitue un pilier de l’agriculture vivrière, avec une production annuelle estimée à plus de 2 000 000 tonnes (CIRAD, 2023). Cette performance place le pays au premier rang africain et au quatrième rang mondial (CIRAD, 2023). La consommation moyenne est estimée à 120 kg/habitant/an. Le besoin national est estimé à 2 700 000 tonnes par an (CNRA, 2021). Les régions du Sud (Abidjan, Dabou) et du Centre (Bouaké, Yamoussoukro) concentrent 65 % de la production nationale, selon une étude de la Banque mondiale (2023).

La croissance du secteur est soutenue par des initiatives gouvernementales, comme le Plan National d’Investissement Agricole (PNIA, 2017), visant à moderniser les pratiques agricoles et à réduire les pertes post-récolte (estimées à 25-30 %). Cependant, malgré ces efforts, 30 à 40 % des résidus (peaux, rachis, feuilles, banane hors circuit commerciale) restent non valorisés, générant des problèmes environnementaux tels que l’émission de 12 000 tonnes de CO₂ / an par décomposition anaérobie (ARECA, 2023).

2.1.1.3. Consommation et valorisation

La variété de banane plantain la plus répandue en Côte d’Ivoire est la *Musa paradisiaca*, qui a un fruit long et ovale, à la peau verte ou jaune et à la chair fibreuse et sèche. Elle est surtout consommée localement et le rendement national moyen est estimé à environ 6 T/ha. En plus de la forte demande intérieure, il se développe un marché sous-régional et international (CNRA, 2021). Les sous-produits de la banane plantain sont principalement les déchets organiques (feuilles, tiges, peaux,...) qui peuvent être valorisés de différentes manières : compostage, alimentation animale, biogaz, papier, etc. (CIRAD, 2023). Les produits de la transformation de la banane plantain sont également divers : farine, chips, bière, vinaigre, etc. Ces produits peuvent contribuer à la diversification des revenus des producteurs et des transformateurs, ainsi qu’à la réduction des pertes post-récoltes (CNRA, 2021).

2.1.2. Cas du manioc

Selon Akpingny & Koulou (2017), le manioc (*Manihot esculenta Crantz*) est une plante vivrière importante de la zone tropicale humide, avec des régimes pluviométriques à une ou deux saisons des pluies et des pluies annuelles allant de 600 mm à plus de 4 000 mm. C'est un arbuste ligneux, vivace et ramifié qui peut atteindre jusqu'à 5 m de hauteur. Il génère de larges feuilles fortement lobées et spiralées, avec des formes très variables (Figure 3). Dans les régions tropicales et subtropicales, cet arbuste vivace est largement cultivé en tant que plante annuelle en raison de sa racine tubérisée riche en amidon.



Figure 3: présentation de la racine de manioc
Source : CIRAD, 2023

2.1.2.1. Potentiel de biomasse issue du manioc

Les résidus générés lors de la transformation du manioc se répartissent en deux catégories principales: solides et liquides (Figure 4). Les résidus solides dominent par leur volume, avec en tête les épluchures, qui représentent 20 à 35 % du poids total des racines transformées, selon une étude de Kobenan *et al.* (2023). Ces épluchures, riches en fibres (principalement cellulose et hémicellulose), constituent un défi environnemental majeur lorsqu'elles sont abandonnées, en raison de leur décomposition lente et de leur contribution à l'émission de méthane (Kobenan *et al.*, 2023). Les autres résidus solides incluent les résidus fibreux d'extraction de l'amidon et les déchets issus de la production de farine, également caractérisés par une forte teneur en fibres (35-45 %) et en amidon résiduel (8-12 %) (Agritrop & CIRAD, 1994). Les résidus liquides, quant à eux, regroupent plusieurs flux. Ce sont les eaux de lavage chargées en matières organiques, les eaux de pressage contenant des composés cyanogènes, les eaux de vidange des cuves de sédimentation (riches en particules d'amidon) et les liquides

fermentés issus de procédés traditionnels. Ces effluents, souvent rejetés sans traitement, entraînent une pollution hydrique significative (Kobenan *et al.*, 2023).



Figure 4: présentation des sous-produits de manioc
Source : CIRAD, 2023

2.1.2.2. Production mondiale et ivoirienne de manioc

La culture du manioc en Côte d'Ivoire joue un rôle crucial dans la sécurité alimentaire et le développement économique du pays. Sa contribution à la sécurité alimentaire concerne des millions de personnes, en particulier dans les zones rurales, et il fournit des matières premières essentielles pour l'industrie agroalimentaire. En effet, le manioc est la cinquième culture vivrière mondiale après le maïs, le riz, le blé et la pomme de terre (FAOSTAT, 2014). Sa production mondiale est estimée à 26 358 millions de tonnes en 2012 (FAOSTAT, 2014). Selon Enoh (2019), la culture du manioc en Afrique est la plus importante en termes de production de racines tubéreuses et de transformation de ces racines en produits. Avec une production de 5, 087 millions de tonnes, le manioc occupe la deuxième place parmi les cultures vivrières en Côte d'Ivoire, après l'igname en 2016 (FAO, 2018). La production est répartie sur tout le territoire national, avec une zone supérieure au Sud. La rusticité du manioc en fait une culture vivrière et rentable pour les producteurs. Le manioc contribue non seulement à l'alimentation humaine (attiéké, foutou, toh en pâte, farine, fécule, gari, etc.) et animal (N'zue *et al.*, 2021) , mais il est également utilisé dans les produits manufacturés (textile, papier, etc.).

2.1.2.3. Consommation et valorisation

Le manioc nourrit plus de 800 millions de personnes dans le monde et constitue un pilier de la sécurité alimentaire en Afrique subsaharienne, où il représente 37 % des apports caloriques quotidiens (FAO, 2022). En Côte d'Ivoire, sa production annuelle avoisine 5 millions de

tonnes (DGDDI, 2022), générant 450 000 à 600 000 tonnes de résidus solides (épluchures, fibres) et 1,2 million de m³ d'effluents liquides (eaux de lavage, pressage). Ces résidus, s'ils ne sont pas valorisés, posent des risques environnementaux majeurs.

À l'échelle mondiale, la gestion des résidus du manioc évolue vers une bioéconomie circulaire. En Amérique latine, le traitement des déchets liquides et solides se fait par fermentation anaérobie pour produire du biogaz et du biocompost, ou des métabolites et aliments enrichis pour l'alimentation animale (Agritrop & CIRAD, 1994). En Thaïlande, les effluents liquides sont traités via des bioréacteurs à membranes pour récupérer l'amidon résiduel (12-15 % de la charge initiale), tandis que les fibres servent à produire des emballages biodégradables.

En Côte d'Ivoire, la valorisation reste embryonnaire mais progresse. Une étude menée à Yamoussoukro révèle que 65 % des épluchures sont utilisées dans l'alimentation animale (porcs à 45 %, bovins à 30 %, petits ruminants à 25 %), contribuant à réduire de 20 % les coûts d'alimentation des éleveurs (Kobenan *et al.*, 2023).

2.1.3. Cas du maïs

Le maïs est une céréale herbacée annuelle de hauteur variable pouvant atteindre 5 m (Escalante *et al.*, 2012) à tallage faible, voire nul. Il présente une large diversité morphologique selon les variétés maïs, celles couramment cultivées ont une taille variable de 1 à 3 m (Escalante *et al.*, 2012). C'est une céréale dont la culture se pratique dans toutes les régions agricoles du monde. Elle constitue l'une des céréales les plus importantes utilisées dans l'alimentation humaine (Figure 5).



Figure 5 : présentation du maïs
Source : CNRA, 2017

2.1.3.1. Potentiel de la biomasse issue du maïs

Les résidus du maïs (tiges, feuilles, rafles et glumes) représentent une ressource sous-exploitée malgré leur potentiel agro-écologique et économique. Dans les pays de l'UEMOA, 40 à 60 % de ces résidus sont traditionnellement réutilisés, principalement pour l'amendement des sols et l'alimentation animale, selon une étude de Koulibaly *et al.* (2010). Les tiges de maïs, riches en cellulose (35-45 %) et en lignine (15-20 %), sont progressivement intégrées dans des filières innovantes.

Concernant les pertes post-récolte, les maïs subissent jusqu'à 20 % de déchets évitables lors des étapes de manipulation, selon les données disponibles. Cependant, ce chiffre reflète une estimation globale des pertes de grains, et non une quantification spécifique des différents types de résidus en proportion de la biomasse totale (Rapport Final de Benchmark, 2022). La tige, les rafles, etc. forment les résidus du maïs (Figure 6). Néanmoins, réduire de moitié ces pertes permettrait d'optimiser l'usage des ressources et d'augmenter la production de maïs de 10 %, soulignant l'impact économique d'une meilleure gestion.



Figure 6: présentation des rafles de maïs
Source : CNRA, 2017

2.1.3.2. Production mondiale et ivoirienne de maïs

La production mondiale de maïs a atteint un niveau record en 2023, avec une production estimée à 2 836 millions de tonnes, soit une augmentation de 1,2 % par rapport au niveau de 2022 (FAO, 2023). La production de maïs représente environ 200 millions d'hectares dans le monde. Dans la plupart des pays de l'Afrique de l'Ouest, le maïs constitue la base du régime alimentaire des populations rurales. La culture du maïs est la plus répandue en Côte d'Ivoire, après celle du riz, avec une production moyenne annuelle d'environ 840 000 tonnes (CNRA, 2017). Il est utilisé pour l'alimentation humaine et animale (volailles, porcins, bovins). Dans certaines industries telles que la brasserie, la savonnerie et l'huilerie, il est utilisé comme

matière première (Boone *et al.*, 2008). C'est la céréale la plus énergétique (Semassa *et al.*, 2016), en raison de ses atouts nutritifs et la plus économique du point de vue de la production (culture simple à produire, à récolter et à stocker) (Nuss & Tanumihardjo, 2011).

Le maïs est une plante très polyvalente dont plusieurs parties peuvent être valorisées (FAO, 2023). Il s'agit :

- des tiges et des rafles : ces parties de la plante sont souvent utilisées comme biomasse pour l'alimentation animale, la production d'énergie notamment le biogaz ;
- des sons : résidus de la mouture, souvent utilisés dans l'alimentation animale.

2.1.3.3. Consommation et valorisation

Les résidus du maïs ont un potentiel établi dans les usages traditionnels pour l'amélioration des sols (compost, fumier) et l'alimentation animale (fourrage) (Rapport Final de Benchmark, 2022). Ils représentent également un potentiel significatif, bien qu'encore peu exploité formellement, pour la production d'énergie (biogaz, électricité, chaleur), notamment dans le cadre de la valorisation des déchets organiques agricoles par méthanisation, avec la production associée d'engrais (Rapport Final de Benchmark, 2022).

Les pays de l'UEMOA génèrent d'importantes quantités de déchets agricoles et agro-industriels avec un potentiel énergétique énorme, bien que son niveau d'exploitation soit encore insignifiant. Les rafles sont transformées en charbon écologique par pyrolyse lente, réduisant la pression sur les forêts dans des régions comme le Nord ivoirien, où la déforestation demeure un problème majeur (Gagnon & Ziadi, 2012).

L'alimentation animale reste cependant le débouché dominant. Les feuilles et glumes, avec une teneur en protéines brutes de 6-8 %, complètent efficacement les rations des ruminants. Le concept de « maïs à double usage » où les variétés sont sélectionnées pour leurs grains et leur biomasse fourragère gagne du terrain (Harold & Tabo, 2015).

En Côte d'Ivoire, où le maïs couvre 1,2 million d'hectares, un projet pilote à Korhogo valorise les résidus en litière fermentée pour volailles, réduisant les pathogènes de 70 % tout en générant un compost riche en azote (CNRA, 2017).

2.1.4. Cas du riz

Dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées chaudes, on cultive le riz (Figure 7), une céréale de la famille des Poacées, en raison de son fruit, le caryopse, qui est riche en amidon (Goyon & Mestres, 2017) . Il fait référence à toutes les plantes du genre *Oryza*, à l'exception des deux espèces qui sont principalement cultivées dans les champs plus ou moins inondés appelés rizières (Goyon & Mestres, 2017).



Figure 7 : présentation du riz
Source : Goyon & Mestres, 2017

2.1.4.1. Potentiel de la biomasse issue du riz

Les résidus de riz se classent en différentes catégories selon leur origine, qu'il s'agisse des champs après récolte ou des processus post-récolte comme le décorticage et l'usinage (Medina *et al.*, 2015). Parmi eux, la balle de riz, une enveloppe externe du grain de riz paddy se distingue par son abondance. Représentant environ 20 % du riz paddy (Goyon & Mestres, 2017), elle est principalement composée de silice, ce qui la rend impropre à la consommation humaine. Le riz paddy est tout d'abord décortiqué pour obtenir le riz brun, appelé également riz cargo ou riz complet comme indiqué sur la Figure 8. Après décorticage, cette balle constitue près de 90 % des résidus générés (Aman *et al.*, 2022), avec une production mondiale estimée à 137 millions de tonnes annuelles (Medina *et al.*, 2015), ce qui en fait l'un des résidus agricoles les plus massifs à l'échelle mondiale.

En ce qui concerne le son de riz, il provient des couches externes du grain brun, éliminées lors du polissage pour obtenir le riz blanc. Constitué de plusieurs couches que sont le péricarpe (1 à 2 %), nucelle, couche à aleurone (4 à 6 %) et embryon (2 à 3 %) (Goyon & Mestres, 2017), ce résidu se caractérise par sa richesse en matières grasses (15 à 20 %) et en micronutriments. En effet, le son concentre davantage de vitamines et minéraux que les autres fractions du grain, ce qui en fait un sous-produit à haute valeur nutritive malgré son statut de déchet (Goyon & Mestres, 2017).

En revanche, la paille de riz, bien que moins détaillée dans la littérature, représente un résidu majeur à l'échelle mondiale. Elle constitue 15,7 % des résidus combinés de maïs, blé et riz

(Medina *et al.*, 2015). En Afrique, sa production annuelle atteint 24,5 millions de tonnes (Medina *et al.*, 2015), soulignant son importance dans les systèmes agricoles régionaux.



Figure 8: différents types de riz et procédés d'obtention
Source : Goyon & Mestres, 2017

En fonction de l'origine botanique et de sa transformation, la composition nutritionnelle des différentes fractions du riz diffère. La composition nutritionnelle de la balle est comparée à celle du riz blanc et du son de riz dans le Tableau II (Champagne *et al.*, 2004).

Tableau II: composition moyenne (%) des fractions organiques de la balle et de ses fractions de broyage à 14 % d'humidité

Nutriments (%)	Balle	Son	Riz blanc
Protéines	4,3-18,2	11,3-14,9	4,5-10,5
Lipides	1,6-2,8	15,0-19,7	0,3-0,5
Fibres insolubles	0,6-1,0	7,0-11,4	0,2-0,5
glucides	73-87	34-62	77-89
Amidon	66,4	13,8	77,6
Calcium	0,1-0,5	0,3-1,2	0,1-0,3
Magnésium	0,2-1,5	5-13	0,2-0,5
Phosphore	1,7-4,3	11-25	0,8-1,5
Potassium	0,6-1,4	10-20	0,7-1,3
Soufre	0,3-1,9	1,7	0,8

Source : Champagne *et al.*, 2004

2.1.4.2. Production mondiale et ivoirienne de riz

À l'échelle mondiale, le riz est l'aliment de base. Il est indispensable en Afrique de l'ouest en tant que denrée alimentaire. En Côte d'Ivoire, la riziculture est la 4^{ème} culture la plus répandue juste après l'igname, le manioc et la banane plantain (Boraud *et al.*, 2015). Selon Ouédraogo (2021), la quantité de paddy produite était de 1,7 million de tonnes en 2022 contre 1,6 million de tonnes en 2021. En Côte d'Ivoire, le riz occupe la première place en termes de consommation soit plus de 60 kg/hab/an (Boraud *et al.*, 2015). De ce fait, la production de riz génère une quantité importante de déchets, principalement sous forme de balles de riz évalué à 423 722 tonnes de déchets produits et la paille à 2 118 610 tonnes (GIZ, 2020). Ces déchets autrefois considérés comme sans valeur, sont maintenant reconnus pour leur potentiel de valorisation dans diverses applications. Les cosses de riz et les pailles par exemple sont transformées en biocarburant ou en intrant agricole, créant de la richesse dans plusieurs secteurs économiques (GIZ, 2020). Cependant, malgré ces avancées, il reste encore beaucoup à faire pour optimiser la gestion et la valorisation des déchets de riz en Côte d'Ivoire.

2.1.4.3. Consommation et valorisation

Les résidus de riz (paille, balle et son) offrent des potentialités de valorisation diversifiées, intégrant à la fois des pratiques ancestrales et des innovations modernes. Dans le domaine agricole, ces résidus sont traditionnellement réutilisés pour l'amendement des sols. Le son et

la balle, par exemple, entrent dans la composition de composts améliorant la fertilité, comme le démontre une étude sur le maïs où le recyclage des résidus a accru les rendements de 45 à 60 % (Koulibaly *et al.*, 2010). La cendre de balle, riche à 94,1 % en silice, sert également de fertilisant naturel, renforçant la structure des sols (Aman *et al.*, 2022). Parallèlement, l'alimentation animale constitue un débouché majeur. La paille de riz complète les rations fourragères, tandis que le son, avec sa teneur élevée en matières grasses (15-20 %), est utilisé comme aliment et litière en aviculture, porciculture et même en pisciculture (Aman *et al.*, 2022).

Sur le plan énergétique, ces résidus se révèlent stratégiques. La balle de riz, notamment, est transformée en électricité via des gazéificateurs, comme en témoigne une rizerie sénégalaise produisant 100 kW d'électricité (Rapport Final de Benchmark, 2022). Cette même balle peut être pelletée en briquettes de charbon, offrant une alternative au bois de chauffe. Cependant, son utilisation domestique comme combustible reste marginale (1-4 % en Côte d'Ivoire) en raison des fumées générées. Les sous-produits énergétiques, tels que les cendres issues de la combustion, trouvent quant à eux des débouchés dans l'industrie du ciment ou comme amendements minéraux (Rapport Final de Benchmark, 2022).

Au-delà de ces applications, les résidus de riz se prêtent à des usages innovants. La balle, par exemple, entre dans la fabrication de matériaux de construction (blocs de béton légers, paillage d'habitations) ou sert à protéger les stocks de riz contre les insectes ravageurs. De plus, transformée en biocharbon, elle contribue à la séquestration du carbone. Enfin, dans les ménages, bien que peu répandu, son usage comme garniture de coussins ou combustible d'appoint illustre sa polyvalence, malgré les défis techniques persistants (Aman *et al.*, 2022).

2.2. Fruits

Les fruits sont une grande source de vitamines et de minéraux (Yaouba & Mpounze, 2017). On estime que la production fruitière mondiale est de 92 millions de tonnes. En Côte d'Ivoire, les fruits font partie intégrante de l'économie nationale. Dans cette étude, trois espèces fruitières seront analysées. Il s'agit de l'anacarde, l'ananas et la mangue.

2.2.1. Cas de l'anacarde

Dans les régions tropicales, l'anacardier est un arbre rustique qui peut supporter des températures allant de 20 à 36 °C, ce qui lui permet de bien se développer. La noix et la pomme de cajou sont produites par l'anacardier (Figure 9). Sa culture est principalement axée sur la récolte de son fruit, qui est constitué d'un "faux-fruit" ou "pomme de cajou", et d'une noix à la coque dure renfermant l'amande. C'est la noix de cajou qui se développe en premier.

Son poids diminue car elle perd de l'humidité, ce qui la fait rétrécir et durcir jusqu'à représenter environ 10 % du poids total du fruit complet. (Kouassi, 2018).



Figure 9: présentation de l'anacarde
Source : Lebailly *et al.*, 2023

2.2.1.1. Potentiel de la biomasse issue de l'anacarde

En ce qui concerne les variétés, il n'existe pas encore de variétés améliorées spécifiques en Côte d'Ivoire (Lebailly *et al.*, 2023). Cependant, avec les nouvelles variétés améliorées (jaune et rouge), la qualité et la quantité de la production de l'anacarde sont devenues meilleures. L'anacarde est un aliment nutritif avec une composition riche. Le Tableau III présente la composition nutritionnelle pour 100 g de pomme de cajou.

Tableau III: composition nutritionnelle de la pomme de cajou

Constituants	Pomme de cajou
Glucides (g/100 g)	11,6
Lipides (g/100 g)	1,31
Fibre (g/100 g)	1
Cendre (g/100 g)	0,27
Calcium (mg/100 g)	12
Magnésium (mg/100 g)	110,2
Potassium (mg/100 g)	1060,67
Cuivre (mg/100 g)	1,14
Phosphore (mg/100 g)	144,1
zinc (mg/100 g)	1,08

Source : Ndiaye *et al.*, 2022

2.2.1.2. Production mondiale et ivoirienne de l'anacarde

Le marché de l'anacarde à l'échelle mondiale est encore peu développé et se concentre principalement sur la noix. Dans presque tous les pays producteurs, les noix sont récoltées comme fruit principal, tandis que les pommes de cajou sont abandonnées dans les champs, voire jetées comme déchets (Das & Arora, 2017). Selon les statistiques de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAOSTAT, 2014) pour l'année 2014, le Nigéria, l'Inde, la Côte d'Ivoire, le Viêt Nam, le Bénin et les Philippines sont considérés comme les principaux pays producteurs de noix de cajou. La Côte d'Ivoire a réalisé des percées significatives dans la production africaine et mondiale, devenant le premier producteur et exportateur mondial de noix de cajou depuis 2015, avec plus de 700 000 tonnes de noix de cajou produites (ARECA, 2023; Lebailly *et al.*, 2023).

2.2.1.3. Consommation et valorisation

La filière doit relever un grand défi en transformant la noix de cajou. En effet, selon Konan & Ricau (2010), la transformation en Côte d'Ivoire ne représentait qu'une faible part de la production nationale, soit moins de 1 %. Les chiffres de la transformation nationale de l'année 2014, publiés par l'unité de régulation de la filière en 2016, sont de 6,3 % (GIZ, 2020). Du point de vue de plusieurs experts, la capacité de transformation locale restera très limitée encore dans les années à venir et peu compétitive sur le marché international. Cette tendance a pour conséquence la dépendance de la filière à la demande indienne et vietnamienne.

Toutefois, si la filière peut se vanter que la valorisation des noix a atteint 6,3 %, on ne peut pas en dire autant des pommes de cajou. Les valorisations de ces dernières sont quasiment inexistantes (Abreu *et al.*, 2005). En 2015, plus de 7 millions de tonnes de pommes de cajou ont été récoltées sans aucune valorisation (Kouassi, 2018). Les industries de jus de fruits restent impuissantes devant la phobie et le scepticisme de la population à la consommation de jus de pomme de cajou. Ainsi, chaque année, des millions de pommes restent dans les champs sans aucune valorisation.

2.2.2. Cas de l'ananas

On qualifie l'ananas de plante herbacée vivace tropicale et monocotylédone. Originaire d'Amérique latine, la hauteur et la largeur de la plante sont d'environ 1 à 2 mètres. Ses feuilles sont disposées en spirale et portent aux extrémités terminales des fleurs qui produisent ensuite des fruits comestibles (Figure 10). La tige en son centre mesure environ 25 à 50 cm de long. Les feuilles d'un plant d'ananas mature mesurent entre 60 et 80 cm, et elles sont toutes en forme d'épée (Wali, 2019). L'ananas est principalement cultivé dans les régions tropicales et subtropicales en raison des températures se situant entre 20 et 35 °C et de la répartition des précipitations. La culture peut porter des fruits à un stade précoce après la floraison, permettant une production de rendement tout au long de l'année (Shamsudin *et al.*, 2020).



Figure 10: présentation de l'ananas
Source : Wali, 2019

2.2.2.1. Potentiel de la biomasse issue de l'ananas

Les résidus issus de la transformation de l'ananas proviennent principalement du fruit lui-même et de certaines parties de la plante. Parmi eux, les peaux (ou épluchures) constituent l'un des déchets les plus étudiés, souvent mentionnés sous l'appellation "*pineapple peel*" dans la littérature scientifique comme substrat prometteur pour diverses valorisations (Kouassi *et al.*, 2017). Par ailleurs, les effluents liquides générés lors de la production de jus tels que ceux traités par une entreprise spécialisée représentent une source notable de résidus, riches en sucres résiduels et en composés organiques (Vipul *et al.*, 2019).

Les sous-produits de transformation, plus généraux, incluent également des fragments de pulpe non utilisés ou des rebuts de calibration. En outre, d'autres parties végétales sont identifiées comme résidus potentiels : la couronne (partie supérieure du fruit), la tige souvent ignorée après récolte et les feuilles, bien que ces dernières fassent l'objet de moins d'études (Maimunah *et al.*, 2020).

2.2.2.2. Production mondiale et ivoirienne de l'ananas

L'ananas est la troisième culture fruitière tropicale la plus importante, après la banane et les agrumes (Maimunah *et al.*, 2020). Selon les statistiques de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), la production mondiale d'ananas est passée de 15,3 millions de tonnes en 2004 à 3,1 millions de tonnes en 2020 (FAO, 2022).

En Côte d'Ivoire, la production nationale d'ananas est passée de 238 000 tonnes en 2000 à 50 000 tonnes en 2022 (PCCET, 2022) soit une baisse de 188 000 tonnes. La Côte d'Ivoire est classée deuxième pays exportateur d'ananas en Afrique derrière le Ghana (PCCET, 2022). L'ananas disponible sur les marchés d'Abidjan provient essentiellement des régions suivantes : le Sud comoé, les Lagunes et l'Agnéby. L'ananas est principalement cultivé pour son fruit ; il est populaire dans différentes cuisines et dans l'industrie alimentaire en raison de son goût délicieux (Wali, 2019). Les produits transformés à base d'ananas sont principalement des tranches en boîtes, des boissons, des tranches déshydratées, des tranches congelées et de la confiture. Le noyau du fruit est également utilisé pour préparer des bonbons. Les ananas transformés sont consommés dans le monde entier et les industries de transformation testent ou utilisent de nouvelles technologies pour conserver la qualité nutritionnelle du fruit (Vipul *et al.*, 2019). Les industries alimentaires ont été intéressées par l'ajout de l'ananas dans divers produits alimentaires en raison de sa valeur nutritionnelle élevée et de sa composition chimique abondante. De plus, la production et la consommation d'ananas produisent un grand volume de déchets solides, ce qui contribue à la possibilité de traitement de déchets précieux.

Environ 25 % du poids total de l'ananas est constitué de déchets de fruits, y compris la couronne supérieure qui produit près de 3 milliards de tonnes de sous-produits par an (Prado & Spinacé, 2019).

2.2.2.3. Consommation et valorisation

Malgré les progrès technologiques réalisés dans l'industrie de l'ananas ces dernières années, plusieurs parties de l'ananas, notamment la couronne, le noyau et la peau, sont toujours jetées, même si ces parties du fruit peuvent être potentiellement commercialisées à des fins économiques.

La valorisation des résidus d'ananas englobe des approches variées, allant du compostage à la production de biomatériaux (Maimunah *et al.*, 2020). Premièrement, le compostage des effluents de jus est pratiqué par certaines entreprises, qui redistribuent ensuite le compost aux producteurs (Maimunah *et al.*, 2020). Parallèlement, ces résidus constituent une source précieuse de composés bénéfiques : la balle d'ananas fournit des fibres alimentaires, tandis que les effluents et les peaux renferment des sucres, vitamines, facteurs de croissance et antioxydants (Vipul *et al.*, 2019).

Dans le domaine agroalimentaire, les peaux sont transformées en vinaigre, et certaines parties du fruit pourraient être utilisées pour produire de la poudre d'ananas, élargissant ainsi les débouchés commerciaux (Maimunah *et al.*, 2020). Sur le plan industriel, des innovations émergent : les déchets de couronne permettent d'extraire des nanocristaux de cellulose, et les tiges, jusqu'alors négligées, sont exploitées pour isoler de l'amidon, ouvrant la voie à des applications en science des matériaux (Maimunah *et al.*, 2020).

2.2.3. Cas de la mangue

La mangue (*Mangifera indica*) est originaire de l'Asie du Sud-Est (Figure 11). C'est un arbre largement répandu dans les régions tropicales et subtropicales mais aussi dans les régions tempérées du bassin méditerranéen (Wafaa *et al.*, 2021). La mangue est un fruit climactérique, c'est-à-dire que son processus de maturation se poursuit après rupture du lien du fruit avec l'arbre mère.



Figure 11: présentation de la mangue
Source : FAOSTAT, 2020

2.2.3.1. Potentiel de la biomasse issue de la mangue

Les résidus de la filière mangue, générés à toutes les étapes de sa chaîne de valeur, se répartissent en plusieurs catégories. Premièrement, les peaux riches en pectine et composés antioxydants peuvent être transformées en gelée, vinaigre ou acide citrique via fermentation microbienne (Kanté, 2020). Deuxièmement, les noyaux, représentant 2 à 10 % du poids du fruit, contiennent une amande aux teneurs notables en protéines (6-8,5 %), matières grasses (8-12 %) et amidon, tandis que la pulpe résiduelle adhérant au noyau après dénoyautage constitue un autre flux de déchets (Kanté, 2020). Par ailleurs, les mangues avariées dues à leur périssabilité et aux aléas logistiques (transport, coupures d'électricité) forment une part majeure des résidus, tout comme les volumes non vendus ou déclassés à l'exportation (Kanté, 2020).

Au niveau de la transformation, ces résidus atteignent des proportions critiques : 65 à 94 % des mangues fraîches entrants se transforment en déchets (Pugnet, 2018). Par exemple, produire 2 kg de mangue séchée nécessite 35 kg de fruits frais, générant 33 kg de sous-produits. Plus précisément, les unités de transformation génèrent 18,2 % de déchets lors de la production de jus, avec une répartition typique de 42 % pour les peaux/noyaux, 34 % pour les fruits avariés et 18 % pour les pourritures (Pugnet, 2018).

En amont, lors de la production agricole, environ 15 % des mangues sont perdues annuellement. À l'exportation, 30 % des lots sont déclassés (mangues entières non conformes) (Figure 12), auxquels s'ajoutent 25 % d'épluchures et 25 % de cœurs (noyaux et pulpe) (N'Guettia *et al.*, 2014). En aval, la consommation locale génère 22 % de déchets (peaux, noyaux, invendus), souvent abandonnés sans traitement, aggravant les problèmes sanitaires et environnementaux.

Globalement, la filière ivoirienne produit entre 63 000 tonnes et plusieurs centaines de milliers de tonnes de résidus annuels, soulignant l'urgence de stratégies de valorisation intégrées pour transformer ces « déchets » en ressources au service d'une économie circulaire durable (GIZ, 2020).



Figure 12: présentation des mangues classées hors circuit commercial
Source : N'Guettia *et al.*, 2014

2.2.3.2. Production mondiale et ivoirienne de la mangue

Plusieurs régions du monde présentent des conditions écologiques favorables au développement du manguier. Selon Vipul *et al.* (2019), la mangue est la deuxième culture fruitière tropicale la plus importante, après la banane (les agrumes étant considérés comme principalement subtropicaux). Sa culture représente plus de 50 % du volume des fruits tropicaux cultivés à travers le monde en 2017 (FAOSTAT, 2020). En termes de distribution, il a été estimé en 2017 que 75 % de la production mondiale de mangue proviennent d'Asie, 15 % d'Afrique et 10 % d'Amérique latine et les Caraïbes (FAOSTAT, 2020). Cette production a doublé en 30 ans pour atteindre 48 361 millions de tonnes en 2017 (FAOSTAT, 2020). L'Inde demeure le premier pays producteur mondial de mangue avec une participation d'environ 41 % de la production mondiale. En Afrique de l'Ouest, plus précisément dans les pays membres de la CEDEAO, la production de la mangue est estimée à 1,5 millions de tonnes par an et représente un peu moins de 4 % de la production mondiale (Trade hub, 2017). La production ivoirienne de mangue a été principalement destinée à la consommation locale jusqu'au début des années 1990. La Côte d'Ivoire est le troisième fournisseur de mangue sur le marché européen, loin devant les autres pays d'Afrique de l'Ouest (Pugnet, 2018). Cette origine a connu des exportations record en 2016 et 2017, avec plus de 30 000 tonnes expédiées en Europe.

Représentant 4 % du PIB ivoirien, la mangue est le troisième fruit exporté par le pays derrière la banane et l'ananas (Pugnet, 2018). La production de mangue est principalement située dans la zone nord du pays, couvrant les régions de la Bagoué, du Poro, du Tchologo et du Hambol (Pugnet, 2018). Les produits issus de la transformation de la mangue sont les jus, la purée de mangue et la mangue séchée. Pendant les récoltes, les quantités de mangues disponibles sur les marchés sont importantes, ce qui entraîne des méventes et des pertes post-récolte considérables. Les pertes post-récolte varient entre 50 % et 85 %, selon la localité, la saison et les variétés de mangues (N'Guettia *et al.*, 2014) . De plus, les peaux et les noyaux des mangues ne sont pas utilisés par les industries de transformation de la mangue générant des pertes post-transformation et consommation à 63 000 tonnes (GIZ, 2020). Il est donc essentiel de valoriser les sous-produits de la mangue.

2.2.3.3. Consommation et valorisation

Les résidus de mangue offrent des voies de valorisation multiples, structurées autour de leurs composants clés. Concernant la peau, riche en pectine et en fibres comestibles, plusieurs applications émergentes à savoir une gelée nutritive peut être extraite (Kanté, 2020). Aussi, la fermentation microbienne à partir des peaux, permet de produire du vinaigre (5,2 % d'acide acétique) et de l'acide citrique (20 g/kg de peau), bien que les rendements restent modérés comparés à d'autres fruits (Kouassi *et al.*, 2017). Parallèlement, sa teneur en composés bioactifs (antioxydants, nutriments) justifie des recherches approfondies pour en exploiter pleinement le potentiel. Le noyau et son amande présentent quant à eux une composition prometteuse. L'amande contient 6-8,5 % de protéines, 8-12 % de matières grasses et 32 % d'hydrates de carbone, ouvrant la voie à l'extraction d'huile pour l'industrie cosmétique et d'amidon pour l'alimentation (Kanté, 2020). Cependant, une caractérisation plus poussée des tanins (0,39 %) et autres composés est nécessaire pour optimiser ces utilisations.

La pulpe résiduelle et les fruits déclassés trouvent des débouchés dans l'alimentation animale, notamment pour les porcs, grâce à leur richesse en β -carotène, vitamine C et polyphénols. De plus, ces résidus, ainsi que les jus résiduels, peuvent être compostés, bouclant ainsi le cycle nutritif. Enfin, bien qu'encore embryonnaire, la valorisation énergétique via la méthanisation ou la production d'acide citrique par bioconversion illustre le potentiel des déchets organiques de mangue dans une logique de bioraffinerie (GIZ, 2020).

En résumé, peaux, noyaux, pulpe et fruits avariés représentent un gisement sous-exploité, dont la transformation en gelées, huiles, aliments pour bétail ou compost pourrait générer des retombées économiques et environnementales significatives.

3. MICROORGANISMES DE CHOIX POUR LA PRODUCTION D'ACIDE CITRIQUE

La synthèse chimique de l'acide citrique a été inventée pour la première fois par Grimoux et Adam en 1880, en utilisant le glycérol comme matière première (Upton, 2017). La production microbienne d'acide citrique est devenue industriellement importante lorsque les exportations italiennes d'agrumes ont cessé en raison de la première guerre mondiale. Alors que son importance commerciale augmentait de manière inattendue, la production par procédé chimique a été remplacée par d'autres voies de production telles que la fermentation (Behera, 2020). Par conséquent, la fermentation microbienne est devenue suffisamment compétitive sur le plan économique et constitue le choix de la fermentation commerciale de l'acide citrique par rapport à la synthèse chimique (Behera, 2020). Une diversité de microbes a donc été employée dans le domaine industriel afin de fabriquer de l'acide citrique à l'échelle commerciale. La majorité d'entre eux, pourtant, ne peuvent pas générer des bénéfices commercialement acceptables en raison du fait que l'acide citrique est un produit du métabolisme énergétique et que son amoncellement ne se produit qu'en quantités considérables dans des situations de déséquilibre majeur (Socol *et al.*, 2006). De nouvelles souches génétiquement modifiées avec les progrès de la biotechnologie sont apparues, ainsi que l'amélioration de celles déjà existantes par mutagenèse qui optimisent la production d'acide citrique. Bien qu'il ait été observé qu'un grand nombre de micro-organismes, notamment des bactéries, des champignons et des levures, produisent de l'acide citrique, la plupart d'entre eux ne sont pas capables de produire des rendements commercialement acceptables (Behera, 2020).

3.1. Bactéries

Les bactéries sont des organismes unicellulaires, procaryotes qui se reproduisent de manière asexuée (Thompson & Kaplan, 2012). Il existe environ 10 000 espèces connues (Demeulenaere & Lallier, 2024), mais la diversité réelle du groupe est probablement supérieure. L'estimation du nombre des espèces oscillerait entre 5 et 10 millions (Sogin *et al.*, 2006). La majorité de ces bactéries ne présentent aucun danger ou sont bénéfiques pour l'organisme. En effet, ceux-ci peuvent être bénéfiques à l'humain lors des processus de traitement des eaux usées, dans le secteur agroalimentaire, et dans la production industrielle de nombreux composés chimiques (Ishige *et al.*, 2005). Quelques bactéries utilisées pour la production de l'acide citrique sont mentionnées dans le Tableau IV.

Tableau IV: quelques bactéries productrices d'acide citrique

Bactéries	Références
<i>Corynebacterium</i> sp.	Porto de Souza, 2000
<i>Bacillus licheniformis</i>	Kristiansen <i>et al.</i> , 1998
<i>Arthrobacter paraffinens</i>	Anastassiadis <i>et al.</i> , 2008; Angumeenal & Venkappayya, 2013
<i>Acetobacter xylinum</i>	Lu <i>et al.</i> , 2016

3.2. Champignons

Les champignons constituent un ordre à part entière appartenant aux eucaryotes. Ils peuvent être unicellulaires (levures) ou pluricellulaires (moisissures), qui ont une structure plus complexe (Trueb *et al.*, 2013). Différents types de levures et de moisissures sont utilisés dans les industries pour la production commerciale d'acide citrique à partir de n-alcanes et d'hydrates de carbone (Weyda *et al.*, 2014; Sawant *et al.*, 2018). Le problème de la production d'acide citrique par les levures est la formation simultanée d'acide iso-citrique, qui est un sous-produit indésirable ; par conséquent, des souches mutantes ayant une aconitase sont donc nécessaires (Show *et al.*, 2015). Quelques champignons produisant l'acide citrique sont mentionnés dans le Tableau V.

Tableau V: quelques champignons producteurs d'acide citrique

Champignons	Références
Levures	
<i>Candida guilliermondii</i>	Yadav <i>et al.</i> , 2021
<i>Candida parapsilosis</i>	Yadav <i>et al.</i> , 2021
<i>Hansenula anamola</i>	Grewal & Kalra, 1995
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Cavallo <i>et al.</i> , 2017; Morgunov <i>et al.</i> , 2018
<i>Yarrowia lipolytica</i> W29 (ATCC 20460)	Ferreira <i>et al.</i> , 2016
Moisissures	
<i>Aspergillus niger</i>	Wang <i>et al.</i> , 2017
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16888 TM	Chergui <i>et al.</i> , 2021
<i>Aspergillus foetidus</i>	Tran <i>et al.</i> , 1998
<i>Penicillium oxalicum</i>	Li <i>et al.</i> , 2016

3.2.1. Genre *Aspergillus*

Il s'agit de champignons saprophytes, qui se nourrissent de matières organiques putrescentes. Ces derniers sont des moisissures cloisonnées, à filaments hyalins, haploïdes (Quatresous, 2011). C'est une moisissure filamenteuse, elle peut être trouvée dans l'environnement sous forme de mycélium septé et ramifié (Figure 13). Ils se développent généralement rapidement sur les milieux de culture courants et leurs colonies sont composées de courts filaments aériens blancs après 48 heures. Après 96 heures, les colonies ont leur couleur typique (marron, vert, jaune ou noir) selon les espèces. De nombreuses espèces de *Aspergillus* prospèrent entre 22 et 25 °C, cependant, les espèces thermophiles (comme *A. fumigatus*) ont une température de croissance de 37 à 40 °C, voire 57 °C (Tabuc, 2007). Le genre *Aspergillus* a été choisi pour sa capacité à produire l'acide citrique. De plus, il est facile à manipuler, peut fermenter diverses matières premières bon marché et offre des rendements élevés. Il est supérieur aux autres micro-organismes pour la synthèse commerciale de l'acide citrique en raison de son meilleur rendement de production (Show *et al.*, 2015).

Le genre *Aspergillus* compte actuellement 185 espèces, dont environ une vingtaine est impliquée en pathologie humaine. Ces champignons ont un métabolisme aérobie et participent au recyclage du carbone et de l'azote dans l'environnement. Ainsi, *Aspergillus* peut être retrouvé dans divers environnements, aussi bien dans l'atmosphère que dans les produits et même sur les vêtements (Zounia, 2019). Ces champignons résilients sont thermophiles, c'est-à-dire qu'ils peuvent résister à des températures élevées allant jusqu'à 70 °C, et ils ne sont pas pointilleux quant à leur source de nutriments (Quatresous, 2011).

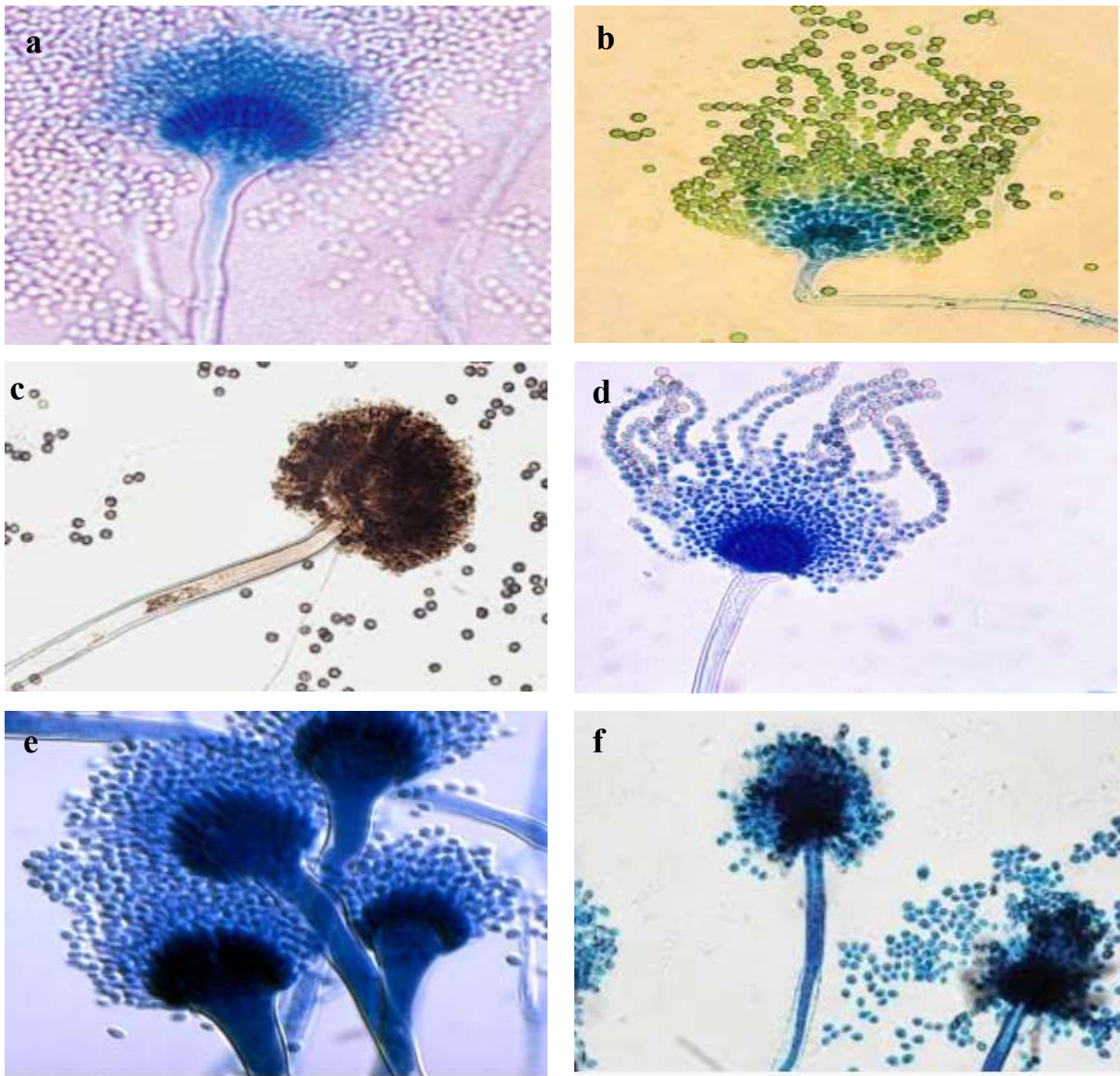


Figure 13: photographie de quelques *Aspergillus*
 (a)-*Aspergillus terreus* (x 800), (b)- *Aspergillus parasiticus* (x1600), (c)- *Aspergillus niger*
 (x400) (d)-*Aspergillus flavus* (x 400) (e)- *Aspergillus fumigatus* (x 400) (f)-*Aspergillus*
nidulans (x 400)

Source : Tabuc, 2007

3.2.1.1. Espèce *Aspergillus niger*

Aspergillus niger (*A.niger*) est considéré comme un producteur d'acide citrique par la *Food and Drug Administration* (FDA) (Schuster *et al.*, 2002). C'est une moisissure qui se développe dans l'air, sur les substances organiques, dans la nature, notamment dans le sol, le compost et les matières végétales en putréfaction (Figure 14). Sa plage de température de croissance est de 6 à 47 °C, avec une température typique de 30 à 37 °C (Schuster *et al.*, 2002). Aussi, *A.niger* est capable de se développer dans une large gamme de valeurs de pH, de 1,4 à 9,8. Sa capacité à produire de grandes quantités de conidies, libérées par l'air, assure sa présence constante,

notamment dans les zones chaudes et humides (Schuster *et al.*, 2002). Le champignon *A. niger* est resté l'organisme de choix pour la production commerciale en raison de plusieurs facteurs tels que ses puissants systèmes enzymatiques de dégradation des polymères pour hydrolyser de nombreux substrats polymères, sa capacité à cultiver et à fermenter une grande variété de matières premières agro-industrielles bon marché avec des rendements plus élevés (Papagianni, 2007).

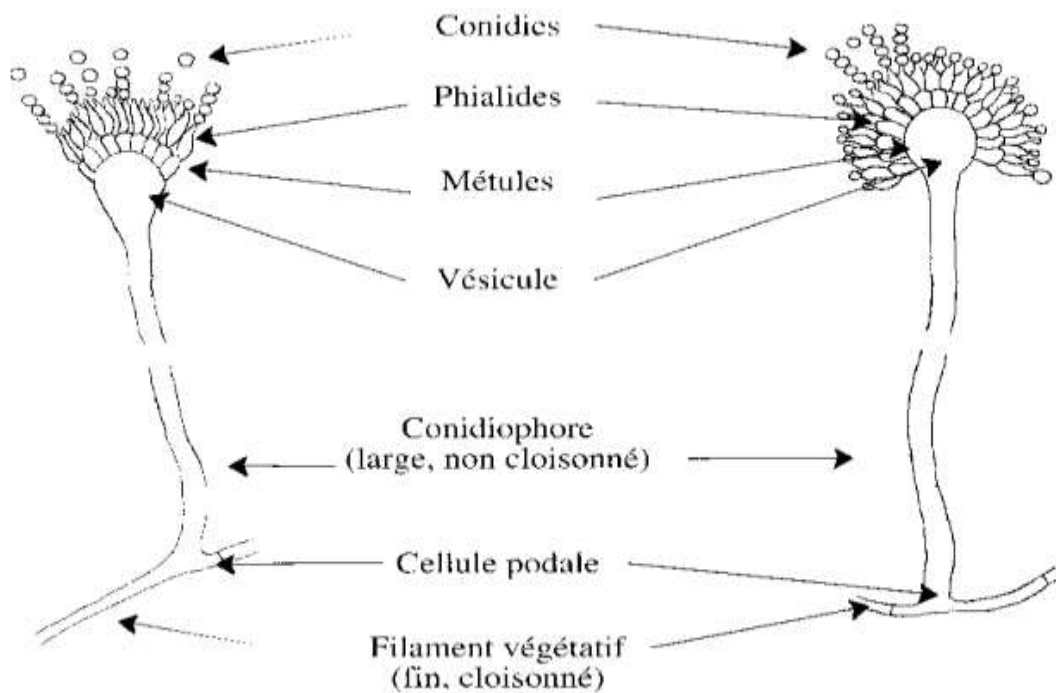


Figure 14: schéma de *Aspergillus niger*
Source : Tabuc, 2007

3.2.1.2. Caractères cultureux

Ce champignon est simple à cultiver sur des milieux comme le milieu Czapek, la gélose dextrose de pomme de terre (PDA) ou la gélose Sabouraud (Tabuc, 2007; Quatresous, 2011). La température optimale de croissance varie généralement entre 25 et 30 °C, et elle peut aller jusqu'à 42 °C (Tabuc, 2007). Les colonies de *A. niger* mettent 3 à 4 jours pour atteindre 3 à 4 cm, le mycélium est complètement hyalin et est immergé dans la gélose. Ils apparaissent d'abord blancs, puis jaunes et enfin noirs en granularité (Figure 15). Le côté opposé des colonies est incolore à jaune et un produit excréteur jaune pâle peut se former en petites quantités (Tabuc, 2007). Le processus de reproduction sexuée chez *A. niger* est inconnu.



Figure 15: culture de *A. niger* sur gélose de Sabouraud âgée de 8 jours
Source : Tabuc, 2007

3.2.1.3. Morphologie microscopique

Il est possible de remarquer dans le microscope (Figure 16), de grosses têtes de conidies, sombres, de couleur rougeâtre comparable au noir, portées par de longs conidiophores (1,5 à 3 mm de long) qui ont une paroi épaisse, lisse et incolore (Tabuc, 2007). La vésicule est sphérique, brune et grande (40 à 70 μm de diamètre). Les phialides sont très compactes et sont insérées dans la vésicule via des métules disposées autour de la circonférence. Les conidies sont libérées en longues chaînes, généralement sphériques, brunâtres et ont un aspect très verruqueux, mesurant 3,5 à 5 μm de diamètre. La coloration des conidies est répartie de manière aléatoire. La tête de *Aspergillus* est sphérique, avec un motif radié et une couleur noire à maturité (Quatresous, 2011). *A. niger* est devenu un organisme industriellement viable produisant de l'acide citrique par fermentation depuis 1919.

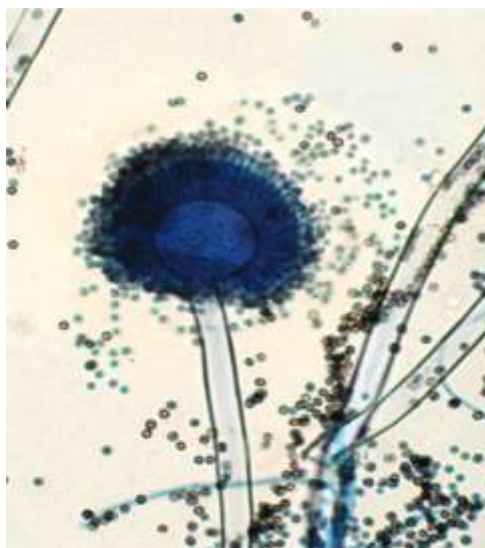


Figure 16: *Aspergillus niger* au microscope optique objectif 40
Source : Tabuc, 2007

3.2.2. Conditions de croissance de *Aspergillus niger*

3.2.2.1. Éléments nutritifs

Les moisissures se développent en présence d'éléments nutritifs essentiels tels que le carbone, l'azote et les ions minéraux, car elles sont des microorganismes hétérotrophes (Behnas & Benayache, 2015). *Aspergillus niger* possède une panoplie enzymatique extrêmement riche qui leur permet d'utiliser plus efficacement encore que les bactéries les substrats les plus complexes. La digestion de ces substances doit démarrer dans l'environnement par des enzymes excrétées (extracellulaires) ou liées à la paroi, car seules les molécules de petite taille peuvent passer par les parois et rejoindre le cytoplasme (Behnas & Benayache, 2015).

3.2.2.1.1. Source de carbone et d'énergie

Quasiment tous les composés organiques servent de source de carbone et d'énergie pour *Aspergillus niger*. La majorité d'entre elles ont la capacité de métaboliser le glucose et le saccharose, ainsi que certains polysaccharides tels que l'amidon et la cellulose (Behnas & Benayache, 2015). Certaines d'entre elles produisent des lipases extracellulaires capables d'hydrolyser les lipides en glycérol et acides gras qui peuvent être assimilés par beaucoup d'espèces fongiques, alors que seulement certaines espèces utilisent les acides organiques et l'éthanol (Behnas & Benayache, 2015). La substitution possible du glucose traditionnel (ou d'autres sucres) par les biomasses agricoles, comme source de métabolisme fongique, représente un sujet intéressant depuis 1920 (Amato *et al.*, 2020). Plusieurs variétés de résidus ont été utilisées comme source de carbone pour produire de l'acide citrique par *A. niger*, principalement : la mélasse, les épis de maïs, le blé, le son, le soja, la pomme, le citron, le sorgho, le sucre de maïs, la paille de blé et le riz. Généralement, les substrats nécessitent un prétraitement pour rendre la cellulose bio-disponible pour le métabolisme fongique. À la fin de ce prétraitement, *A. niger* est inoculé et la fermentation commence (Amato *et al.*, 2020).

3.2.2.1.2. Source d'azote

Aspergillus niger assimile l'ammoniaque sous forme de sels (NH_4^+) dont la présence réprime l'utilisation d'autres sources azotées (nitrate, acides aminés, protéines) (Behnas & Benayache, 2015). L'ammoniaque est transformé en acide glutamique, en glutamine ou en d'autres acides aminés par transamination, alors que seules certaines variantes de *A. niger* utilisent le nitrate, d'autres ne peuvent croître qu'en présence d'azote organique et aucune espèce de *Aspergillus* ne peut fixer l'azote atmosphérique (Amato *et al.*, 2020).

3.2.2.1.3. Éléments minéraux

La présence des ions minéraux et métaux dans le milieu de culture est nécessaire pour la croissance et la reproduction de *Aspergillus niger*, il s'agit essentiellement de sulfate, de magnésium, de potassium, de sodium et de phosphore avec des concentrations plus ou moins différentes selon l'espèce (Uchikoba *et al.*, 2001). Aussi, des traces d'éléments tels que le fer, le cuivre, le manganèse, le zinc et le molybdène, sont nécessaires à la plupart des moisissures pour la production des cytochromes, des pigments, des acides organiques, etc (Behnas & Benayache, 2015).

3.2.2.2. Facteurs physicochimiques

Les facteurs physicochimiques influencent grandement le développement des moisissures ainsi que la germination. Une multitude de paramètres a été considérée au niveau de la croissance de la moisissure.

3.2.2.2.1. Température

La croissance du mycélium est fortement influencée par la température qui joue aussi un rôle dans la sporulation et la germination des spores (Behnas & Benayache, 2015). La plupart des *Aspergillus* sont mésophiles avec des optima de croissance de 25 à 35 °C (Amato *et al.*, 2020). La température est notamment la variable la plus importante de toutes les variables physiques pouvant impacter la fermentation, car elle affecte la croissance des microorganismes et la production d'enzymes ou de métabolites (Dhillon, 2012). L'importance de la température dans le développement d'un processus biologique réside dans le fait qu'elle peut engendrer des effets importants, tels que la dénaturation des protéines, l'inhibition de l'enzyme, l'accélération ou la suppression de la production d'un métabolite en particulier, et surtout la mort des cellules (Show *et al.*, 2015). Les champignons peuvent se développer sur une large gamme de températures de 20 à 55 °C et la température optimale pour la croissance pourrait être différente de celle de la formation du produit.

3.2.2.2.2. Humidité

L'humidité a une grande influence sur le développement des moisissures non seulement sur la croissance mycélienne et la sporulation mais plus particulièrement sur la germination des spores (Show *et al.*, 2015). Les champignons préfèrent un milieu humide pendant leur croissance. Pour la production de la biomasse, un niveau d'humidité optimal doit être maintenu puisque une humidité inférieure a tendance à réduire la diffusion des éléments nutritifs, la croissance microbienne, la stabilité de l'enzyme et le gonflement du substrat (Chundakkadu,

2005). Les niveaux d'humidité les plus élevés conduisent à l'agglomération des particules, la limitation du transfert de gaz et la concurrence des bactéries (Chundakkadu, 2005). Le niveau d'humidité doit être soigneusement optimisé en fonction de la nature du substrat utilisé pour un meilleur rendement d'acide citrique par *A. niger*.

3.2.2.2.3. pH

Le pH influe sur la croissance de *Aspergillus niger* soit indirectement en agissant sur la disponibilité des éléments nutritifs (à pH acide, le fer reste sous forme d'ions ferreux assimilable), soit directement par action sur la membrane cellulaire (Dhillon, 2012). *Aspergillus niger* peut croître sur une large gamme de pH allant de 2 à 9, avec une gamme optimale de 2,5 à 6,0. Cette flexibilité typique des pH des champignons peut être avantageusement exploitée pour prévenir ou minimiser la contamination bactérienne, en particulier en choisissant un pH plus bas (Dhillon, 2012).

4. PRODUCTION D'ACIDE CITRIQUE

4.1. Historique

L'acide citrique fut découvert par l'alchimiste Jabir Ibn Hayyan au VIII^e siècle (Kertes *et al.*, 2009) et a été isolé, sous forme cristalline à partir du jus de citron, en 1784, par le chimiste suédois-allemand Carl Wilhelm Scheele (Kertes *et al.*, 2009). Pour ce faire, le jus de citron a été traité avec de l'hydroxyde de calcium pour former du citrate de calcium. Il est ensuite traité avec de l'acide sulfurique pour obtenir de l'acide citrique. Sa structure a été établie par Liebig en 1838 (Behera, 2020). La production industrielle d'acide citrique a commencé en 1890 et le processus industriel a été utilisé jusqu'en 1919. À cette époque, l'acide citrique était vendu à un prix élevé en raison du monopole italien. Entre-temps, la fermentation de l'acide citrique a été observée pour la première fois en tant que produit fongique par Wehmer en 1893, à partir d'une culture de *Penicillium glaucum* sur un milieu sucré.

Quelques années plus tard, Wehmer a isolé deux nouvelles souches fongiques capables d'accumuler de l'acide citrique, qui ont été désignées sous le nom de Citromyces (*Penicillium*). Cependant, les essais industriels n'ont pas abouti en raison de problèmes de contamination et de la longue durée de la fermentation (Lende *et al.*, 2021). Ce sont les travaux de James Currie qui ont ouvert la voie à une production industrielle réussie d'acide citrique. En effet, en 1916, il a découvert que de nombreuses souches de *Aspergillus niger* produisaient des quantités significatives d'acide citrique. Puis, en 1917, Currie a été le premier à observer que certaines souches de *A. niger* avaient la capacité de produire de l'acide citrique et pouvaient être utilisées à des fins commerciales. La découverte la plus importante était que *A. niger* se développait bien à

des pH d'environ 2,5-3,5 et que des concentrations élevées de sucres favorisaient la production d'acide citrique. Les conditions environnementales susmentionnées se sont avérées favorables à la production d'acide citrique (Behera, 2020).

Les premières fermentations d'acide citrique ont été réalisées par fermentation de surface (FS). Vers 1929, Pfizer a commencé à produire commercialement l'acide citrique à l'aide de techniques de FS. Dans les années 1930, certaines unités ont été implantées en Angleterre, en Union soviétique et en Allemagne pour la production commerciale (Lende *et al.*, 2021). Le processus de fermentation utilisant *A. niger* est toujours la principale source d'acide citrique dans le monde. Bien que des méthodes aient été mises au point pour synthétiser l'acide citrique par des moyens chimiques, les fermentations microbiennes ont donné de meilleurs résultats et, au fil du temps, cette technique est devenue la méthode de choix pour sa production commerciale par rapport à la synthèse chimique (Lende *et al.*, 2021). En 1948, des technologies ont été mises au point pour utiliser la mélasse comme substrat brut bon marché à la place du saccharose pour la production d'acide citrique.

Vers la fin des années 1960, les n-alcanes ont été utilisés comme substrat par de nombreuses bactéries et levures pour la production d'acide citrique (Anastassiadis *et al.*, 2008). Malgré cela, l'introduction de la fermentation submergée a posé plusieurs problèmes, notamment le choix de souches productives peu sensibles aux oligo-éléments. Il était nécessaire de considérer les matières premières avec beaucoup plus d'attention. Plusieurs travaux ont été consacrés à l'optimisation des conditions d'utilisation de matières bon marché comme la mélasse de canne à sucre, la mélasse de betterave, l'amidon et l'hydrolysate d'amidon (Sawant *et al.*, 2018). La recherche de nouvelles alternatives potentielles se poursuit donc au niveau de la fermentation sur substrat solide (FSS). En effet, elle présente plusieurs avantages tels que des productivités élevées, des coûts de production faibles, une faible consommation d'eau, une stabilité prolongée des produits et le respect de l'environnement, etc. (Hölker & Lenz, 2005).

Ces dernières années, l'utilisation de produits agricoles comme sources alternatives de carbone et de leurs déchets pour la production d'acide citrique par *A. niger* suscite un intérêt considérable auprès des industries qui sont à la recherche de nouvelles technologies bon marché et économiques. La demande mondiale d'acide citrique est d'environ 3 millions de tonnes. La production annuelle d'acide citrique était de 700 000 tonnes en 1993 ; 1,4 million de tonnes en 2004 ; 1,6 million de tonnes en 2008 et 1,8 million de tonnes en 2010 (West, 2023).

4.2. Fiche du produit

L'acide citrique ($C_6H_8O_7$) est un acide tricarboxylique (acide 2-hydroxy-1,2,3-propane-tricarboxylique) comme l'indique la Figure 17. Il se présente sous forme de cristaux incolores, inodores et d'une saveur excessivement aigre. L'acide citrique est vendu en anhydre ($M = 192,13 \text{ g/mol}$) ou en monohydraté ($M = 210,14 \text{ g/mol}$). Le numéro CAS (*Chemical Abstract Service*) de l'acide citrique est : 77-92-9 pour la forme anhydre et 5949-29-1 pour la forme monohydratée mais les deux formes ont le même numéro EINECS (*European Inventory of Existing Commercial Substances*), qui est 20 106 991. L'acide citrique est un acide faible qui possède trois pK_a à $20 \text{ }^\circ\text{C}$ ($pK_1 = 3,15$, $pK_2 = 4,77$, et $pK_3 = 6,39$) résultant d'une action tampon à pH variant entre 2,5 et 6,5.

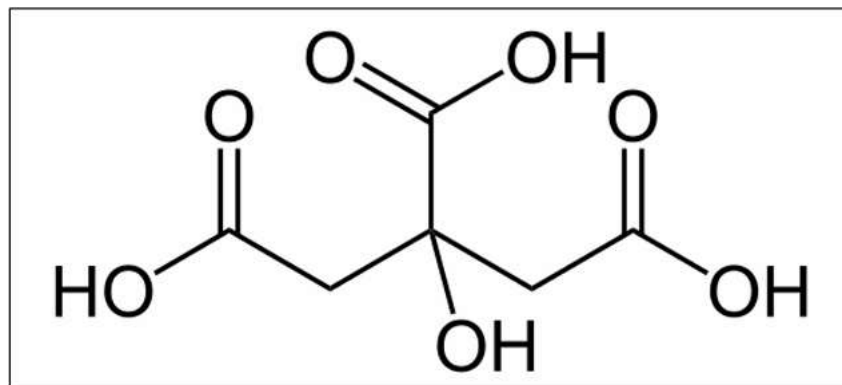


Figure 17: formule développée de l'acide citrique
Source : Kouassi, 2018

4.3. Biosynthèse de l'acide citrique

La biosynthèse de l'acide citrique se déroule en trois étapes, à savoir l'absorption du sucre, suivie d'une glycolyse qui aboutit à la production de deux molécules de pyruvate (Figure 18). Les molécules de pyruvate, résultant de la glycolyse, sont transportées de manière active à travers la membrane interne de la mitochondrie et dans la matrice. Ici, ils peuvent être oxydés et combinés avec la coenzyme A pour former du CO_2 , de l'acétyl Co-A (acétyl coenzyme A) et du NADH (nicotinamide adénine di-nucléotide). L'acétyl Co-A formé se combine avec l'oxaloacétate pour produire du citrate (Behera, 2020). D'un autre côté, il est également possible que le pyruvate produit pendant la glycolyse puisse être carboxylé par le pyruvate carboxylase (PC) pour former de l'oxaloacétate (un intermédiaire du cycle d'acide tricarboxylique (TCA)) afin de remplir la quantité d'oxaloacétate dans le cycle de l'acide citrique pour métaboliser l'acétyl Co-A lorsque les besoins énergétiques des tissus sont soudainement augmentés par l'activité (Show *et al.*, 2015).

L'acide citrique ainsi synthétisé grâce à la combinaison d'acétyl Co-A et d'oxaloacétate est ensuite transformé par une séquence de réaction qui donne deux molécules de CO₂ et régénère à nouveau l'oxaloacétate à quatre carbones. Un autre tour du cycle peut maintenant commencer par la réaction de l'oxaloacétate avec une autre molécule d'enzyme acétyl Co-A. Ainsi, à chaque tour du cycle, une molécule d'acétyl Co-A entre, deux molécules d'ATP et de CO₂ se forment et une molécule d'oxaloacétate est utilisée pour former du citrate (Soccol *et al.*, 2006).

Certaines des enzymes de *A. niger* jouent un rôle très crucial lors de la formation de l'acide citrique. À l'extérieur de la cellule, le saccharose est d'abord converti en glucose et en fructose par une enzyme invertase liée à la membrane, puis transporté dans la cellule (Soccol *et al.*, 2006) via des transporteurs de glucose. L'hexokinase est une autre enzyme clé présente à l'intérieur de la cellule et convertit le glucose transporté en glucose-6-phosphate et initie le processus de glycolyse. *A. niger* peut également oxyder le glucose à l'aide de l'enzyme glucose oxydase qui est produite au début de la fermentation et convertit le glucose en acide gluconique (Papagianni, 2007).

Au fil des années, de nombreux groupes de recherche ont publié des bases biochimiques pour expliquer comment l'acide citrique s'accumule (Max *et al.*, 2010; Papagianni, 2007; Show *et al.*, 2015). Une enquête de recherche a révélé qu'un certain nombre de facteurs biochimiques, notamment la concentration de la source de carbone, l'oxygène dissout, les ions hydrogène et les concentrations sous-optimales de phosphate et de métaux traces, étaient responsables du débordement d'acide citrique, mais variaient selon les souches individuelles (Papagianni, 2007). Jusqu'à présent, il n'y a pas d'explication complète qui soit unanimement acceptée pour expliquer les phénomènes d'accumulation d'acide citrique par *A. niger* (Berovic & Legisa, 2007).

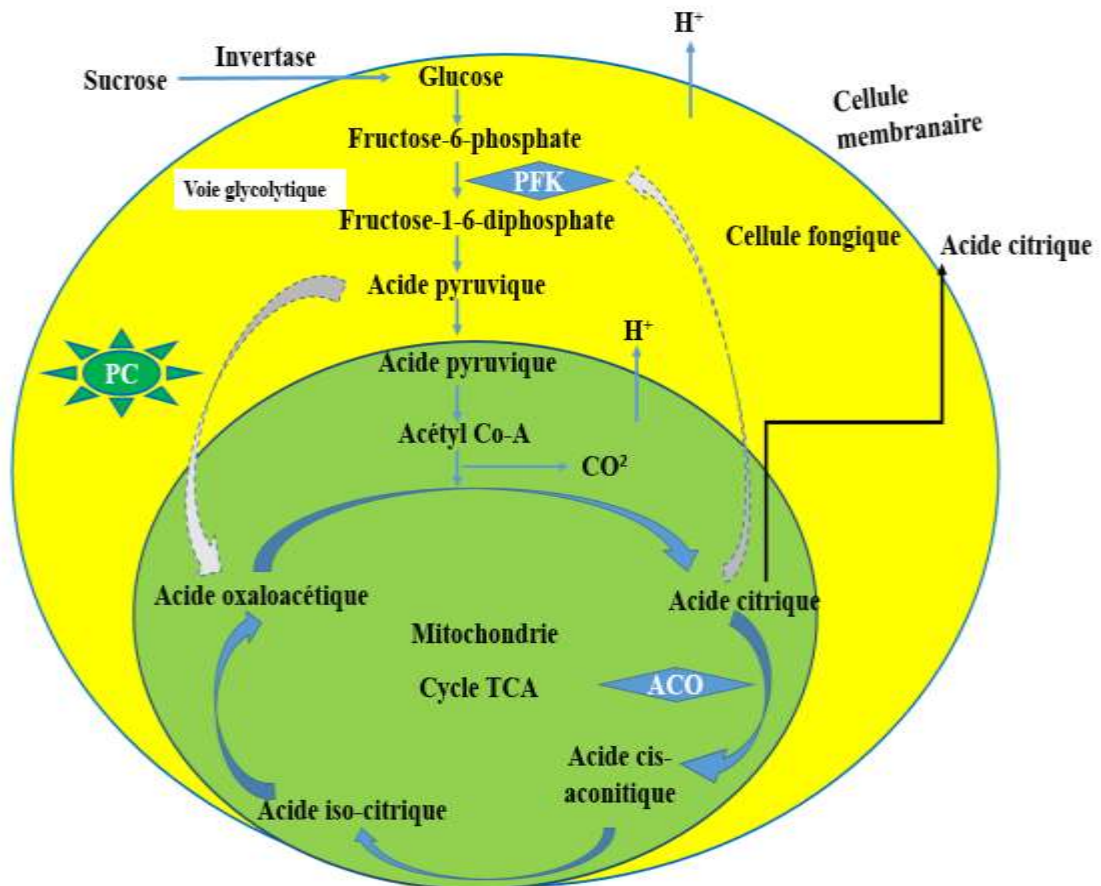


Figure 18: production d'acide citrique par *Aspergillus niger*
 (PFK=phosphofructokinase, PC=pyruvate carboxylase, ACO=aconitase)
 Source : Soccol *et al.*, 2006; Behera, 2020

4.4. Fermentation pour la production d'acide citrique

La fermentation est un processus métabolique convertissant généralement des glucides en acides, en gaz ou en alcools. Elle est une technique de production d'actifs basée sur la culture de microorganismes en milieu fermé, contrôlé ou spontané. Les composés d'intérêt produits par les micro-organismes sont ensuite extraits et purifiés pour leur utilisation finale (Kaplan, 2019). Ainsi, il existe deux types de fermentation, comme le montre la Figure 19 :

- la fermentation en milieu liquide (FML) ;
- la fermentation sur substrat solide (FSS).

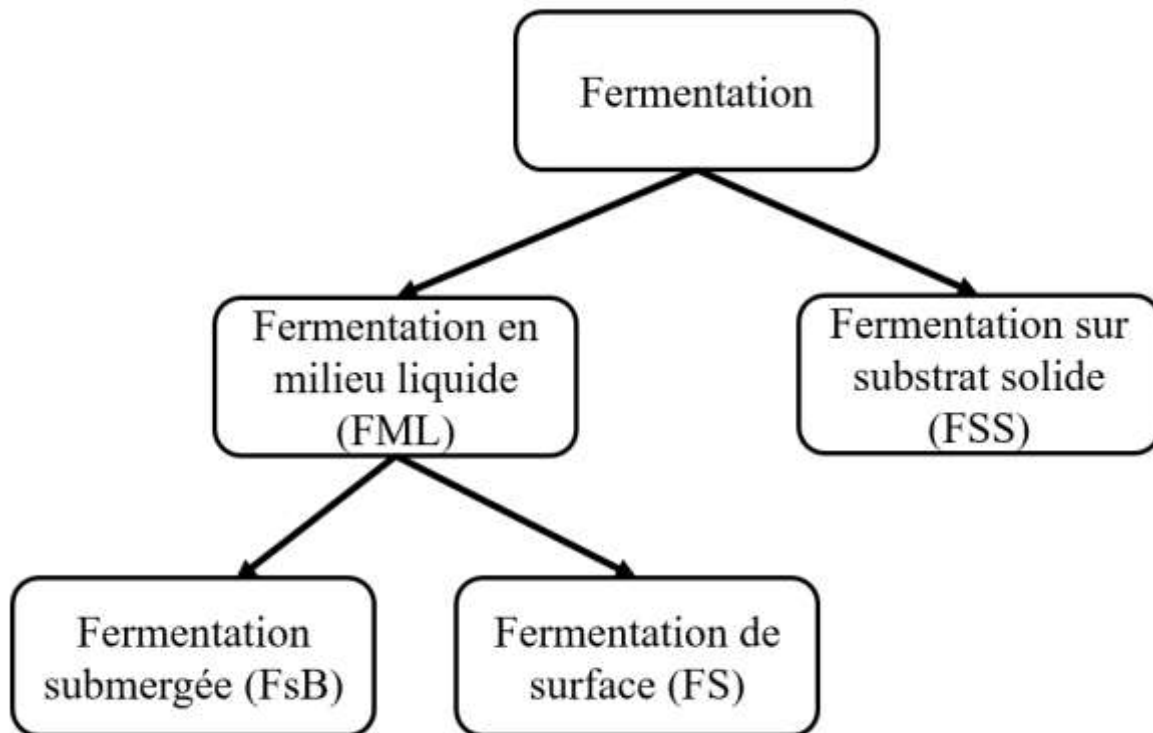


Figure 19: différents procédés de fermentation pour la production d'acide citrique
Source : Sawant *et al.*, 2018

4.4.1. Fermentation en milieu liquide

Environ 80 % de la production mondiale d'acide citrique est réalisée par fermentation en milieu liquide (FML). La source de carbone la plus couramment utilisée pour la production d'acide citrique est le saccharose, ainsi que les sous-produits de sa production, tels que la mélasse (Dhillon, 2012; Behera, 2020). En dehors de cela, diverses autres matières premières, telles que les hydrocarbures, les résidus de déchets agro-industriels et plusieurs autres matériaux riches en féculents ont été utilisés comme source de carbone pour la FML d'acide citrique (Vandenberghe *et al.*, 2000; Soccol *et al.*, 2006).

Les avantages de la FML par rapport à la culture en surface comprennent des coûts inférieurs, un faible risque de contamination, un niveau élevé d'automatisation et un rendement de processus plus élevé, comme le montre le Tableau VI. Pour obtenir des rendements élevés de production d'acide citrique dans les cultures submergées, le contrôle des paramètres du processus et une sélection minutieuse du substrat sont cruciaux (Angumeenal & Venkappayya, 2013). Des paramètres tels que la température, le pH, la consommation d'oxygène et la production de dioxyde de carbone sont mesurés et contrôlés pour optimiser le processus de fermentation (Rapport sur le marché mondial de l'acide citrique, 2023). Bien que la FML soit la méthode la plus largement utilisée pour la production en masse d'acide citrique, il existe toujours

un besoin d'explorer une méthode alternative pour la production industrielle viable et durable d'acide citrique afin de faire face à la baisse des prix et de répondre à la demande croissante du marché en acide citrique.

4.4.2. Fermentation en milieu solide

La fermentation en milieu solide (FSS) est un processus qui consiste à cultiver des micro-organismes sur une matrice solide, servant de support et/ou de substrat, en absence ou presque d'eau libre (Pandey *et al.*, 2000). Toutefois, la matrice doit contenir suffisamment d'eau pour favoriser la croissance du micro-organisme. Le maximum d'humidité est proportionnel à la capacité d'absorption du substrat utilisé, soit environ 70 % d'humidité avant la fermentation (Behera, 2020). Les dispositifs SSF sont composés à l'échelle du laboratoire de milieux tels que des boîtes de Pétri ou des flacons dans lesquels la fermentation peut être réalisée. Différents types de bioréacteurs sont employés à l'échelle industrielle qui se distinguent principalement par la présence ou l'absence de mélange et d'aération conditionnée (Książek, 2024). On peut recourir à cette méthode pour utiliser des déchets provenant de l'agriculture et de l'industrie, tels que les déchets de transformation des fruits et légumes. Il est clair que cette méthode présente un avantage majeur en termes de faible consommation d'énergie et de production minimale de déchets, ce qui est respectueux de l'environnement (Tableau VI). En outre, le processus facilite l'utilisation de substrats agro-industriels abordables et largement accessibles sans nécessiter de prétraitement. Car le système est moins sensible à la présence d'oligo-éléments (Berovic & Legisa, 2007).

Tableau VI: avantages et inconvénients des différents types de fermentations

Type	Avantages et inconvénients	Production d'AC	Références
FS	<u>Avantages:</u> - Faible coût de fonctionnement et d'installation, énergie moindre <u>Inconvénients:</u> - Répartition inégale de l'air et des nutriments, des exigences de main-d'œuvre élevées, sensible à la contamination par des levures et des bactéries lactiques et besoin de grand sous-produit agricole	Utilisé dans les industries de petite ou moyenne envergure	Socol & Vandenberghe, 2003
FsB	<u>Avantages:</u> - Mécanisme de contrôle sophistiqués, baisse des coûts de main d'œuvre, une productivité et un rendement accrus <u>Inconvénients:</u> - Coût élevé des milieux, sensible à l'inhibition par les métaux traces en risque de contamination, quantité importante d'effluents à traiter, un investissement en capital plus élevé	80 % de la production mondiale d'AC	Pometto <i>et al.</i> , 2005
FSS	<u>Avantages :</u> - Faible besoin énergétique, des rendements élevés, un faible risque de contamination, moins d'efforts dans le traitement en aval, moins de génération d'effluents, moins sensible à l'inhibition par les éléments en traces <u>Inconvénients:</u> - Difficulté de mise à l'échelle, contrôle difficile des paramètres du procédé, des coûts plus élevés des produits de récupération	procédé de production d'AC efficace et réalisable sur le plan économique et industrielle	Hölker <i>et al.</i> , 2004; Couto & Sanromán, 2006

4.5. Facteurs influençant la production d'acide citrique

La croissance fongique et la production d'acide citrique sont influencées par les conditions de biosynthèse. L'optimisation de la production d'acide citrique par divers procédés de fermentation peut être améliorée en tenant compte de ces différents facteurs. Ce sont : la source de carbone, l'humidité, le pH du milieu de culture et les micronutriments.

4.5.1. Source de carbone

Des études menées sur plusieurs décennies ont montré que la source de carbone affecte directement le rendement en acide citrique. Les monosaccharides et les disaccharides sont la source de carbone préférée car ils sont métabolisés plus rapidement par le champignon que les polysaccharides, produisant ainsi un rendement plus élevé (Lende *et al.*, 2021). En effet, la présence de glucides rapidement absorbés par les micro-organismes s'est avérée essentielle à une bonne production d'acide citrique (Amato *et al.*, 2020). Parmi les glucides facilement métabolisés, le saccharose est la source de carbone la plus favorable, suivi du glucose, du fructose et du galactose (Amato *et al.*, 2020). D'autres substrats tels que les écorces d'agrumes, la paille de riz et la bagasse de canne à sucre contiennent moins de sucres fermentescibles et sont donc humidifiés avec une solution de saccharose pour augmenter le taux de sucre (Kumar *et al.*, 2003; Ferreira *et al.*, 2016).

4.5.2. Humidité

Les champignons préfèrent un milieu humide pendant leur croissance. Pour la production de la biomasse, un niveau d'humidité optimal doit être maintenu puisque une humidité inférieure a tendance à réduire la diffusion des éléments nutritifs, la croissance microbienne, la stabilité de l'enzyme et le gonflement du substrat (Chundakkadu, 2005). Les niveaux d'humidité les plus élevés conduisent à l'agglomération des particules, la limitation du transfert de gaz et la concurrence des bactéries (Soccol *et al.*, 2006). En général, les niveaux d'humidité dans les processus SSF varient entre 30 et 85 % (Dhillon, 2012). Une augmentation de la teneur en humidité au-delà de 70 % entraîne une diminution de la consommation de sucre et de la production d'acide citrique (Sawant *et al.*, 2018). Le niveau d'humidité doit être soigneusement optimisé en fonction de la nature du substrat utilisé pour un meilleur rendement d'acide citrique par *A. niger*.

4.5.3. pH du milieu de fermentation

Le pH du milieu change continuellement en raison des activités métaboliques microbiennes, en grande partie à cause de la sécrétion d'acides organiques qui cause la baisse du pH. Les activités

métaboliques des microbes tels que *Aspergillus*, *Rhizopus* et *Penicillium*, sont capables de réduire rapidement le pH en dessous de 3 (del Campo *et al.*, 2006). Le pH du milieu de fermentation est le plus important pendant la phase de sporulation et de production. Au stade de la germination, les spores en germination absorbent de l'ammoniac et libèrent des protons, augmentant ainsi l'acidité du milieu et favorisant la production d'acide citrique. Tout d'abord, les spores ont besoin d'un pH > 5 pour germer. Deuxièmement, le pH de la production d'acide citrique doit être faible (pH ≤ 2). À un pH faible (pH < 2), la formation de produits indésirables tels que l'acide oxalique et gluconique est inhibée, et la possibilité de contamination par d'autres micro-organismes est également réduite, ce qui facilite la récupération de l'acide citrique (Max *et al.*, 2010).

Le pH initial d'un milieu doit être optimisé et défini en fonction du micro-organisme, du substrat et de la technique de production. Dashen et ses collègues ont montré que le substrat et la technique de production influencent la cinétique du pH, qui est le profil complet du taux de pH montrant les changements dans les différents substrats (Dashen *et al.*, 2014).

4.5.4. Micronutriments

Les traces d'ions métalliques ont un impact significatif sur l'accumulation d'acide citrique avec *A. niger* (Amato *et al.*, 2020). Il a été démontré que les ions métalliques divalents tels que le zinc, le manganèse, le fer, le cuivre et le magnésium affectent la production d'acide citrique. Il y a une production élevée d'acide citrique que si un contrôle rigoureux de la disponibilité des oligo-éléments est réalisé, principalement dans le processus immergé (Soccol *et al.*, 2006). Le Tableau VII illustre les différents minéraux affectant la production d'acide citrique.

Tableau VII: micronutriments affectant la production d'acide citrique

Micronutriments	Concentration requise	Effet sur la production d'AC	Références
Azote	≤ 0,25 %	Nécessaire pour le métabolisme cellulaire, production d'AC	Kumar <i>et al.</i> , 2003
Phosphore	0,05 à 5 g/L	Stimule la croissance fongique et la production d'AC	Show <i>et al.</i> , 2015
Manganèse	Faible teneur	Participe à l'anabolisme de <i>A.niger</i>	Show <i>et al.</i> , 2015
Fer	≥ 1,3 ppm	Inhibe la production d'AC	Haq <i>et al.</i> , 2002
Cuivre	0,1-500 ppm	Contre-agit sur l'effet délétère du fer dans la fermentation	Pandey <i>et al.</i> , 2000
Magnésium	0,02-0,025 %	Essentielle à la croissance de <i>A.niger</i> ainsi qu'à la production d'AC	Soccol <i>et al.</i> , 2006
Zinc	0,3 ppm	Amélioration du rendement d'AC	Pandey <i>et al.</i> , 2000
Na ⁺ , Ca ²⁺ , Ni ⁺ , K ⁺ , Mo ²⁺ , B	Faible teneur	Amélioration de la sporulation de <i>A.niger</i>	Pandey <i>et al.</i> , 2000

4.6. Récupération de l'acide citrique

Une fois la fermentation de l'acide citrique terminée, le produit obtenu contient de l'acide citrique et diverses substances indésirables telles que du mycélium, d'autres acides organiques, des sels minéraux, des protéines et des quantités variables d'autres impuretés. Il est donc nécessaire de récupérer l'acide citrique pur uniquement à partir du milieu de fermentation (Grewal & Kalra, 1995). Il existe plusieurs techniques de récupération de l'acide citrique telles que l'électrodialyse, l'ultrafiltration, la filtration par membrane, la précipitation et l'extraction par solvant, les deux dernières étant les plus pratiquées (Figure 20). La précipitation est la méthode standard à tous les processus, mais elle exige le retrait des micelles du champignon, du bouillon de fermentation et des matières en suspension par filtration (Grewal & Kalra, 1995; Dhillon, 2012).

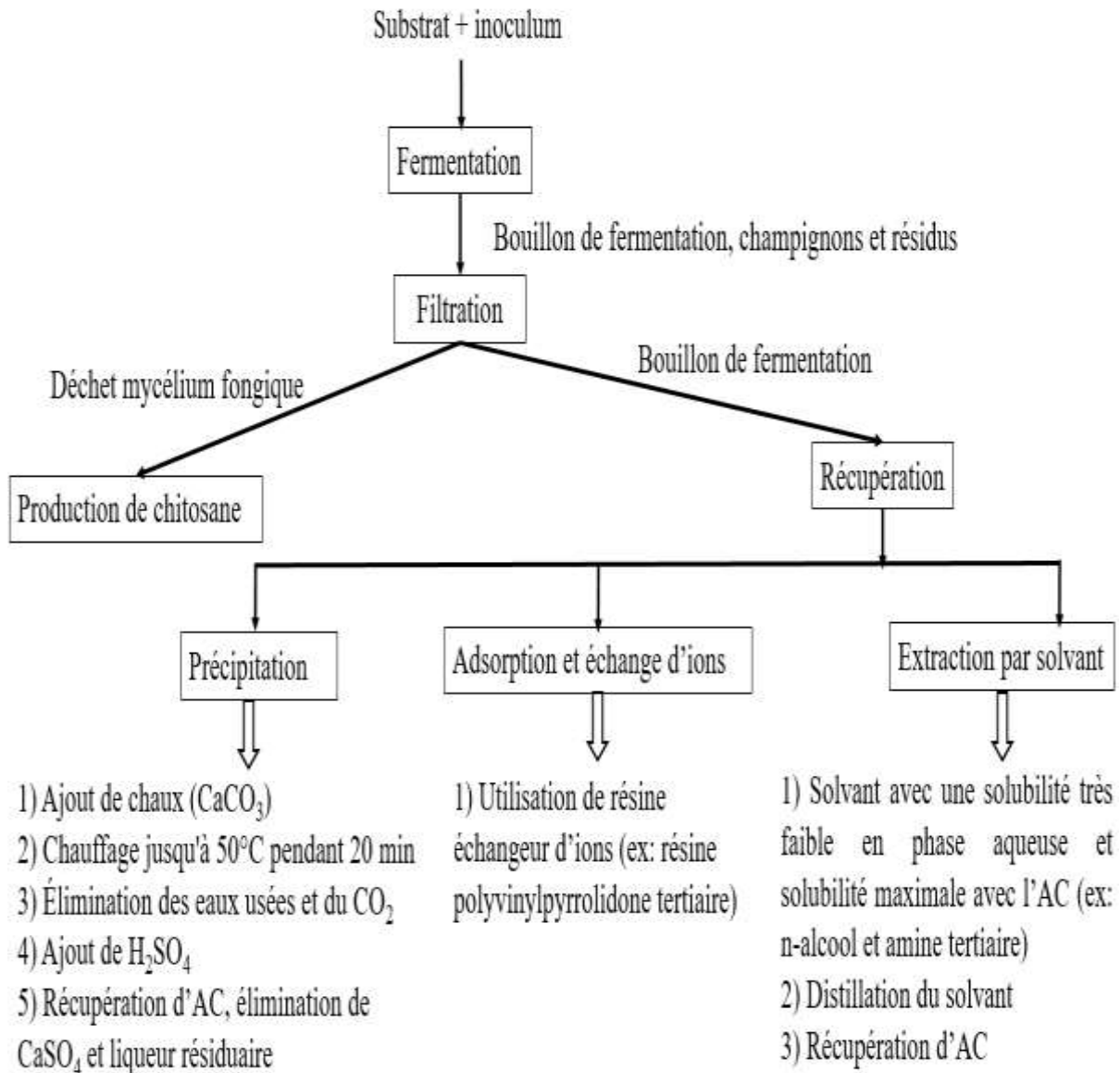


Figure 20 : processus de récupération de l'acide citrique
Source : Grewal & Kalra, 1995; Dhillon, 2012

4.7. Usages de l'acide citrique

La demande d'acide citrique est en hausse, en raison de son caractère GRAS (*Generally Recognized As Safe*) reconnu par la commission mixte FAO/OMS d'experts en additifs alimentaires (Książek, 2024). Le marché de l'acide citrique est en expansion continue en raison de son utilisation très répandue dans les produits de consommation liés à la santé et la biomédecine, l'alimentation, la métallurgie, etc. La Figure 21 montre les différents usages de l'acide citrique dans les principales industries.

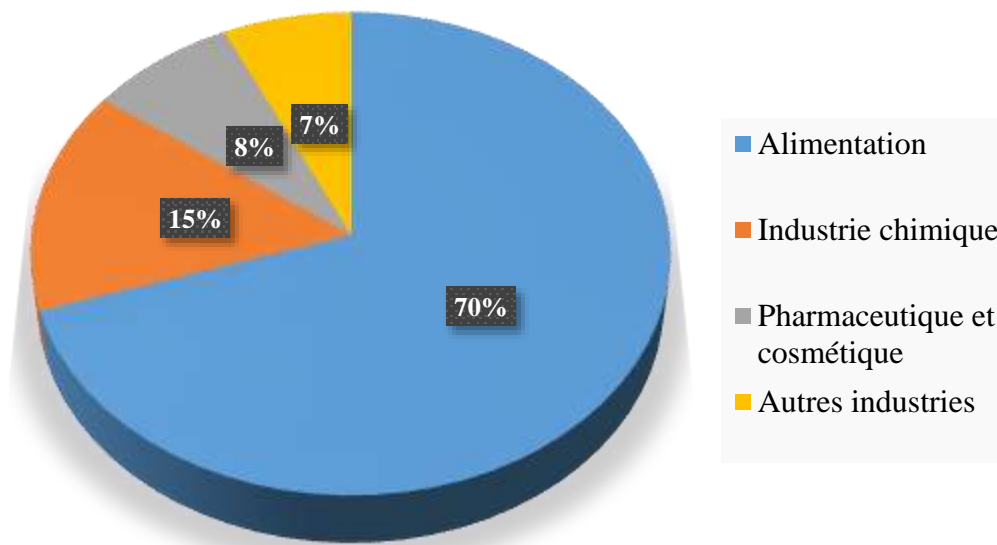


Figure 21: usages de l'acide citrique

Source : Rapport sur le marché mondial de l'acide citrique, 2023

4.7.1. Industrie pharmaceutique

L'acide citrique joue un rôle clé dans l'industrie pharmaceutique en raison de ses diverses applications comme le montre le Tableau VIII. Il est utilisé dans les vitamines, produits effervescents, anticoagulants, et comme agent stabilisant et aromatisant pour masquer les goûts médicinaux (Dhillon, 2012). En combinaison avec des bicarbonates, il facilite la dissolution rapide des ingrédients actifs (Dhillon, 2012). De plus, des recherches récentes explorent son utilisation prometteuse en nano-médecine, notamment comme copolymère dans les nanomatériaux. Ces nano-polymères, dérivés de l'acide citrique, sont biocompatibles et utiles pour la régénération tissulaire (vaisseaux sanguins, os, cartilage) et l'administration de médicaments (Gul & Monga, 2014; Ciriminna *et al.*, 2017).

Tableau VIII: différents usages de l'acide citrique dans l'industrie pharmaceutique

Domaine	Applications	Usages
Santé	Produits pharmaceutiques	- Combiné avec des carbonates et des bicarbonates produire un effet effervescent dans l'aspirine antiacide et soluble, l'anticoagulant, prévenir les calculs rénaux - Maintien la stabilité des principes actifs des produits pharmaceutiques
	Désinfectants	L'AC en combinaison avec l'alcool est utilisé comme un désinfectant, excellent contre plusieurs agents pathogènes viraux et bactériens
	Produits de beauté et articles de toilette.	Agent tampon, ajustement du pH, antioxydant, chélateur d'ions métalliques

Source : Ionidis *et al.*, 2016; Singh *et al.*, 2016; Ciriminna *et al.*, 2017

4.7.2. Industrie alimentaire

Sur le plan sanitaire, l'acide citrique, en tant qu'additif alimentaire, a été reconnu comme étant sûr (GRAS) par le Comité d'experts FAO/OMS sur les additifs alimentaires et sa dose journalière admissible (DJA) n'est pas soumise à des restrictions (West, 2023). Les produits dérivés de l'acide citrique à savoir : le citrate de calcium, le citrate de fer, le citrate de manganèse, le citrate de potassium, le citrate de sodium, le citrate diammonique, le citrate d'isopropyle et le citrate de stéaryle ont également reçu le statut GRAS en tant qu'additifs alimentaires (Behera, 2020). L'acide citrique joue différents rôles dans les produits alimentaires, tels que la régulation de l'acidité, la conservation, les propriétés anti-oxydantes, l'émulsification, l'amélioration de l'arôme et la saveur, l'action antibactérienne et l'ajustement du pH (Amato *et al.*, 2020). L'acide citrique grâce à sa capacité à chélater les ions métalliques et à ses propriétés tampons est un additif parfait pour la production alimentaire et nutraceutique (Ciriminna *et al.*, 2017) (Tableau IX).

Tableau IX: différents usages de l'acide citrique dans l'industrie alimentaire

Domaine	Applications	Usages
Agro-alimentaire	Boissons non alcoolisées et sirops	Fournit de l'acidité. Stimule la saveur naturelle des fruits. Comme acidulant dans les boissons gazeuses et à base de saccharose
	Vins et cidres	Empêche le brunissement de certains vins blancs. Préviend la turbidité des vins et cidres. Utilisé pour l'ajustement du pH
	Produits laitiers	Comme émulsifiant dans les glaces et les fromages fondus. Agent acidifiant et antioxydant dans de nombreux produits fromagers
	Confitures, gelés et conservateurs	Ajustement du goût et du pH, agit comme acidulant. Fournit le degré souhaité d'acidité, de piquant et de saveur. Augmente l'efficacité des conservateurs antimicrobiens.
	Sucreries, bonbons et caramels	Agit comme acidulant. Fournit de l'acidité. Minimise l'inversion du saccharose. Produit une couleur foncée dans les bonbons durs. Empêche cristallisation du saccharose

Source : Show *et al.*, 2015; Ciriminna *et al.*, 2017; Behera, 2020

4.7.3. Autres industries

La recherche de nouvelles applications de l'acide citrique dans diverses industries fait actuellement l'objet de nombreuses études. L'une des nouvelles applications de l'acide citrique est la production de détergents ménagers (Javanmard & Endan, 2010). L'acide citrique chélate Mg^{2+} et Ca^{2+} , ions responsables de la dureté de l'eau et ne contribuent pas à l'eutrophisation des systèmes aquatiques, contrairement aux phosphates utilisés dans les détergents (Ciriminna *et al.*, 2017). Les applications nouvelles et innovantes de l'acide citrique dans l'industrie alimentaire et au-delà devraient conduire à une augmentation de la production (Książek, 2024). Il existe plusieurs autres applications de l'acide citrique dans des secteurs (Tableau X) tels que l'agriculture et les polymères, les composantes de lavage de bouteilles, le ciment, le textile, le traitement des résidus, les adhésifs (Javanmard & Endan, 2010; Ionidis *et al.*, 2016; Singh *et al.*, 2016; Ciriminna *et al.*, 2017).

Tableau X: différents usages de l'acide citrique dans diverses industries

Domaine	Applications	Usages
Agri-culture	Animales	Complément alimentaire
	Biorestauration des sols	Évaluation des micronutriments dans les engrais ; réduit la toxicité du cadmium dans les plantes Assainissement des sols grâce à des agents chimiques bio-sourcés
		- Agent tampon, séquestre les ions métalliques, neutralise les bases - Élimination des oxydes métalliques des surfaces métalliques ferreuses et non ferreuses, nettoyage opérationnel d'oxydes de fer et de cuivre - Utilisation en galvanoplastie pour le cuivrage, le plaquage des métaux
Autres	Autres	- Utilisation dans la fabrication des encres d'imprimerie, des produits de lavage, de ciment pour sols, de textiles, de réactifs photographiques, de béton, de plâtre, d'adhésifs, de papier, de polymères, de tabac, etc. - Utilisation pour le nettoyer les sites nucléaires contaminés par des radionucléides etc.

Source :Javanmard & Endan, 2010; Ionidis *et al.*, 2016; Ciriminna *et al.*, 2017

4.8. Marché mondial de l'acide citrique

Le marché de l'acide citrique, utilisé dans diverses industries, connaît une expansion rapide (Figure 22). Sa valeur est passée de 3,87 milliards de dollars en 2022 à 4,2 milliards en 2023, et devrait atteindre 5,52 milliards de dollars d'ici 2027 (Rapport sur le marché mondial de l'acide citrique, 2023; Książek, 2024). Le volume de production mondiale est également en hausse, avec une prévision de 3,3 millions de tonnes en 2028 (Rapport sur le marché mondial de l'acide citrique, 2023).

En 2016, la région Asie-Pacifique dominait le marché mondial de l'acide citrique en termes de valeur. Cependant, l'Europe de l'Ouest (incluant le Royaume-Uni, l'Allemagne, la France, etc.) était le leader en termes de production, avec plus de 500 000 tonnes. Elle est suivie par la

région Asie-Pacifique, l'Amérique du Nord (États-Unis, Canada, Mexique), puis le reste du monde. La pandémie de COVID-19 a provoqué une hausse significative de la demande d'acide citrique, en particulier pour les produits de nettoyage (Książek, 2024).

En Europe de l'Ouest, la demande pour l'acide citrique augmente rapidement, principalement en raison du secteur des aliments et boissons, où il est utilisé comme conservateur et exhausteur de goût (Rapport sur le marché mondial de l'acide citrique, 2023). La tendance vers des produits naturels et biologiques dans des pays comme l'Allemagne, la France et le Royaume-Uni stimule encore plus cette demande. Le secteur pharmaceutique, également très développé et réglementé, contribue à la demande d'acide citrique pour les médicaments et compléments alimentaires (Rapport sur le marché mondial de l'acide citrique, 2023).

La région Asie-Pacifique est le plus grand consommateur d'acide citrique avec 28 % du marché mondial, suivie par l'Amérique du Nord avec 23 % et l'Europe de l'Ouest avec 22 % (Rapport sur le marché mondial de l'acide citrique, 2023).

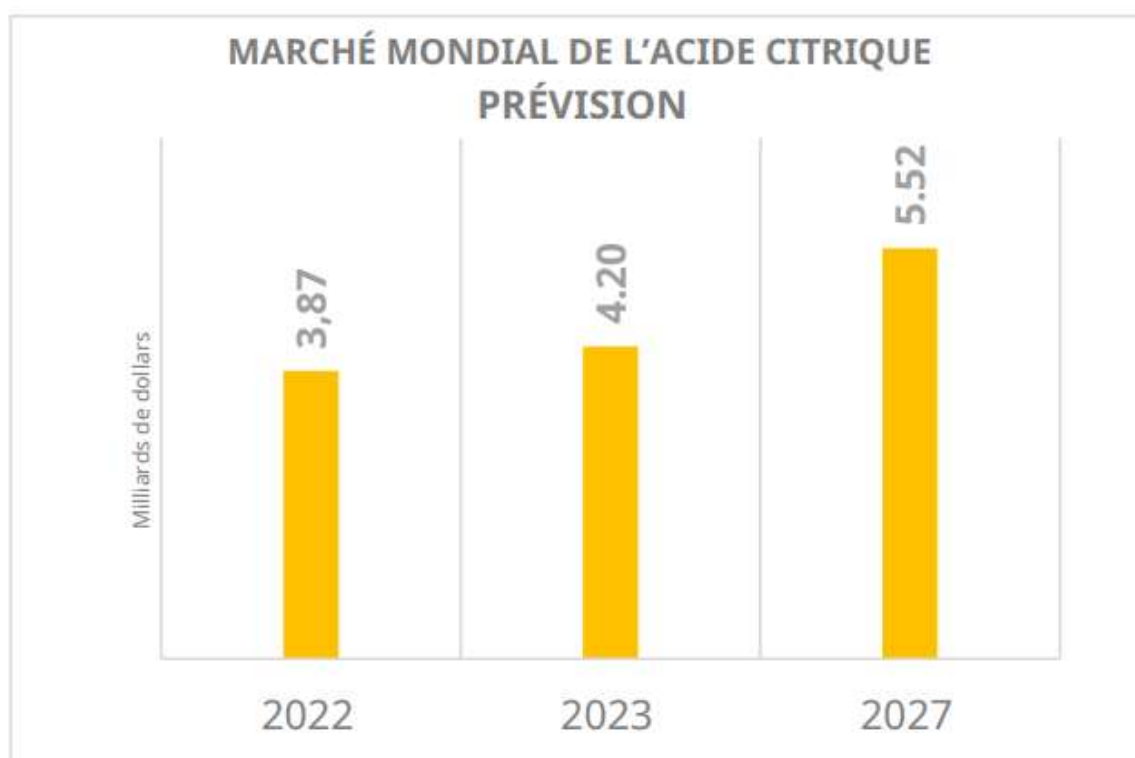


Figure 22 : prévision du marché mondial de l'acide citrique
Source : Rapport sur le marché mondial de l'acide citrique, 2023

5. PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE

L'étude s'est déroulée dans deux zones de la Côte d'Ivoire à savoir la région côtière au sud et la savane boisée du nord comme indiqué sur la Figure 23.

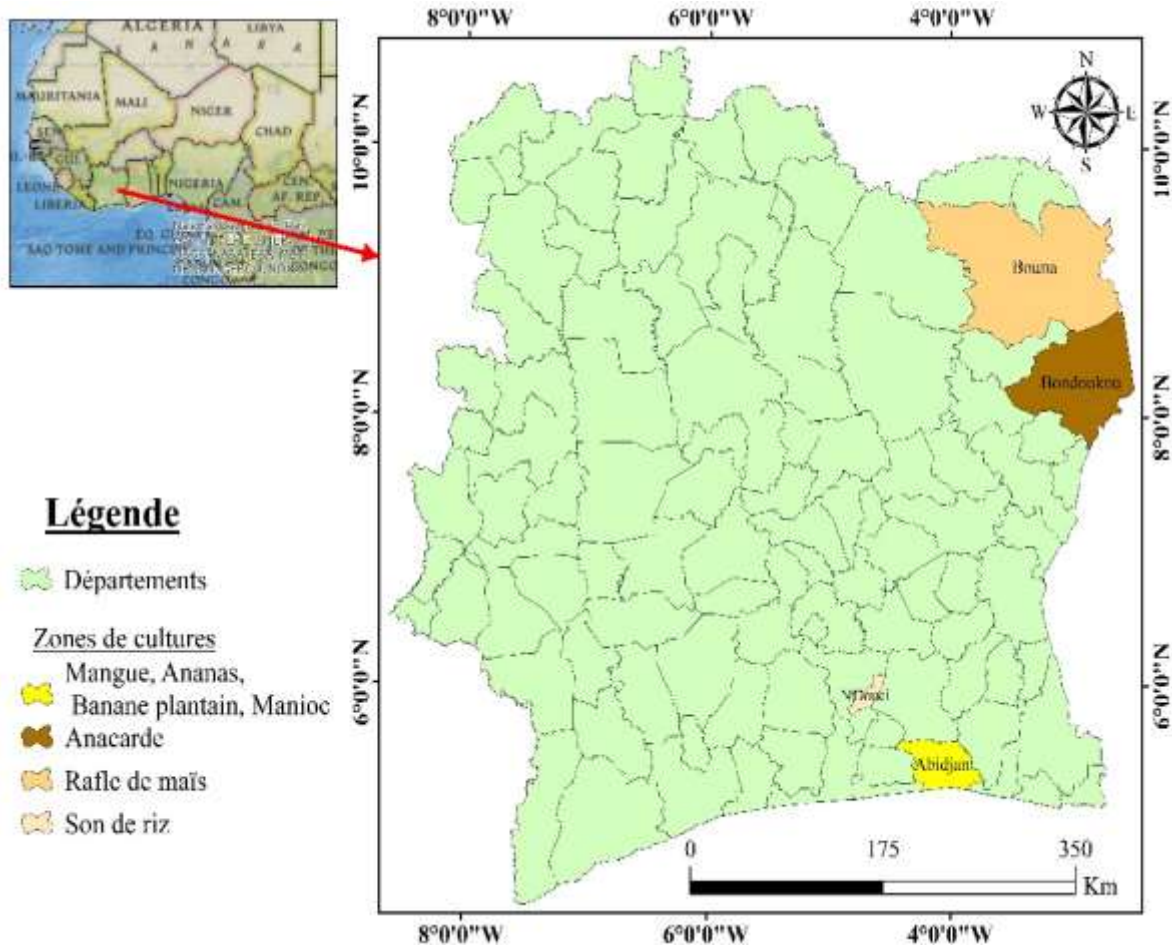


Figure 23: zone d'étude
Logiciel QJIS 3.14

5.1. Région des lagunes

Située au sud de la Côte d'Ivoire, la région des Lagunes englobe le District d'Abidjan et ses périphéries immédiates, dont les villes de N'Douci et de Bonoua. Cette zone côtière, caractérisée par un climat tropical humide (précipitations annuelles de 1 800 à 2 200 mm), constitue le cœur économique du pays, concentrant 40 % des activités industrielles et 60 % des échanges commerciaux nationaux. Le choix de cette région s'explique non seulement par la disponibilité de résidus agricoles variés tels que le son de riz prélevé à N'Douci (principale zone rizicole du sud), les épluchures de manioc collectées à Bassam, ou encore les mangues hors circuits commerciaux issues du port fruitier du Plateau. Mais aussi par la présence d'infrastructures logistiques clés, comme le port autonome d'Abidjan, plaque tournante des exportations agroalimentaires ouest-africaines. Par ailleurs, les résidus d'ananas récupérés auprès d'une industrie locale à Marcory illustrent le potentiel de valorisation des déchets urbains.

5.2. Région du Zanzan

La région du Zanzan, couvrant les zones de Bondoukou (Gontougo) et Bouna (Boukani), incarne les enjeux de l'agriculture en savane boisée. Avec un climat tropical sec (précipitations annuelles de 1 000 à 1 400 mm) et des sols ferrugineux majoritairement dégradés, cette zone fait partie des meilleures zones ivoiriennes de production d'anacarde (30 % du tonnage national) et de maïs (25 % de la production), selon les données du Ministère de l'Agriculture (ARECA, 2023). La sélection de cette région s'appuie sur deux critères majeurs : d'une part, l'abondance de rafles de maïs résidus souvent brûlés après récolte, aggravant la déforestation et d'autre part, la disponibilité de pommes d'anacarde non valorisées, dont le potentiel biochimique (teneur en sucres réducteurs et pH naturellement acide) reste sous-exploité. Ces spécificités en font un laboratoire à ciel ouvert pour étudier les synergies entre agroécologie et innovation microbienne, dans un contexte marqué par l'exode rural et la pression foncière.

DEUXIÈME PARTIE : MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. MATERIEL

1.1. Matériel biologique

Le matériel biologique employé dans cette étude est répertorié dans le Tableau XI ainsi que le Tableau XII et comporte deux catégories distinctes. Le Tableau XI concerne le matériel biologique dédié à l'isolement des souches de *Aspergillus niger*, comprenant des fruits et légumes en putréfaction ainsi que des sols rhizosphériques prélevés au pied de bananiers. Le Tableau XII regroupe les sous-produits et déchets industriels à base d'amylacés et de fruits servant de substrats pour la production d'acide citrique.

Tableau XI: présentation du matériel biologique utilisé pour la recherche de *Aspergillus niger*

Type	Source de <i>Aspergillus niger</i>	Noms scientifiques
Sol	Sol rhizosphérique de bananier	-
Fruit en putréfaction	Citron	<i>Citrus limon</i>
Légumes en putréfaction	Oignon	<i>Allium cepa</i>
	Carotte	<i>Daucus carota</i>

Tableau XII : présentation du matériel biologique utilisé pour la production d'acide citrique

	Substrats	Noms scientifiques	variétés
Amylacés	Epluchure de banane plantain	<i>Musa paradisiaca</i>	Tout venant
	Epluchure de manioc	<i>Manihot esculenta</i>	Yacé et Bocou
	Son de riz	<i>Oryza sativa</i>	TS2
	Rafle de maïs	<i>Zea mays</i>	EV8728
Fruits	Pomme d'anacarde	<i>Anacardium occidentale</i>	Tout venant
	Résidu d'ananas	<i>Ananas comosus</i>	MD 2
	Résidu de mangue	<i>Mangifera indica</i>	Kent

1.2. Matériel technique

Le matériel de laboratoire utilisé pour les manipulations est mentionné dans le Tableau XIII.

Tableau XIII: Présentation du matériel de laboratoire

Désignation	Utilisations	Identifiants
Agitateur magnétique	Homogénéisation des préparations	VELP-334645
Autoclave	Stérilisation du milieu de culture et des substrats	Biolab Ref : ASV 3103
Bain-marie	Maintenir les échantillons à température constante, préparation des milieux de culture	MEMMERT WTB 35
Balance de précision [0,00001g]	Peser les différentes masses	KERN WIC2100933
Broyeur électrique	Broyer les substrats	SIR MIX A LOT
Centrifugeuse	Centrifuger les échantillons	Grant LMC-4200 4200RPM
Etuve	Réaliser la fermentation à température optimale	Pol-EKO SLN53IG/SN53190133
Evaporateur rotatif	Evaporer les solvants	lboxinstruments EVA 180-B
Hotte	Ensemencement et prélèvement dans des conditions aseptiques	Biobase UV lampe
Microscope optique	Identification microscopique	Moticam 1080 INT BA310E
Refractomètre	Lecture du degré Brix	ATAGO S/No. S820441
Multiparamètre (pH, conductivité)	Lecture du pH et de la conductivité	HACH-HQ440d
Spectrophotomètre	Lecture des concentrations	HACH DR3900
Thermomètre	Mesure des températures	Ludwig Schneider 1042343
Vortex	Homogénéisation	LMS VTX-3000L
Bio-collecteur d'air	Prélèvement d'un volume d'air pour analyse microbiologique	PACK TRIO BAS MONO HEPA-100 L/min
Cellule de Malassez	Comptage des spores	0,200mm Tiefe Depth

1.3. Réactifs, solvants et milieu de culture

Les réactifs, les solvants et les milieux de culture utilisés sont consignés dans le Tableau XIV.

Tableau XIV: présentation des réactifs, solvants et milieu de culture

Désignation	Utilisations	Identifiants
Ammoniac (99,8 %)	Détermination de l'aflatoxine	CAS 7664-41-7. France
Acide chlorhydrique (37 %)	Ajuster le pH	Code : H/1200/PB17. Belgique
Acide nitrique (65 %)	Détermination des minéraux	CAS : 7697-37-2. Germany
Acide sulfurique (95 %)	Dosage des sucres	CAS : 7664-93-9. Belgique
Anhydride acétique (99 %)	Dosage de l'AC	CAS Nr. 108-24-7. Belgique
Ethanol (96 %)	Dosage des sucres	CAS : 64-17-5. France
Phénol (99 %)	Dosage des sucres	CAS Nr. 108-95-2. Belgique
Pyridine (99 %)	Dosage de l'AC	CAS : 110-86-1. France
Hydroxyde de sodium (98,8 %)	Ajuster le pH	CAS n°1310-73-2. France
Acétate d'éthyle (99,8 %)	Extraction de l'AC	CAS : 141-78-6. Belgique
Ether di-éthylique (99,7 %)	Extraction de l'AC	CAS : 60-29-7. Belgique
Agar	Fabrication du milieu PDA et CEA	-
Dextrose (98 %)	Fabrication du milieu PDA	CAS : 50-99-7. Belgique
Vert de bromocrésol	Indicateur coloré	Scharlau CAS : 76-60-8. Espagne
Milieu Czapeck-Dox	Conservation des isolats	CAS.1015.00. Espagne
Milieu Sabouraud au chloramphénicol	Culture des souches	S3181-SIGMA
CTAB (bromure de cetyltriméthylammonium)	Purification des protéines	CAS 57-09-0. France
TBE (Tris-Borate-EDTA)	Tampon de migration dans l'électrophorèse	-

2. METHODES

2.1. Isolement et caractérisation des souches de *Aspergillus niger*

2.1.1. Echantillonnage du matériel biologique dédié à l'isolement des souches de *A. niger*

La collecte des échantillons a porté sur deux types de matières organiques : des fruits (citron) et légumes (carotte, oignon,) en putréfaction, ainsi que des sols rhizosphériques de bananiers. Les échantillons de sol ont été prélevés au niveau de la rhizosphère des bananiers dans la ville de Bonoua. Les fruits et légumes ont été collectés de manière aléatoire dans trois communes d'Abidjan (Yopougon, Koumassi et Bassam), puis transportés au laboratoire dans des récipients adaptés pour analyse. Au total, 100 échantillons ont été collectés, soit dix par site et par commune

2.1.2. Culture de la souche fongique

Aspergillus niger apparaît sous forme d'une moisissure de couleur verte sur les agrumes et de couleur noire sur les légumes (Briki & Zitouni, 2013). Partant de ce constat, un citron, une carotte et un oignon ont été laissés pourrir pour les manipulations (Figure 24). Six boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre contenant chacune 10 mL de milieu PDA (Pomme de terre Dextrose Agar) gélosé ont été utilisées. Chaque boîte de Pétri a été placée successivement dans un biocollecteur d'air, permettant de capturer 100 L/min d'air provenant des bocal contenant les fruits décomposés. L'air collecté a été réparti uniformément dans chaque boîte de Pétri, et cette procédure a été répétée pour l'ensemble des six boîtes. Celles-ci ont ensuite été incubées à 30 °C dans une étuve pendant 3 à 7 jours.

Concernant les échantillons de sol, l'isolement des espèces fongiques du sol a été réalisé selon la méthode standard de Iqbal *et al.* (2015). Des prélèvements de sols rhizosphériques ont été effectués à plusieurs emplacements d'une bananeraie à Bonoua. Après avoir retiré une couche superficielle d'environ 5 cm, environ 10 g de sol ont été prélevés et dilués dans 90 mL d'eau peptonée tamponnée pour former l'inoculum. Des dilutions successives ont ensuite été réalisées : 1 mL de l'inoculum a été mélangé à 9 mL d'eau distillée stérile, une opération répétée jusqu'à atteindre une dilution de 10^{-5} . Par la suite, 1 mL de chaque dilution a été transféré séparément dans des boîtes de Pétri, auxquelles 20 mL de gélose PDA ont été ajoutés. Les boîtes ont finalement été mises en incubation à 30 °C pendant 3 à 7 jours.

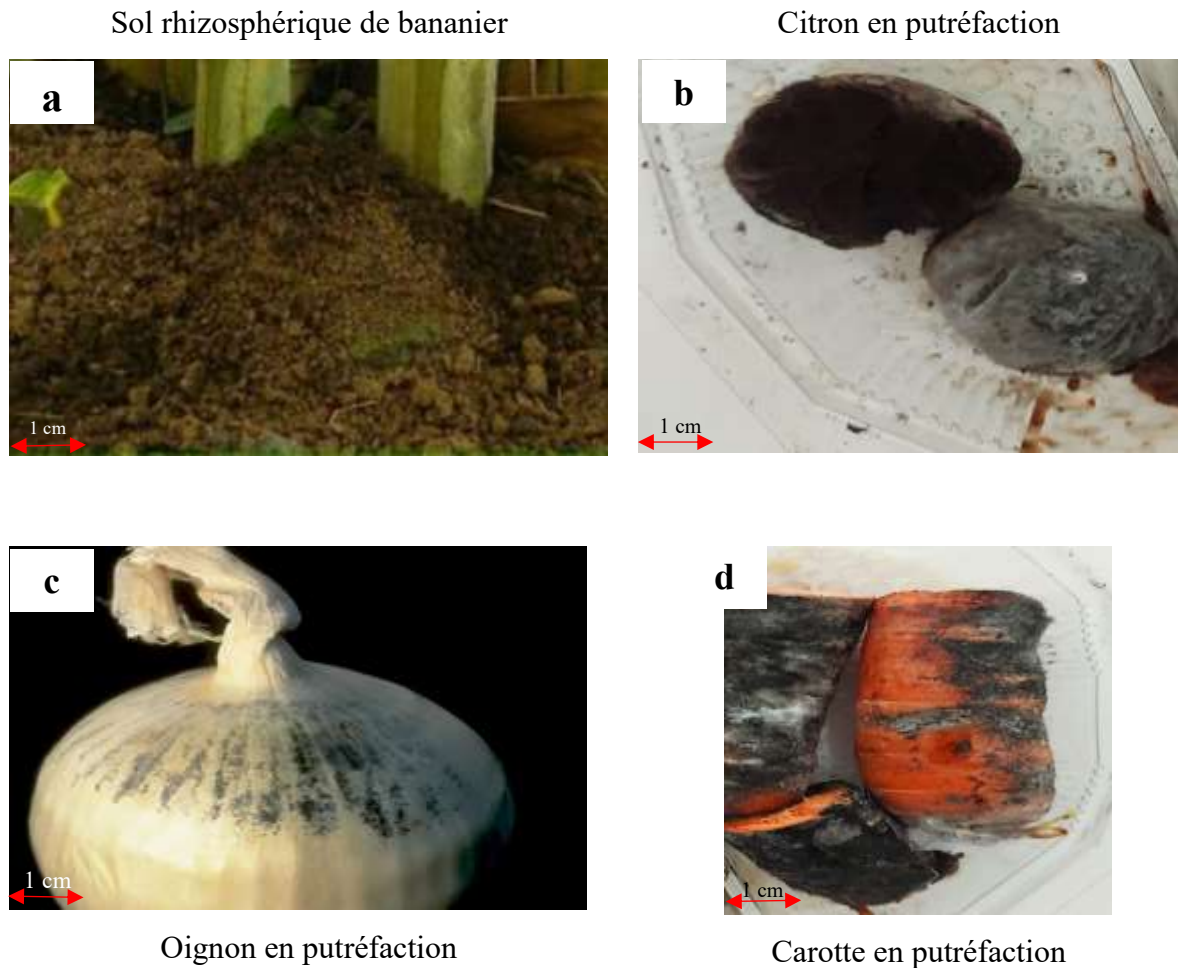


Figure 24: recherche de la souche de *Aspergillus*
Echelle : 1 cm

2.1.3. Répiquage des isolats et conservation des isolats purifiés

Pour obtenir des isolats purs de *Aspergillus*, des observations macroscopiques ont été effectuées. Les isolats morphologiquement différents observés sur les boîtes de Pétri ont été prélevés et cultivés individuellement sur le milieu Sabouraud au Chloramphénicol. Les boîtes ont été incubées à 30 °C pendant 3 à 7 jours (Diguta, 2010).

Les isolats purifiés ont été stockés sur la gélose Czapeck coulée en pente. Ces isolats ont été conservés au congélateur à -20 °C afin de garder leur viabilité et de limiter les possibilités de variation jusqu'à leur utilisation (Diguta, 2010).

2.2. Préparation des milieux de cultures

2.2.1. Milieu d'identification et d'isolation de *Aspergillus niger*

Pour la préparation du milieu PDA (Pomme de terre Dextrose Agar), 200 g de pommes de terre ont été nettoyées dans un premier temps, puis découpées en petits cubes avec la peau avant d'être ajoutées à un litre d'eau distillée. Dans un second temps, l'ensemble est porté à ébullition pendant une heure et, après la cuisson, le mélange a été filtré. L'agar est dissout à chaud dans le jus de pomme de terre, puis le dextrose (20 g) et l'acide acétique à 3 % (3 gouttes) ont été ajoutés et mélangés à la préparation. Finalement, le potentiel hydrogène (pH) du milieu a été ajusté à 5,6 à l'aide du NaOH à 0,1 N ou du HCl à 0,1 N, puis le milieu a été stérilisé à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes à 100 kPa (FDA, 2009; Dufresne & Guy, 2021). Ce milieu a été utilisé pour le prélèvement et l'identification de *Aspergillus niger*.

2.2.2. Milieu de détection de l'aflatoxine

Ce milieu a été préparé selon Lin & Dianese (1976), revu par Shazla *et al.* (2013) comme suit : d'abord, 200 mL de lait de noix de coco sont dilués dans 300 mL d'eau distillée. Le mélange est chauffé pendant 20 minutes, puis filtré avec un morceau de gaze. Ensuite, 16 g d'agar sont ajoutés et dissous à chaud dans le lait de coco. Enfin, le pH est ajusté à 6,9 à l'aide du NaOH à 0,1 N ou du HCl à 0,1 N et le milieu est stérilisé à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes. C'est un milieu d'identification d'aflatoxines.

2.2.3. Milieu de criblage de l'acide citrique

Le milieu de criblage qualitatif de l'acide citrique a été préparé selon la méthode décrite par Wang *et al.* (2020). La préparation du milieu Czapek-Dox additionné au vert de bromocrésol débute par la stérilisation préalable de 500 mL de milieu Czapek-Dox Agar, préparé sans indicateur. Une fois stérilisé et refroidi à une température de 50 à 55 °C (maintenu liquide pour faciliter l'incorporation), une solution indicatrice est préparée en dissolvant 0,05 g de vert de bromocrésol dans 20 mL d'eau distillée stérile. Cette solution est ensuite intégrée au milieu légèrement refroidi, puis mélangée soigneusement pour garantir une répartition homogène de l'indicateur.

2.2.4. Critères d'identification du genre *Aspergillus*

L'identification des moisissures repose principalement sur les caractères cultureux et la morphologie, plutôt que sur des propriétés biochimiques. Pour ce faire, il est souvent nécessaire d'utiliser des milieux de culture standard qui favorisent la croissance ou la reproduction, permettant ainsi une expression adéquate des caractères à étudier (Dufresne & Guy, 2021).

2.2.4.1. Critères d'identification macroscopique

Pour l'identification macroscopique, il s'agit de décrire :

- l'aspect des colonies : les colonies peuvent présenter des aspects duveteux, laineux, cotonneux, veloutés, poudreux ou granuleux ;
- le relief des colonies : les colonies peuvent présenter un aspect plat ou plissé, et leur consistance peut varier (molle, friable, élastique ou dure). Elles sont envahissantes ;
- la couleur des colonies : l'identification repose en grande partie sur la couleur des colonies ; elles peuvent être blanches, crèmes, jaunes, brunes, allant jusqu'au noir (Diguta, 2010) ;
- la taille des colonies : la taille de l'espèce est comprise entre 1,5-2 cm et peut être étendue à 4 cm.

2.2.4.2. Critères d'identification microscopique

L'examen microscopique d'une colonie fongique se réalise après avoir étalé un échantillon entre lame et lamelle. En général, un grossissement à l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants à identifier. Le diluant utilisé comme réactif était le bleu de lactophénol. L'identification des moisissures repose sur l'observation de :

- hyphes : *Aspergillus niger* est un champignon filamenteux comportant des hyphes septés (filaments cloisonnés), compris entre 3,5 et 5 μm ;
- conidiophores : sont à paroi lisse, de 1,5 à 3 mm de long, hyalin ou deviennent foncés vers la vésicule ;
- conidies : sont globuleuses à sous-globuleuses (diamètre de 3,5 à 5,0 μm), brun foncé à noir et à paroi rugueuse (Ruchi, 2012) ;
- spores : sont le produit de reproduction asexuée, les spores (les conidies) de *Aspergillus niger* sont exogènes et sont formés par bourgeonnement à partir d'une cellule spécialisée (Diguta, 2010).

2.2.5. Recherche d'aflatoxines

La capacité des champignons isolés à produire l'aflatoxine a été détectée en laboratoire selon la méthode de Saito & Machida (1999). Chaque souche a été inoculée au centre du milieu gélosé solidifié dans des boîtes de Pétri en verre et incubée à 30 °C pendant 3 jours. Pour observer le changement de couleur des colonies après incubation, les boîtes ont été placées à l'envers et 0,2 mL de solution d'ammoniaque à 25 % a été déposée dans le couvercle de la boîte de Pétri. Les boîtes sont incubées pendant 3 jours à 30 °C, puis les boîtes ont été sorties de l'étuve et

retournées. Immédiatement après l'introduction de la solution d'ammoniaque dans la boîte de Pétri, l'exposition à la vapeur d'ammoniaque a permis de détecter les souches productrices d'aflatoxine. Si la couleur de base de la colonie passe à une couleur rouge, rose ou jaune, orange, avec un degré différent, cela montre que le champignon a la capacité de produire des aflatoxines.

2.2.6. Technique de criblage qualitatif pour la production d'acide citrique

Les souches sélectionnées ont été criblées qualitativement dans des boîtes de Pétri pour la production d'acide citrique en utilisant la gélose Czapek-Dox, additionnée de 5 % de vert de bromocrésol comme indicateur. Le milieu a été coulé dans des boîtes de Pétri stériles individuelles et maintenu à 30 ± 2 °C. Chaque boîte a été inoculée avec une aiguille d'inoculation stérile et étiquetée. Les boîtes ont été incubées pendant 5 jours à température ambiante et observées pour le développement d'une zone jaune qui indique la production d'acide citrique (Iqbal *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2020). Ce changement de couleur indique une modification du pH due à la production d'acide citrique. Il faut comparer l'intensité et l'étendue du changement de couleur autour des colonies pour chaque souche, pour évaluer qualitativement la production d'acide citrique. Les isolats qui ont produit la plus large zone jaune ont été sélectionnés pour des études ultérieures.

2.3. Critères d'identification moléculaire

2.3.1. Extraction de l'ADN génomique

L'extraction de l'ADN génomique des moisissures a été réalisée selon la méthode au CTAB, décrite par Huang *et al.* (2018). Dans un premier temps, des cultures fongiques âgées de trois jours ont été utilisées pour la récupération du mycélium. Ensuite, celles-ci ont été broyées dans un mortier stérile avec de l'eau distillée stérile ; puis 1,5 mL de la suspension obtenue a été transféré dans des microtubes Eppendorf. Après centrifugation à 10 000 tours pendant 5 minutes, le culot cellulaire a été récupéré. Une fois le surnageant éliminé, le culot a été resuspendu dans 1,5 mL de tampon de lyse CTAB1, homogénéisé au vortex, et incubé à 60 °C pendant 30 minutes. Par la suite, les enzymes ARNase et protéinase K ont été ajoutées à la suspension, suivies d'une seconde incubation à 60 °C pendant 30 minutes. Après une centrifugation à 15 000 tours pendant 10 minutes, 900 µL du surnageant ont été transférés dans un nouveau tube contenant 900 µL de chloroforme. Le mélange a alors été homogénéisé, puis de nouveau centrifugé à 15 000 tours pendant 15 minutes. Dans l'étape suivante, 650 µL de la phase aqueuse ont été transférés dans une autre capsule, auxquels 1 300 µL de tampon CTAB2 ont été ajoutés. Après incubation d'une heure, une nouvelle centrifugation à 15 000 tours

pendant 15 minutes a été réalisée. Le culot obtenu a ensuite été traité avec le tampon CTAB3 et 700 μL de chloroforme. Après agitation, 600 μL de la phase aqueuse ont été prélevés et précipités par l'ajout de 360 μL d'isopropanol froid ($-20\text{ }^\circ\text{C}$), suivis d'une incubation de 20 minutes. Le culot résultant, obtenu après centrifugation ($15\ 000 \times g$, 15 min), a été lavé avec 500 μL d'éthanol à 70 %, puis séché à l'étuve pendant 30 minutes à $55\text{ }^\circ\text{C}$. Enfin, l'ADN a été resuspendu dans 30 μL de tampon de conservation, et stocké à $-20\text{ }^\circ\text{C}$ (Kouakou *et al.*, 2022).

2.3.2. Electrophorèse des produits d'amplification

Les produits amplifiés ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 2 %. Le gel a été préparé avec du tampon TBE (0,5 X) et coloré avec 5 μL de GelRed®. Les amplicons ont été mélangés à 2 μL de tampon de charge, puis 5 μL de chaque mélange ont été déposés dans les puits du gel. La migration a été effectuée à 125 V, et les bandes d'ADN ont été visualisées sous lumière UV après électrophorèse (Rørvik *et al.*, 2003).

2.3.3. Séquençage du génome complet

L'ADN génomique a été extrait à partir de biomasse fraîche, en utilisant un protocole permettant d'obtenir de l'ADN de haut poids moléculaire. La qualité et l'intégrité de l'ADN ont été évaluées par spectrophotométrie NanoDrop, fluorimétrie Qubit (kits Qubit 1X dsDNA HS Assay, ThermoFisher Scientific) et électrophorèse sur gel ou système TapeStation, afin de confirmer l'absence de dégradation et la présence de fragments supérieurs à 10 kb (PacBio, 2020). Lorsque nécessaire, l'ADN a été fragmenté mécaniquement pour obtenir des tailles comprises entre 15 et 20 kb. Après réparation des extrémités et ajout de queues A, des adaptateurs SMRTbell spécifiques à la technologie PacBio ont été ligaturés, formant des molécules circulaires prêtes à être séquencées. La bibliothèque a été purifiée à l'aide de billes AMPure PB, et les fragments courts éliminés par sélection de taille avec le système BluePippin. Sa qualité et sa concentration ont été vérifiées par Qubit et TapeStation. Elle a ensuite été diluée, chargée sur une SMRT Cell de la plateforme PacBio Sequel II et séquencée en mode SMRT (*Single Molecule, Real-Time*), utilisant la technologie des *Zero-Mode Waveguides* (ZMW). Ce système permet le séquençage en temps réel de chaque molécule d'ADN grâce à une ADN polymérase immobilisée au fond d'un puits nanométrique, avec détection des nucléotides fluorescents incorporés (Bidard-Michelot, 2017; Motyka-Pomagruk *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2023).

2.3.4. Analyse bio-informatique des données et identification taxonomique

Le contrôle qualité des lectures brutes a été réalisé avec *FastQC* (version Galaxy 0.7.4+galaxy1). Les séquences de faible qualité et les adaptateurs ont été supprimés à l'aide de *Trim Galore* (version Galaxy 0.6.7+galaxy1) (Andrews, 2010). Puis, les lectures ont été assemblées à l'aide de *SPAdes* et la qualité de l'assemblage a été évaluée via *QUAST* (version Galaxy 5.3.0+galaxy0), garantissant la complétude et la continuité des génomes (Bankevich *et al.*, 2012). Par la suite, la classification taxonomique a été réalisée avec *Kaiju* (version 1.9.0), en utilisant la base de données *Fungi RefSeq* via la plateforme KBase. Pour finir, l'annotation fonctionnelle des génomes assemblés a été effectuée avec *EggNOG-mapper* (version Galaxy 2.1.8+galaxy4), basé sur les bases de données du NCBI. Plus précisément, chaque gène a été associé à son groupe orthologue optimal (OG) à l'aide de l'outil *PHMMER*. De plus, en mode *DIAMOND*, les correspondances ont été confirmées via alignement rapide sur les protéines du référentiel *EggNOG* (Brûna *et al.*, 2021).

2.4. Caractéristiques des sous-produits et déchets industriels agricoles pour la production d'acide citrique en fermentation sur substrat solide

2.4.1. Echantillonnage des substrats servant à la production d'acide citrique

Les échantillons ont été choisis sur la base des aliments les plus consommés et/ou exportés sur le territoire ivoirien. Ces échantillons ont la particularité d'être très peu valorisés.

2.4.1.1. Echantillonnage des déchets industriels agricoles

L'échantillonnage des déchets industriels agricoles (DIA) a été réalisé entre 2022 et 2023 auprès de trois industries ivoiriennes. La première, une entreprise de fabrication de jus de fruits située à Marcory (Abidjan), a fourni des résidus d'ananas (DIAa). La seconde, une usine de production d'attiéké localisée à Bassam (Abidjan), a permis de collecter des épiluchures de manioc (DIAM). La troisième, une unité de production de farine de maïs implantée à Bouna, a été la source des déchets de maïs étudiés (DIAMs).

2.4.1.2. Echantillonnage des sous-produits agricoles

L'échantillonnage des sous-produits agricoles (SPA) a été réalisé entre 2022 et 2023, selon les saisons de disponibilité de chaque échantillon. Les collectes de banane plantain (SPA_{bp}) et de son de riz (SPA_r) ont été effectuées respectivement dans des coopératives situées à Bassam et à N'Douci. Les fruits pommes de cajou (SPA_{ac}) et mangues (SPA_{mg}), présentant des défauts visuels et exclus du circuit commercial, ont été collectés respectivement dans une coopérative de Bondoukou et au port fruitier d'Abidjan.

2.4.2. Prétraitement des matières premières

En vue d'éliminer toutes les impuretés physiques (matières organiques, poussière, cailloux), les amylacées et les fruits ont été lavés à l'eau de robinet et désinfectés à l'eau de javel à 12° de chlore.

2.4.2.1. Traitement des amylacés

Les épiluchures de manioc ont été coupées en petits morceaux, puis séchées à 60 °C pendant 48 h dans une étuve. Il en est de même pour les épiluchures de banane qui ont subi le même traitement. Les rafles de maïs, quant à elles, ont été coupées en morceaux et séchées à 60 °C pendant 48 h dans une étuve, conjointement avec le son de riz. Après séchage, chaque substrat a été broyé, puis stocké séparément (Figure 26).

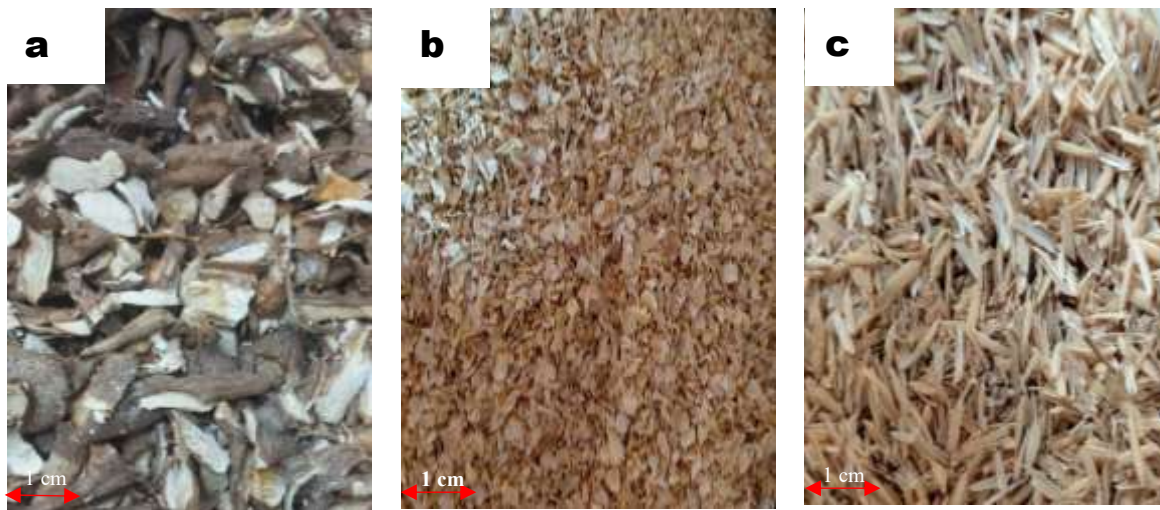


Figure 25: substrats amylacés

a : Épiluchure de manioc ; b : Rafle de maïs ; c : Son de riz
Echelle : 1 cm

2.4.2.2. Traitement des fruits

Les fruits ont été broyés individuellement à l'aide d'un broyeur électrique. Les purées de fruit obtenues ont été stérilisées à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes. Après cette opération, les échantillons ont été laissés refroidi sous une hotte et utilisés pour les analyses (Figure 26).



Figure 26: substrats de fruit
a : ananas ; b : mangue ; c : anacarde
Echelle : 1 cm

2.4.3. Réalisation de la fermentation

La Figure 25 présente le diagramme de préparation du milieu de fermentation. Ce diagramme décrit les étapes successives de préparation et de traitement d'un substrat amylicé ou fruitier en vue de la production d'acide citrique. Le processus débute par le lavage et le séchage à 60 °C pendant 48 h des substrats d'amylicés et de fruits. Puis, le tamisage du substrat à l'aide d'une maille de 2 mm, suivi d'une stérilisation à haute température (121 °C dans un autoclave) pour éliminer les contaminants. Le substrat est ensuite humidifié jusqu'à atteindre un taux d'humidité de 70 %. L'inoculation intervient alors avec l'ajout d'un inoculum contenant une concentration de 1×10^9 spores/mL. Le mélange est placé en incubation à 30 °C pour favoriser la croissance microbienne et la production métabolique. La dernière étape consiste en un dosage de l'acide citrique afin de quantifier le produit obtenu.

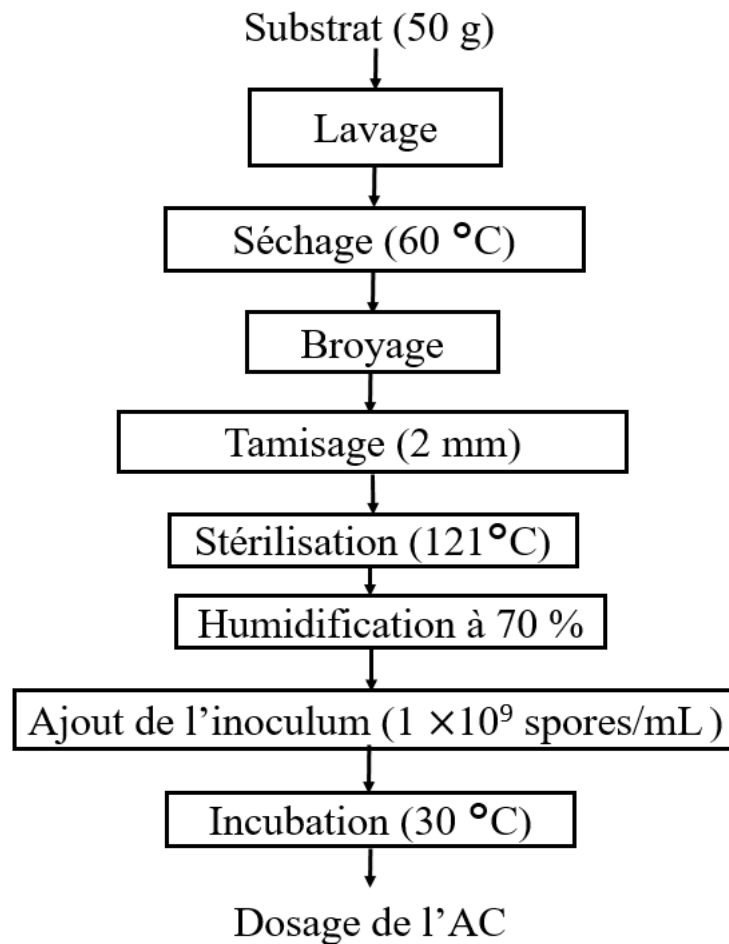


Figure 27: diagramme de préparation du milieu de fermentation

2.4.4. Analyse des sous-produits et déchets industriels agricoles

2.4.4.1. Analyses chimiques

2.4.4.1.1. Détermination du pH

La détermination du pH est réalisée grâce à la Method 9045D (2004). Un poids d'échantillon (environ 10,0 g) est mis en contact avec 100 mL d'eau de façon à obtenir un rapport solide/liquide de 1:10. Le mélange obtenu est homogénéisé pendant cinq minutes à une température de 25 °C avec un agitateur mécanique. La solution ainsi obtenue est filtrée et l'électrode du pH-mètre est plongée dans 10 mL du filtrat puis, l'appareil affiche numériquement la valeur du pH. La mesure du pH a été réalisée tous les 2 jours pendant 15 jours.

2.4.4.1.2. Détermination du taux de sucre

La détermination du taux de sucre soluble dans les sous-produits agricoles et déchets industriels agricoles a été effectuée selon la norme ISO 20244:2018. Après broyage et dilution

des échantillons, une goutte de chaque solution a été déposée sur le prisme d'un réfractomètre. La lecture directe du degré Brix (reflétant la teneur en saccharose) a ensuite été corrigée par multiplication avec le facteur de dilution pour obtenir la concentration réelle en sucres.

2.4.4.1.3. Détermination de la conductivité

La conductivité a été réalisée selon la méthode décrite par la LSB (2011). Un poids d'échantillon (environ 10,0 g) est mis en contact avec 100 mL. Le mélange obtenu est homogénéisé pendant trente minutes à une température de 25 °C avec un agitateur mécanique. La solution ainsi obtenue est filtrée et l'électrode du conductimètre est plongée dans le filtrat. L'appareil affiche numériquement la valeur de la conductivité et est exprimé en $\mu\text{S}/\text{cm}$.

2.4.4.2. Analyses biochimiques

2.4.4.2.1. Teneur en humidité

La teneur en humidité des échantillons a été déterminée selon la Norme ISO 712 (2009). Dans un humidimètre préalablement taré, les échantillons d'amylacés et de fruits sont directement pesés. 5 g d'un échantillon est déposé dans la nacelle de l'humidimètre. L'échantillon sèche à 105 °C pendant 10 min. La masse obtenue à 0,001 g près est inscrite sur l'appareil après analyse. Trois essais ont été réalisés sur chacun des échantillons et la teneur en humidité (% H) est la moyenne des résultats de ces trois essais. Le taux de matière sèche (% MS) s'obtient par la différence de la masse totale au taux d'humidité

$$\%H = \frac{(M_1 - M_2)}{M_1} \times 100 \quad (1)$$

Avec :

M_1 = la masse de l'échantillon avant séchage ;

M_2 = la masse de l'échantillon après séchage.

2.4.4.2.2. Teneur en cendres

Le taux de cendres des échantillons a été déterminé selon la Norme ISO 2171 (2007). Dans une capsule préalablement séchée et tarée, une masse de 5 g d'échantillon (Pe) est pesée à l'aide de la balance. Les échantillons sont mis au dessiccateur, puis portés au four électrique à température réglable allant de 40 °C à 550 °C de façon progressive pendant 24 h. Les capsules sont ensuite retirées du four et laissées refroidies au dessiccateur pendant 15 min. La masse est pesée à nouveau à 0,001 g près. Trois essais ont été réalisés pour chacun des échantillons de fruits et d'amylacés et le taux de cendres (% TC) est la moyenne des résultats de ces trois essais.

$$\%TC = \frac{(M_1 - M_0)}{Pe} \times 100 \quad (2)$$

Avec

M_0 = la masse du creuset vide ;

M_1 = la masse du creuset + échantillon après incinération au four ;

Pe = prise d'essai.

2.4.4.2.3. Teneur en matières grasses

La teneur en matières grasses (% MG) a été déterminée selon la norme Ivoirienne (NI ISO 659, 2009). Dans une cartouche préalablement séchée et tarée, dix (10) g d'échantillon sont prélevés. La cartouche est ensuite introduite dans le soxhlet surmonté du ballon posé sur le régulateur d'ébullition. Une quantité de 250 mL d'hexane sont renversés sur la cartouche dans le soxhlet. Puis, le dispositif de soxhlet est fixé à une température réglée à 70 °C et le robinet ouvert pour permettre le passage de l'eau dans le réfrigérant. Après 6 h de temps, toute la quantité d'hexane est recueillie dans le ballon et placé à l'étuve à 105 °C pendant 30 min. Par la suite, la masse du ballon et de l'extrait obtenu après refroidissement sont pesés. Trois essais ont été réalisés et le taux de matières grasses (% MG) est la moyenne des résultats de ces trois essais sur chacune des échantillons d'amylacés et de fruits.

$$\%MG = \frac{(P_2 - P_1)}{P_0} \times 100 \quad (3)$$

Avec :

P_2 = masse du ballon et de l'huile (en g) après l'extraction ;

P_1 = masse du ballon vide (en g) ;

P_0 = Prise d'essai (en g).

2.4.4.2.4. Teneur en protéines

La teneur en protéines a été déterminée selon la norme Française (NFV 04-211, 2011). Dans un matras, une masse de 0,5 g d'échantillon est pesée. A cette masse sont ajoutés 1 g de catalyseur (mélange d'oxyde rouge de mercure, de sulfate de sodium et de sulfate de cuivre) et 10 mL d'acide sulfurique concentré. Sous une hotte, le mélange est chauffé doucement pendant 5 à 10 mn jusqu'à ce qu'il ne se forme plus de mousse. Ensuite, le mélange est porté à ébullition jusqu'à décoloration complète de la solution. Après refroidissement, ajouter 300 mL d'eau distillée et le transvaser dans une fiole de 500 mL. L'acidité est neutralisée par 50

mL de soude concentrée 10 N en présence de 5 gouttes de phénolphaléine et distiller. Au moins 150 mL de distillat est recueilli dans 25 à 50 mL d'acide borique à 4 % en présence de rouge de méthyle (5 gouttes). Le distillat est enfin titré par l'acide sulfurique à 0,1 N. Trois essais ont été réalisés et le taux de protéines (% P) est la moyenne des résultats de ces trois essais sur chacun des échantillons d'amylacés et de fruits.

$$\boxed{\%P = \text{Azote} \times 6,25} \quad (4)$$

$$\boxed{\text{Azote} = \frac{0,14 \times V}{P_e}} \quad (5)$$

Avec :

V = volume de l'acide sulfurique 0,1 N versé ;

P_e = prise d'essai.

2.4.4.2.5. Teneur en glucides totaux

La teneur en glucides totaux (% GT) par rapport à la matière sèche a été déterminée par méthode différentielle (méthode préconisée par la Directives FAO/INFOODS, 2015). Le calcul est fait avec les valeurs déterminées des taux de protéines, de lipides, des cendres et d'humidité. La formule utilisée est la suivante :

$$\boxed{\%GT = 100 - [\%C + \%P + \%H + \%L]} \quad (6)$$

Avec:

% C/MS = taux des cendres par rapport à la matière sèche ;

% H/MS = taux d'humidité par rapport à la matière sèche ;

% P/MS = taux des protéines par rapport à la matière sèche ;

% L/MS = taux des lipides par rapport à la matière sèche.

2.4.4.2.6. Teneur en sucres réducteurs

La méthode de détermination des sucres réducteurs utilisée, a été décrite par Dubois *et al.* (1956). Au préalable, deux (2) g de l'échantillon ont été introduits dans un tube à essai contenant 10 mL d'éthanol à 95°. Ensuite, le mélange a été agité vigoureusement pendant 3 minutes, puis centrifugé à 3000 tours/min pendant 3 minutes. Par la suite, le surnageant a été récupéré, et 5 mL d'éthanol absolu y ont été ajoutés. Après cela, l'ensemble a été chauffé au bain-marie à 85 °C pendant 15 minutes. Une fois refroidi, le digestat a été homogénéisé.

Ainsi, l'extrait obtenu était prêt pour le dosage. D'une part, 1 mL de l'extrait a été prélevé et mélangé à 1 mL de solution de phénol à 5 % dans un tube. D'autre part, 5 mL d'acide sulfurique concentré ont été ajoutés. Par la suite, le mélange a été homogénéisé, puis porté à ébullition pendant 3 minutes à 150 °C. Une fois refroidi, l'absorbance a été mesurée à 490 nm. Enfin, la concentration en sucres a été déterminée grâce à une courbe d'étalonnage réalisée avec des étalons de glucose et de saccharose.

2.4.4.2.7. Teneur en sucres totaux

Pour la détermination des sucres totaux, la méthode utilisée est décrite par Dubois *et al.* (1956). D'abord, une quantité de 1 g d'échantillon est homogénéisé dans 10 mL d'éthanol à 80 %, puis centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 minutes. Cette opération est répétée deux fois et les surnageants sont regroupés. Ensuite, l'extrait est purifié en ajoutant 2 mL d'acétate de plomb à 10 %, et, centrifugé à nouveau, puis neutralisé avec 2 mL d'acide oxalique à 5 % avant une dernière centrifugation. L'éthanol est évaporé à l'aide de l'évaporateur rotatif et le volume de l'extrait est ajusté à 25 mL avec de l'eau distillée. Enfin, les sucres totaux sont dosés en réalisant une réaction avec le phénol et l'acide sulfurique. Ainsi, l'absorbance est mesurée à 490 nm et les résultats sont comparés à une courbe étalon de glucose.

2.4.4.2.8. Teneur en amidon

La teneur en amidon est déterminée par la formule suivante :

$$\boxed{\% \text{ Amidon} = 0,9 \times [\% \text{ GT} - \text{sucres totaux}]} \quad (7)$$

2.4.4.2.9. Teneur en fibres totales

La méthode de Weende décrite par Wolf a été utilisée pour la détermination des fibres brutes (LSB, 2011). Un volume de 50 mL d'acide sulfurique 0,25 N a été ajouté à une masse de 2 g de chaque échantillon et homogénéisé. Le tout a été porté à ébullition pendant 30 min sous un réfrigérant. Un volume de 50 mL de soude à 0,31 N a été ajouté au mélange et porté à ébullition pendant 30 min. L'extrait est filtré à chaud à l'aide d'un entonnoir muni de papier-filtre préalablement taré et sans résidu. Le résidu obtenu est lavé 3 fois avec de l'eau distillé chaude, puis séché à l'étuve à 105 °C pendant 8 heures. Le papier-filtre est refroidi au dessiccateur et pesé. Après la pesée, le résidu a été calciné à 550 °C pendant 3 heures au four à moufle puis refroidi au dessiccateur et la cendre est pesée. L'expérience est répétée trois (3) fois et la teneur en cellulose brute est donnée par la formule suivante :

$$\% \text{ Cellulose brute} = \frac{(M_1 - M_2)}{M} \times 100 \quad (8)$$

Avec :

M_1 = la masse du résidu après séchage à étuve ;

M_2 = la masse des cendres après incinération au four ;

M = la masse de l'échantillon.

2.4.4.3. Analyse d'éléments minéraux

D'abord, un (1) g d'échantillon est mélangé à 5 mL de solution de nitrate de magnésium ($Mg(NO_3)_2$), puis chauffé à 105 °C pendant 30 minutes. Ensuite, le mélange est incinéré à 550 °C pendant 3 heures et refroidi dans un dessiccateur. Après refroidissement, les cendres sont récupérées avec 2 mL de HCl concentré, avant d'être complétées à 50 mL dans une fiole jaugée. Le pH de la solution est ajusté entre 3 et 10 à l'aide d'une solution de NaOH à 2 N. Enfin, la teneur en phosphore est mesurée par spectrophotométrie à 480 nm.

Le dosage du cuivre, fer, magnésium, manganèse et zinc est réalisé par spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA). Dans un premier temps, 0,5 g d'échantillon est digéré avec 2,5 mL d'acide nitrique jusqu'à évaporation complète. Par la suite, une seconde digestion est effectuée avec 1,5 mL d'acide perchlorique jusqu'à décoloration totale des cendres. Pour finir, le digestat est récupéré avec une solution d'acide nitrique à 1 %. Les résultats sont exprimés en mg/g de matière sèche.

2.4.4.4. Dosage de l'acide citrique

L'acide citrique a été dosé selon la méthode de Marier et Boulet modifiée par Dhillon en 2012 (Dhillon, 2012). Le principe consiste en la mise en œuvre d'une réaction de coloration sous l'action combinée de la pyridine et de l'anhydride acétique à 32 °C, en présence d'acide citrique. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en citrate. La densité optique est lue au spectrophotomètre UV à une longueur d'onde de 420 nm. Pour le dosage de l'acide citrique, une quantité de 2,5 g des différents milieux fermentés ont été prélevés et dissous dans 12,5 mL d'eau distillée. Puis l'ensemble a été homogénéisé à l'aide d'un vortex et centrifugé à 3000 tours/minutes pendant 10 min. Ensuite à 1 mL du surnageant, a été ajouté 1,3 mL de pyridine et 5,7 mL d'anhydride acétique puis placé immédiatement dans un bain à 22 °C pendant 30 minutes. Le mélange devint coloré. Cette coloration est lue au spectrophotomètre UV sur courbe d'étalonnage préalablement établie et permet de calculer la concentration de la solution en acide citrique selon la formule suivante et est exprimée en g/kg (Dhillon, 2012).

$$C = \frac{C_l \times V}{m} \times 100 \quad (9)$$

Avec :

C = la concentration réelle d'acide citrique (en g/kg) ;

C_l = la concentration d'acide citrique lue au spectrophotomètre en (g/L) ;

V = le volume de récupération (en L) ;

m = la masse de substrat fermenté utilisée en (kg).

2.4.5. Protocole de récupération de l'acide citrique

Le protocole de récupération de l'acide citrique (AC) débute avec un mélange de 200 g contenant de la biomasse fongique et l'acide citrique. Dans un premier temps, 1000 mL d'eau distillée stérile sont ajoutées à la biomasse afin de faciliter l'extraction de l'AC. Immédiatement après, une filtration est appliquée pour séparer le mycélium et les débris de substrat du liquide contenant l'acide citrique. Le filtrat obtenu subit une centrifugation à 3000 tours/minutes pendant 15 minutes. Puis, une extraction par solvant est réalisée en utilisant séparément deux réactifs : de l'acétate d'éthyle et de l'éther diéthylique. Le produit issu de cette extraction est purifié pour obtenir l'acide citrique final.

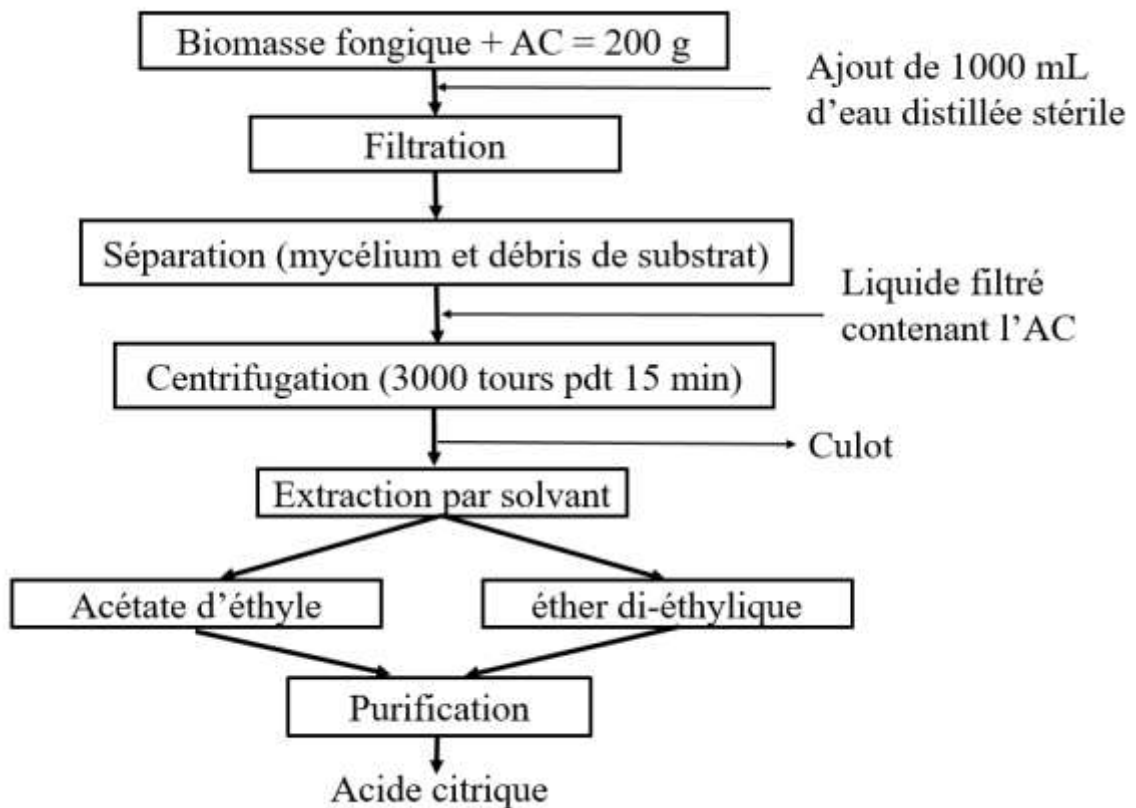


Figure 28: diagramme de récupération de l'acide citrique

2.4.5.1. Filtration

La filtration a été utilisée pour séparer les mycéliums de *Aspergillus niger* ainsi que les débris d'amylacés et de fruits du liquide fermenté riche en acide citrique. À la fin de la fermentation, 1000 mL d'eau distillée stérile sont ajoutées au substrat. Après une agitation vigoureuse, le mélange est laissé reposer pendant une heure. Ensuite, un entonnoir équipé d'un papier filtre a été placé dans un Erlenmeyer propre, puis le mélange a été versé délicatement dans l'entonnoir, permettant au liquide de s'écouler tout en retenant les solides. Pour accélérer la filtration, une aspiration légère à l'aide d'un embout de vide a été utilisée. Cependant, comme la filtration n'a pas suffi à éliminer tous les débris et le mycélium, une centrifugation a été réalisée pour compléter le processus.

La centrifugation, reposant sur la force centrifuge, a permis d'isoler efficacement les cellules de *Aspergillus niger* et les débris du liquide fermenté contenant l'acide citrique. D'abord, le mélange a été transféré dans des tubes à centrifuger. Les tubes ont ensuite été placés dans la centrifugeuse, en veillant à équilibrer correctement la charge. La centrifugeuse a tourné à une vitesse de 3000 tours/min pendant 15 minutes. À la fin de la centrifugation, les cellules et les débris se sont séparés du liquide. Enfin, le surnageant a été transféré délicatement dans un nouveau récipient propre.

2.4.5.2. Extraction par solvant

L'extraction par solvant a été la méthode de séparation utilisée pour récupérer l'acide citrique à partir du liquide fermenté. Deux (2) différentes méthodes d'extraction ont été utilisées.

La première méthode a consisté à l'extraction avec l'éther di-éthylique et la deuxième à partir de l'acétate d'éthyle. Pour réaliser ces extractions, on a d'abord transféré la solution aqueuse contenant l'acide citrique dans une ampoule à décanter de 1000 mL. Ensuite, 200 mL du solvant organique (éther di-éthylique) ont été ajoutés et agités délicatement pour favoriser la dissolution de l'acide citrique dans le solvant. Après avoir laissé reposer l'ampoule pendant 2 heures, les deux phases se sont séparées, l'eau étant restée en bas et le solvant organique contenant l'acide citrique étant au-dessus. Puis, le robinet de l'ampoule a été ouvert pour éliminer la phase aqueuse et récupérer la phase organique dans un récipient propre. L'extraction a été répétée avec un nouveau solvant pour maximiser le rendement. Enfin, l'acide citrique a été récupéré à partir du solvant organique par évaporation sous vide.

La deuxième méthode a été décrite par Yeung & Stanley (2010). En effet, l'acétate d'éthyle, reconnu pour sa sélectivité élevée envers l'acide citrique, a été choisi comme solvant alternatif. Le surnageant obtenu après centrifugation a été mélangé avec 200 mL d'acétate

d'éthyle. Une agitation vigoureuse a été appliquée pendant 15 minutes pour favoriser le transfert de l'acide citrique vers la phase organique. Le mélange a ensuite été laissé en décantation pendant 2 heures, permettant une séparation nette entre la phase aqueuse (inférieure) et la phase organique (supérieure). Pour optimiser le rendement, l'extraction a été répétée deux fois avec des volumes frais de solvant. Enfin, l'acétate d'éthyle chargé en acide citrique a été soumis à une évaporation sous vide à 35 °C.

2.4.5.3. Cristallisation de l'acide citrique

L'acide citrique brut a été dilué dans 50 mL d'eau chaude (100 °C) à l'intérieur d'un Erlenmeyer. Le mélange a été lentement remué jusqu'à ce qu'il soit totalement dissout. Par la suite, le mélange a été ramené à une température de 35 °C sur la paillasse en remuant pendant une demi-heure. En permettant au mélange de se refroidir graduellement, des cristaux d'acide citrique pur se sont formés, tandis que les impuretés ont demeuré en solution. Puis, une filtration des cristaux d'acide citrique a été effectuée à l'aide d'un papier filtre, ce qui a permis de dissocier les cristaux des impuretés présentes dans la solution. Pour finir, les cristaux d'acide citrique ont été entièrement séchés dans une étuve à 20 °C pendant une durée d'une heure afin d'obtenir le produit purifié.

2.4.5.4. Détermination des rendements

Le rendement d'extraction correspond au pourcentage de l'acide citrique initial effectivement récupéré par le solvant après le procédé d'extraction. Il quantifie l'efficacité du solvant :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Masse d'acide citrique extrait}}{\text{Masse initiale}} \times 100 \quad (10)$$

La masse initiale d'acide citrique désigne la masse totale d'acide citrique présente dans le bouillon de fermentation avant extraction, calculée à partir de la concentration mesurée et du volume de liquide traité. Cette valeur représente la quantité maximale théoriquement extractible pour un essai donné.

$$\text{Masse initiale d'acide citrique} = C_{AC} \times V \quad (11)$$

Avec :

C_{AC} = Concentration d'acide citrique dosé (g/L) ;

V = volume du liquide de fermentation (1000 mL).

Le rendement massique représente la quantité d'acide citrique (AC) extraite par unité de masse de substrat initial, exprimée en grammes d'AC par 100 grammes de substrat (g/100g). Il

quantifie l'efficacité globale du procédé et convertit les résultats de laboratoire en données exploitables en industrie.

$$\text{Rendement massique (g/100g)} = \frac{\text{Masse d'AC extrait}}{\text{Masse du substrat initial}} \times 100 \quad (12)$$

2.4.5.5. Analyses statistiques

Toutes les mesures ont été réalisées en triple. Les données ont été traitées sur Excel. Des calculs de la moyenne et de l'écart-type ont été effectués pour l'exploitation des données. Les différentes données recueillies sont traitées avec le logiciel Statistica (version 8.0). L'analyse comparative des variances a été effectuée avec ANOVA un facteur suivi du test HSD de TUKEY, au seuil de signification avec 5 %. La différence entre deux variables est significative si $P \leq 0,05$.

TROISIÈME PARTIE : RÉSULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE 1 : CARACTERISTIQUES DES SOUCHES LOCALES DE *ASPERGILLUS NIGER* LES PLUS PERFORMANTES POUR PRODUIRE L'ACIDE CITRIQUE A PARTIR DES DECHETS AGRICOLES

1. Résultats

1.1. Abondance de la flore fongique en fonction des échantillons

Environ 110 isolats fongiques ont été isolés et purifiés (Tableau XV). Un total de 70 isolats fongiques a été retrouvé dans les fruits et les légumes, tandis que 40 isolats ont été isolés du sol rhizosphérique de bananeraies.

Tableau XV: quantité d'isolats retrouvés dans le matériel biologique

	Matériels	Quantité d'isolats	Quantité de <i>Aspergillus</i> isolés
Champignons isolés dans le sol	rhizosphère	40	4
Champignons isolés dans les fruits et légumes	oignon	30	9
	citron	15	5
	carotte	25	6
Total	-	110	24

Par ailleurs, en se basant sur les caractères macroscopiques des colonies, 24 isolats identifiés comme appartenant au genre *Aspergillus* ont été sélectionnés. Ces 24 isolats ont été regroupés en 7 morphotypes représentés dans les Figures 29 à 35.

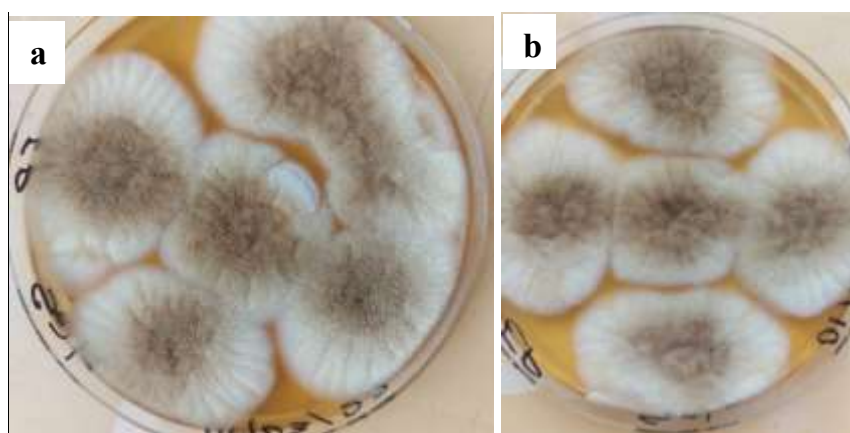


Figure 29: Groupe 1-*Aspergillus* sp₁.
Moisissure de *Aspergillus* extrait : a-du citron; b-de la carotte

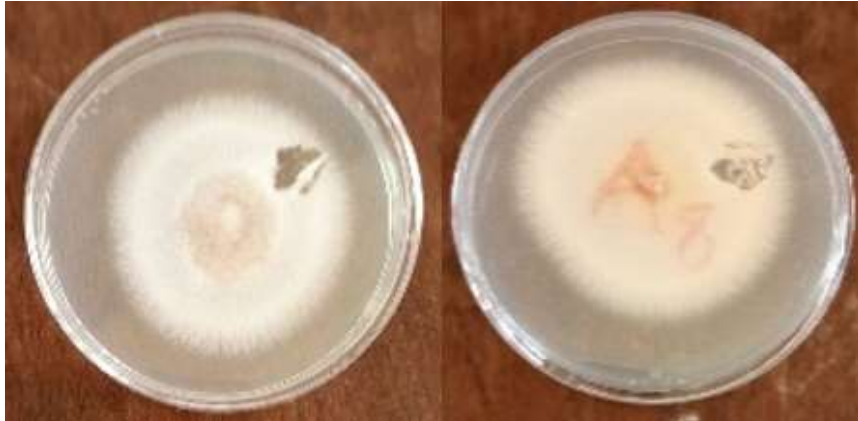


Figure 30: Groupe 2-*Aspergillus* sp₂.
Moisissure de *Aspergillus* extrait du sol

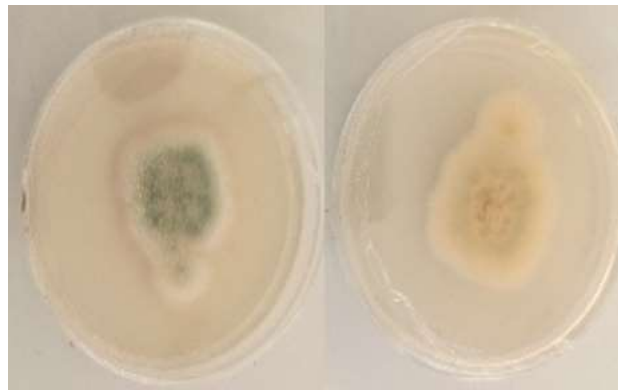


Figure 31: Groupe 3-*Aspergillus* sp₃.
Moisissure de *Aspergillus* extrait du sol

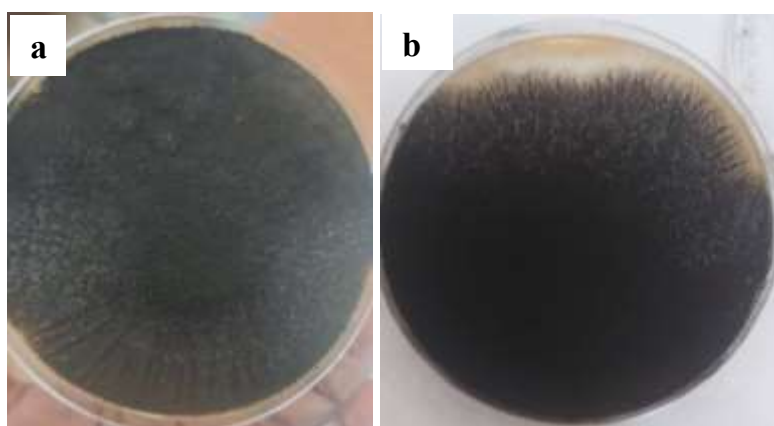


Figure 32: Groupe 4-*Aspergillus* sp₄.
Moisissure de *Aspergillus* extrait : a-du citron; b-de l'oignon



Figure 33: Groupe 5-*Aspergillus* sp₅.
Moisissure de *Aspergillus* extrait du sol

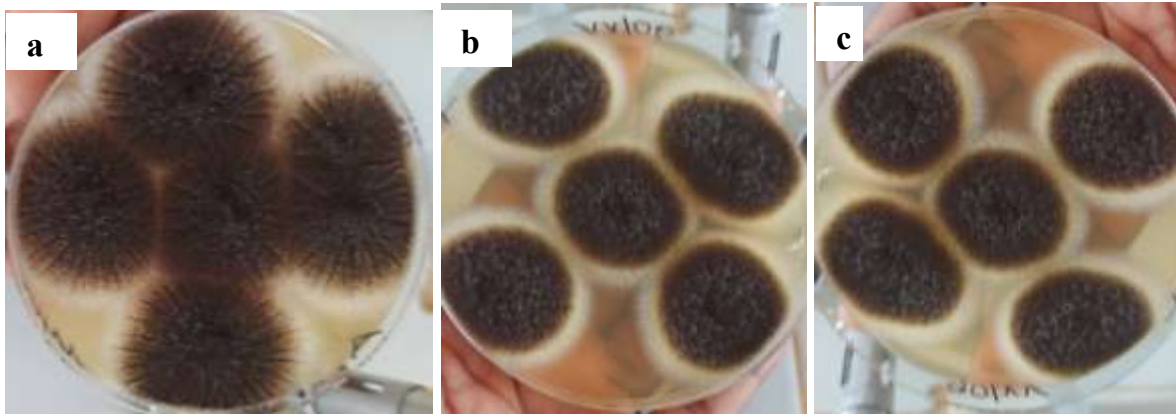


Figure 34: Groupe 6-*Aspergillus* sp₆.
Moisissure de *Aspergillus* extrait : a-du sol ; b-du citron et c-de l'oignon



Figure 35: Groupe 7-*Aspergillus* sp₇.
Moisissure de *Aspergillus* extrait du citron

1.2. Diversité morphologique des souches de *Aspergillus*

L'identification macroscopique et microscopique a été effectuée sur les 7 morphotypes du genre *Aspergillus* recensés. Au niveau de l'identification macroscopique des souches fongiques, elle s'est principalement appuyée sur les caractères culturaux, ce qui a permis d'obtenir des informations cruciales sur leur morphologie. De plus, ces observations macroscopiques ont été complétées par des analyses microscopiques, permettant ainsi une identification plus précise des souches. Les caractéristiques morphologiques, telles que la forme, la disposition des hyphes et l'aspect des conidiophores ont été soigneusement examinées, révélant des détails supplémentaires qui enrichissent notre compréhension des souches fongiques étudiées. Les résultats sont consignés dans le Tableau XVI.

Tableau XVI: Identification phénotypique des souches de *Aspergillus*

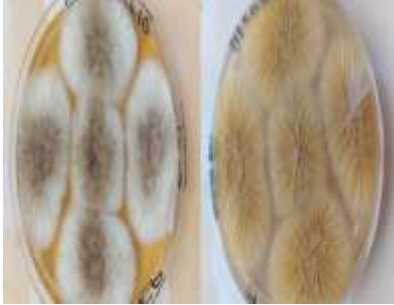

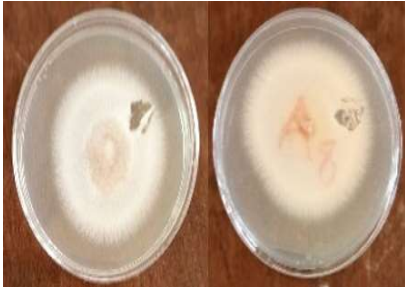
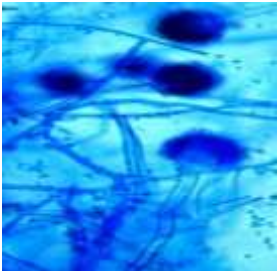
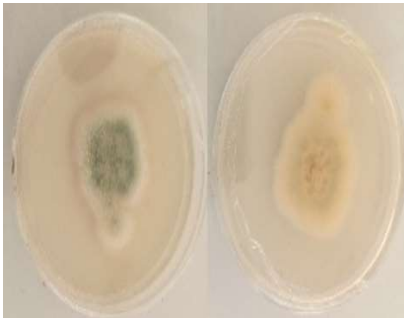
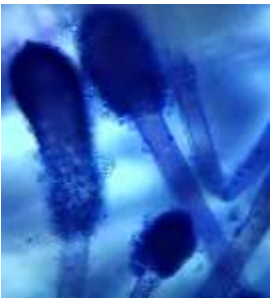
Échantillons fongiques	Code isolat	Description macroscopique	Image macroscopique	Description microscopique	Image microscopique
Groupe 1 <i>Aspergillus</i> sp1.	E1, B1, C1, D1	Colonies apparaissent sous forme laineuses et granuleuses avec un aspect plissé ; elles sont d'abord blanches, puis jaunes et noires à maturité. La surface dorsale de la colonie est incolore ou jaune pâle.		Hyphes septés (5 µm) Conidiophores lisse de 1,5 à 3 mm de long, hyalin ou deviennent foncés vers la vésicule ; conidies globuleuses, brun foncé à noir et à paroi rugueuse.	
Groupe 2 <i>Aspergillus</i> <i>candidus</i>	A2, B2, C2	Colonie blanchâtre au début qui devient beige au 5 ^{ème} jour ; mycélium bas de forme circulaire ; revers beige ; croissance modérée sur Sabouraud Chloramphénicol à 30 °C et d'aspect cotonneux.		Conidiophores lisses et incolores se terminant par des têtes aspergillaires radiées et se scindant en plusieurs colonnes.	
Groupe 3 <i>Aspergillus</i> <i>fumigatus</i>	G3, J3, V3	Colonie blanchâtre au début qui devient verdâtre à partir du 5 ^e jour ; croissance lente (diamètre < 4 cm au 5 ^e jour); mycélium bas d'aspect cotonneux et de revers beige.		Conidiophores courts, lisses et incolores avec évasement progressif au sommet ; phialides directement portés par la vésicule, dressées et densément groupés ; têtes aspergillaires assez grandes et longues.	

Tableau XVI : Identification phénotypique des souches de *Aspergillus* (suite)


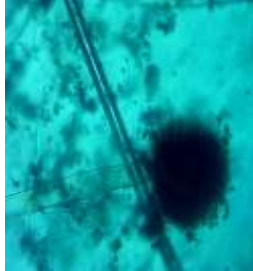

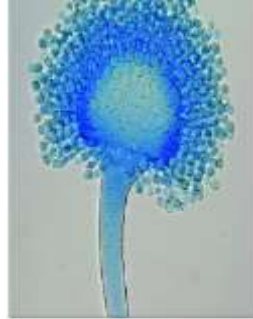
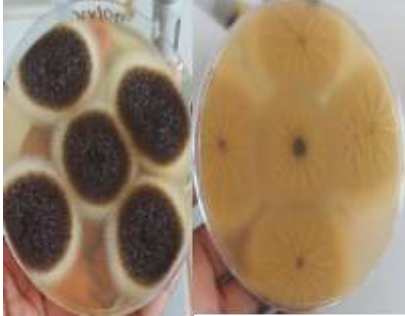



Échantillons fongiques	Code isolat	Description macroscopique	Image macroscopique	Description microscopique	Image microscopique
Groupe 4 <i>Aspergillus</i> sp2.	E2, H2, K2, M2	Colonie noirâtre a contour blanchâtre ; croissance lente ; mycélium de forme irrégulière. Aspect cotonneux ; revers beige.		Hyphes septés ; Conidiophores lisse et long ; conidies globuleuses, noires à paroi rugueuse.	
Groupe 5 <i>Aspergillus</i> <i>flavus</i>	O5, B5, L5	Colonie vert jaunâtre à contour blanchâtre; croissance modérée; forme irrégulière ; revers beige; aspect poudreux.		Conidiophores longs à parois rugueuses; conidies vert-jaune globuleuses; hyphes cloisonnés et hyalins;	
Groupe 6 <i>Aspergillus</i> sp3.	E3, M3, P3, L3	Colonie noirâtre ; mycélium de forme circulaire ; contour blanchâtre ; aspect cotonneux ; revers jaunâtre.		Hyphes septés ; Conidiophores lisse de 3 mm de long, hyalin ; conidies globuleuses.	

Tableau XVI : Identification phénotypique des souches de *Aspergillus* (suite)

Échantillons fongiques	Code isolat	Description macroscopique	Image macroscopique	Description microscopique	Image microscopique
Groupe 7 <i>Aspergillus</i> sp4.	E4, H4, Z4	Colonie noirâtre à spore blanchâtre, poudreuse ; mycélium bas de forme circulaire ; contour blanchâtre ; aspect cotonneux ; revers jaunâtre.		Hyphes hyalins et cloisonnés ; Conidiophores lisse et long, hyalin ; conidies globuleuses.	

1.3. Criblage qualitatif pour la production d'aflatoxine

La capacité de production d'aflatoxine des souches fongiques isolées sur milieu *Coconut Extract Agar* (CEA) a été évaluée en laboratoire. Les résultats, synthétisés dans le Tableau XVII, révèlent des profils distincts. Les groupes 3 et 5 ont démontré une forte production d'aflatoxines, tandis que le groupe 2 a présenté une capacité modérée. En revanche, les souches du groupe 1, groupe 4, groupe 6 et groupe 7 se sont avérées non productrices d'aflatoxines sur ce milieu. Par ailleurs, les variations chromatiques observées lors des tests, indicatrices des niveaux de toxines, sont illustrées dans l'Annexe 1 à 7, offrant un support visuel aux données quantitatives.

Tableau XVII: Capacité des isolats à produire l'aflatoxine

Champignons	CEA
Groupe 1	ND
Groupe 2	-
Groupe 3	++++
Groupe 4	ND
Groupe 5	++++
Groupe 6	ND
Groupe 7	ND

ND=non détecté; Intensité de la couleur : faible (-) ; fort (+)

1.4. Criblage qualitatif pour la production d'acide citrique

L'ensemble des 24 souches de *Aspergillus* isolées ont été testées sur milieu gélose Czapek-Dox additionné de vert au bromocrésol afin d'évaluer leur capacité à produire de l'acide citrique. Parmi elles, les isolats E1, E2, E3 et E4 issues respectivement des espèces (groupe 1, groupe 4, groupe 6 et groupe 7) se sont distinguées par une zone de halo jaune particulièrement large (supérieure à 15 mm de diamètre), signifiant une forte production d'acide citrique, ce qui a motivé leur sélection pour les étapes ultérieures. À l'inverse, le groupe 3 et 5 ont présenté des halos jaunes très réduits, indiquant une production marginale mesurant 8 mm de diamètre. Quant au groupe 2, il a affiché une zone de halo intermédiaire, reflétant une capacité modérée (4 mm). Le Tableau XVIII et l'Annexe 8 à 12 montrent la

capacité des isolats à produire l'acide citrique sur le milieu Czapeck additionné au vert de bromocrésol.

Tableau XVIII: Capacité des isolats à produire l'acide citrique

Champignons	Czapeck-dox-bbc
Groupe 1	++++
Groupe 2	++
Groupe 3	-
Groupe 4	++++
Groupe 5	-
Groupe 6	++++
Groupe 7	++++

Production d'AC (+) ; production faible (-)

1.5. Caractéristiques moléculaires des souches

1.5.1. Profil taxonomique des souches

Les Figures 36 à 39 illustrent la répartition taxonomique des quatre isolats fongiques (E1, E2, E3 et E4). Trois d'entre eux (E1, E2, E3) présentent une cohérence remarquable à travers l'ensemble des niveaux taxonomiques (du phylum au genre), tandis que l'isolat E4 s'en distingue nettement.

1.5.1.1. Niveau Phylum

Les isolats E1, E2 et E3 montrent une prédominance absolue du phylum Ascomycota, représentant 100 % des séquences classifiées. À l'opposé, E4 n'en contient que 40 %, indiquant une forte divergence. Cette figure met en évidence une rupture nette du profil taxonomique de E4 comparativement aux trois autres isolats (Figure 36).

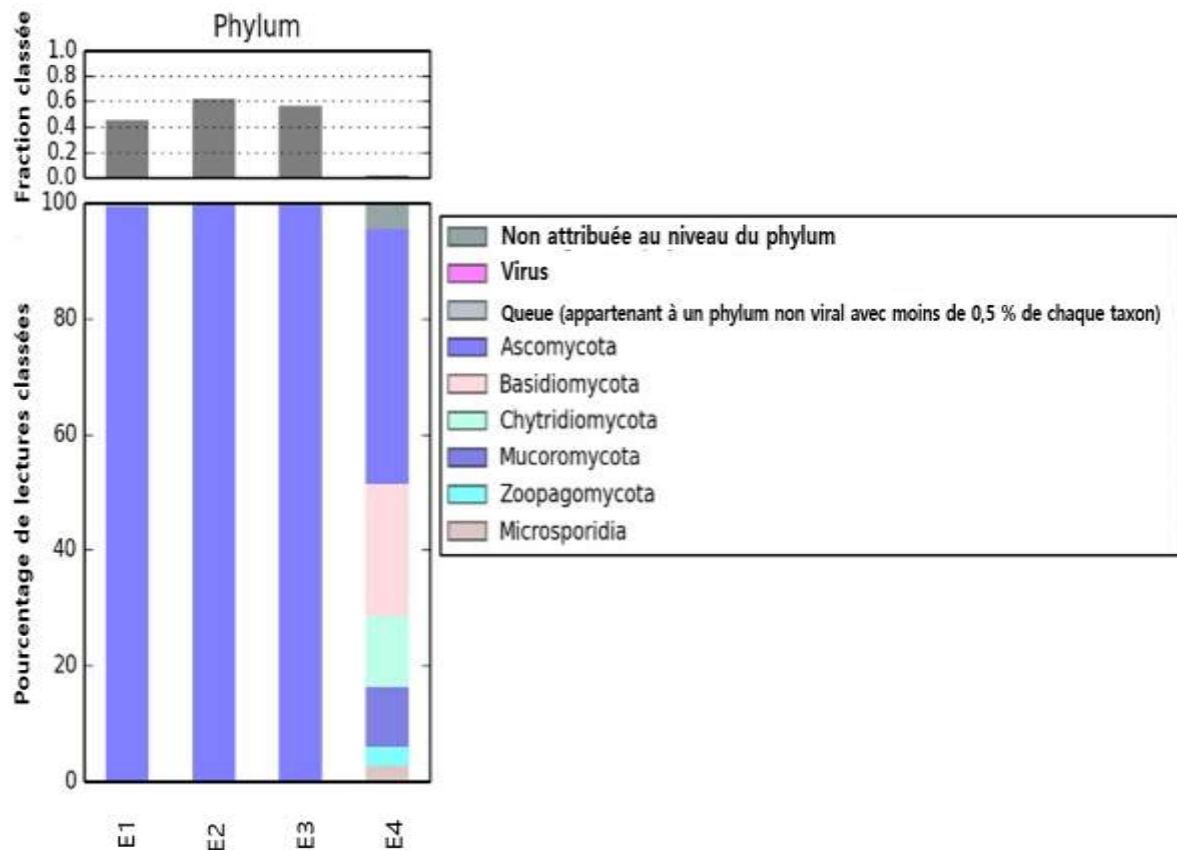


Figure 36 : Profil taxonomique spécifique au phylum

1.5.1.2. Niveau Classe

La classification au niveau de la classe révèle la dominance de Eurotiomycetes chez E1, E2 et E3 (environ 98 %), comme l'indiquent les bandes bleu clair couvrant presque l'intégralité des barres. En revanche, E4 présente une représentation très faible de cette classe (environ 15 %), au profit d'autres classes fongiques comme Chytridiomycetes et Agaricomycetes, illustrant une composition taxonomique hétérogène (Figure 37).

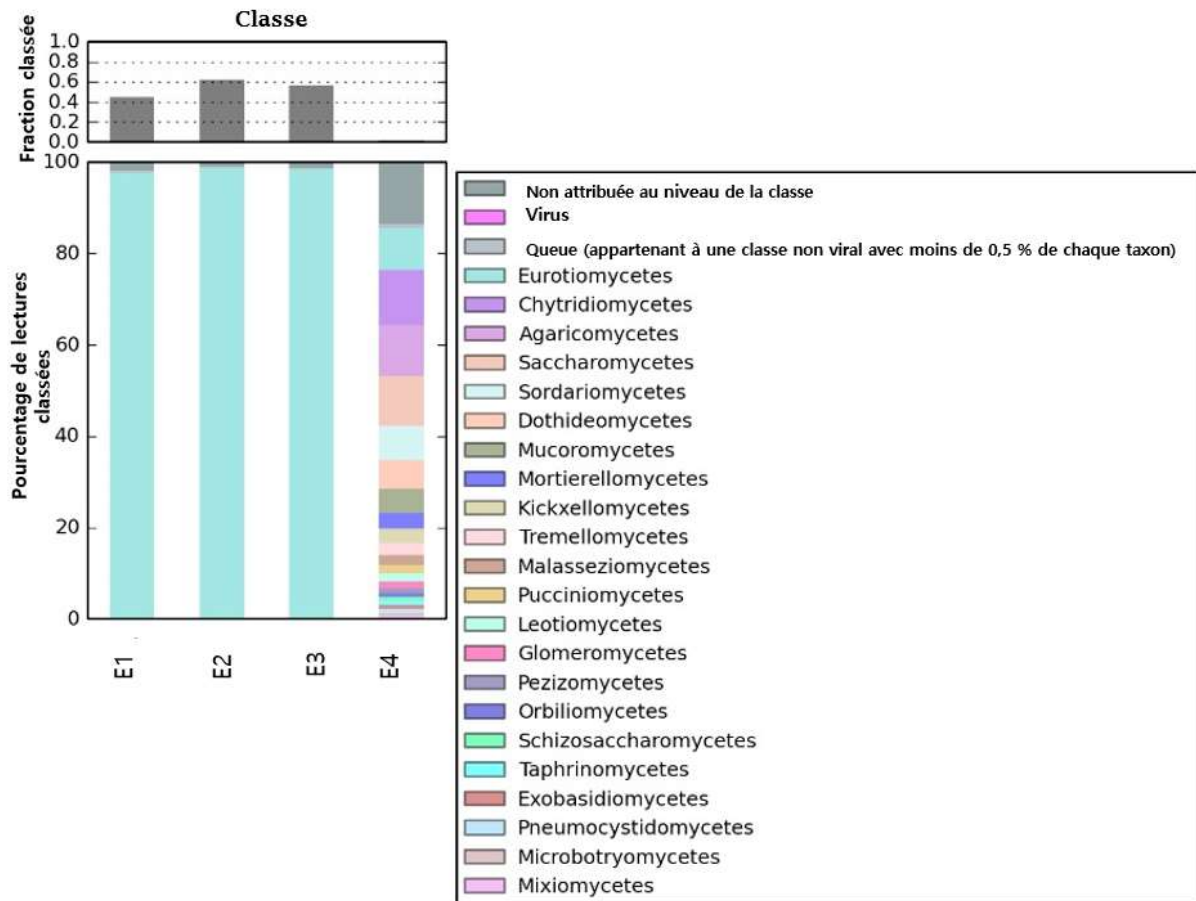


Figure 37: Répartition des classes fongiques

1.5.1.3. Niveau Ordre

Les ordres fongiques les plus représentés chez E1 à E3 appartiennent majoritairement à Eurotiales (environ 98 %). E4 se distingue une fois encore par la quasi-absence de cet ordre (environ 5 %), au profit d'ordres atypiques comme Saccharomycetales et Rhizophydiales, confirmant la spécificité de cet isolat (Figure 38).

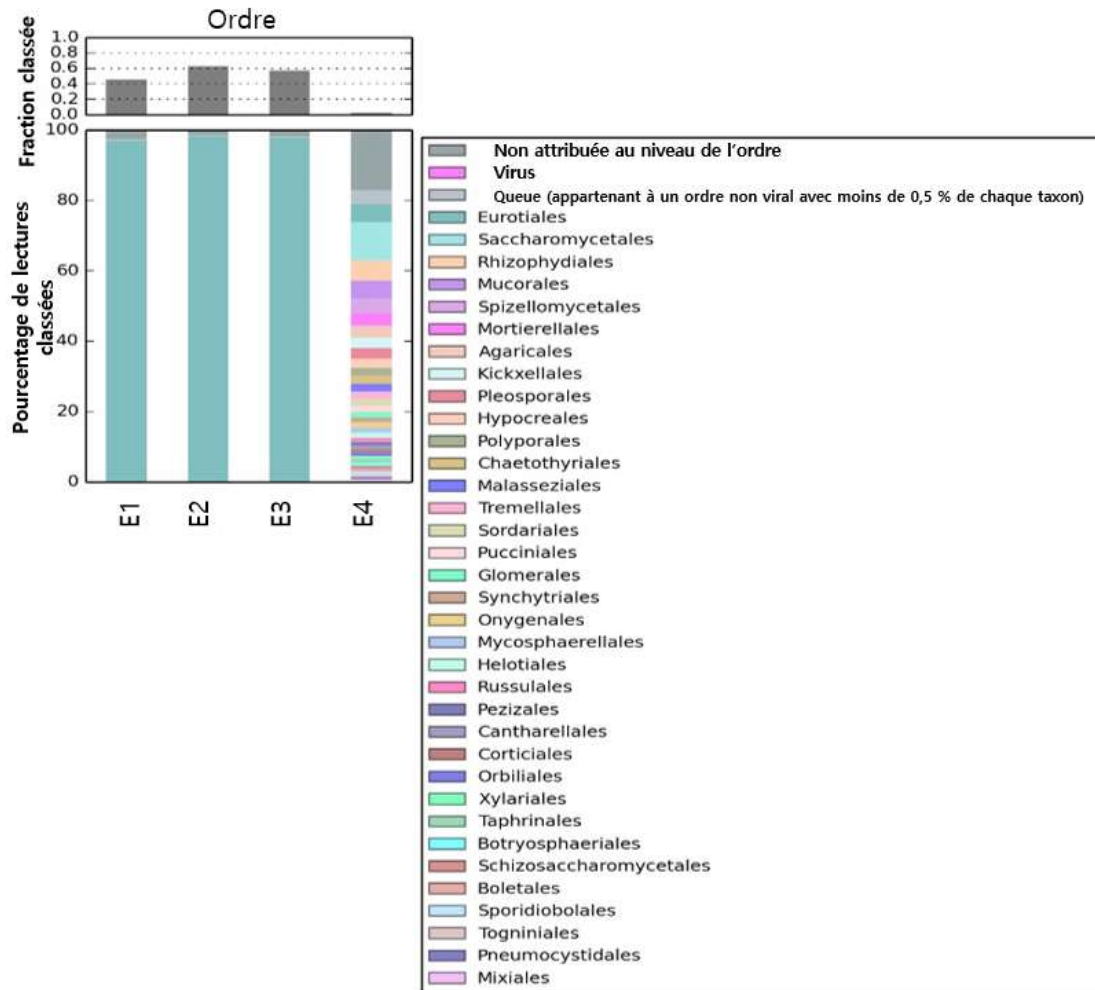


Figure 38: hiérarchie des ordres fongiques

1.5.1.4. Niveau Genre

Les genres identifiés révèlent une dominance écrasante de *Aspergillus* chez E1, E2 et E3 (environ 98 %). Chez E4, cette dominance de *Aspergillus* chute à environ 5 %, tandis que des genres tels que *Batrachochytrium*, *Spizellomyces* et *Lobosporangium* sont majoritairement retrouvés. Une portion importante des séquences demeure non assignée au niveau du genre (Figure 39).

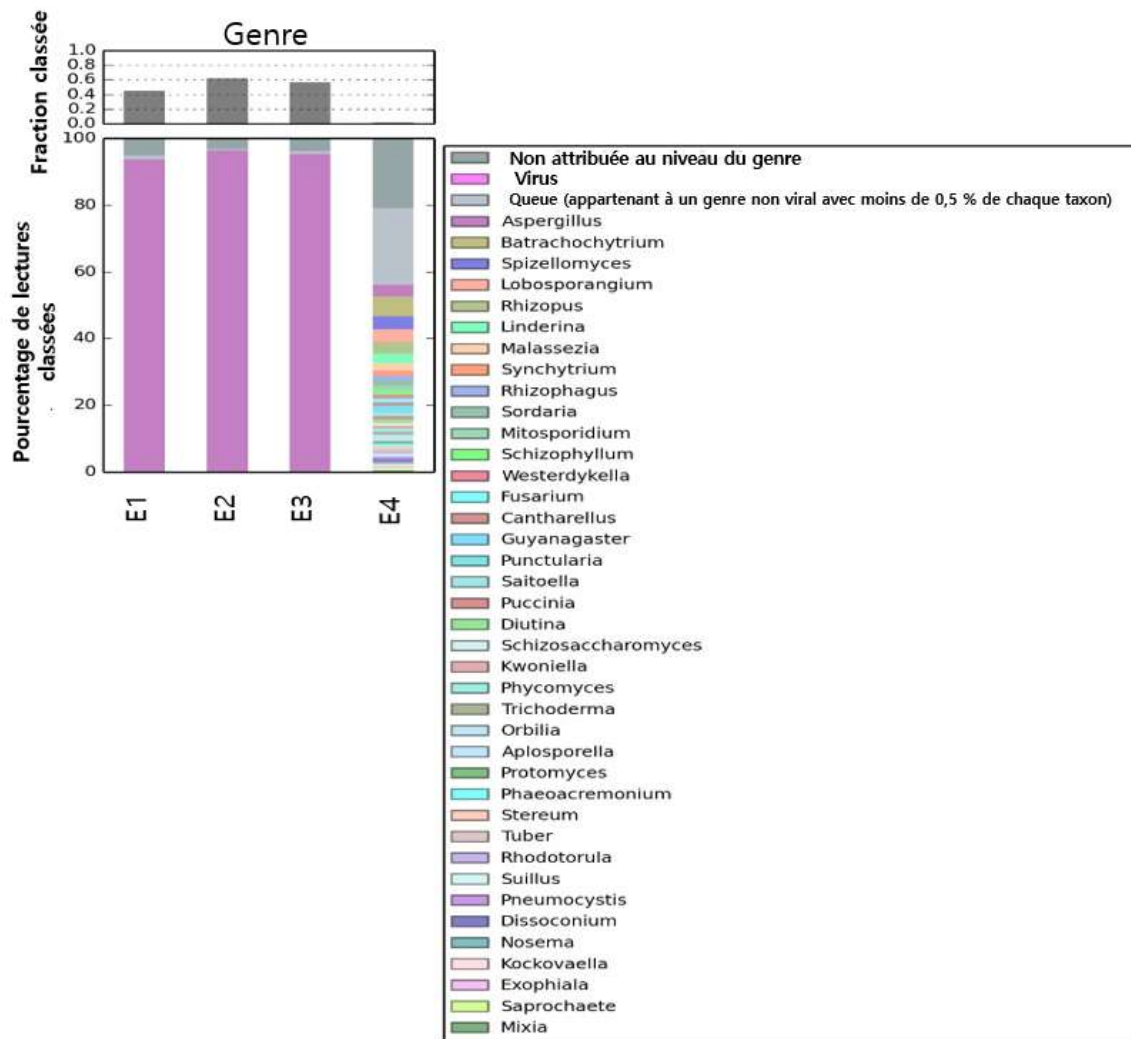


Figure 39: hiérarchie du genre fongique

1.5.1.5. Comparaison avec les souches de référence

Le Tableau XIX compare les isolats aux espèces de référence, révélant des profils distincts. Pour E1, *Aspergillus niger* domine avec 64 % d'abondance relative, soutenu par 234 257 reads alignés, dont 14 299 679 paires de bases concordantes et 152 290 non concordantes ; parallèlement, *A. welwitschiae* représente 27 % (79 941 reads) et *A. luchuensis* 8 % (11 071 reads). En revanche, E2 présente une homogénéité frappante avec *A. niger* qui atteint 92 % d'abondance pour 555 727 reads alignés, 38 835 378 paires de bases concordantes et seulement 177 490 non concordantes, tandis que les autres espèces restent marginales (*A. welwitschiae* : 6 % ; *A. luchuensis* : 1 %). Quant à E3, il suit un schéma proche de E1. *A. niger* capte 65 % d'abondance (127 390 reads, 8 508 576 paires concordantes, 102 558 non concordantes), alors que *A. welwitschiae* constitue 27 % du profil. Pour finir, E4 contraste radicalement par l'absence totale d'alignement : toutes les métriques (reads, paires

concordantes/non concordantes, abondance) sont indiquées comme "non classé", signalant une divergence complète avec les références.

Tableau XIX: comparaison des isolats avec les souches de références

Isolats	Espèces	Read count	Total BP mapped	Total BP mismatch	Abondance relative
E1	<i>Aspergillus niger</i>	234 257	14 299 679	152 290	0,64
	<i>Aspergillus welwitschiae</i>	79 941	4 919 290	52 869	0,27
	<i>Aspergillus luchuensis</i>	11 071	913 606	11 715	0,08
E2	<i>Aspergillus niger</i>	555 727	38 835 378	177 450	0,92
	<i>Aspergillus welwitschiae</i>	31 227	2 098 220	26 824	0,06
	<i>Aspergillus luchuensis</i>	3 792	343 358	6 612	0,01
E3	<i>Aspergillus niger</i>	127 390	8 508 576	102 558	0,65
	<i>Aspergillus welwitschiae</i>	43 448	2 914 951	35 453	0,27
	<i>Aspergillus luchuensis</i>	4 881	476 256	6 883	0,07
E4	Non-classé	-	-	-	-
	Non classé	-	-	-	-
	Non classé	-	-	-	-

Read count : Nombre de fragments d'ADN alignés sur le génome; Total BP mapped: Nombre total de paires de bases correctement alignées; Total BP mismatch: Nombre de paires de bases discordantes lors de l'alignement ; Abondance relative: Proportion de l'espèce dans l'échantillon.

1.5.2. Annotation fonctionnelle

1.5.2.1. Évaluation de la similarité génétique entre les isolats

Le diagramme de Venn (Figure 40) montre que 75 marqueurs génétiques sont partagés par les quatre isolats E1, E2, E3 et E4. Par ailleurs, 586 marqueurs sont communs à E1, E2 et E3 ; 64 marqueurs à E2, E3 et E4 ; et 47 marqueurs à E1, E2 et E4. Deux marqueurs sont partagés entre E1, E2 et E3, tandis qu'un marqueur est commun à E1, E3 et E4. Au niveau des relations bilatérales, 743 marqueurs sont partagés par E1 et E2, 662 par E2 et E4, 164 par E2

et E4, 4 par E1 et E3, et un marqueur par E3 et E4. En ce qui concerne les marqueurs spécifiques, E1 présente 18 marqueurs uniques, E2 en possède 2 759, E3 en compte 26 et E4 en présente 2 364.

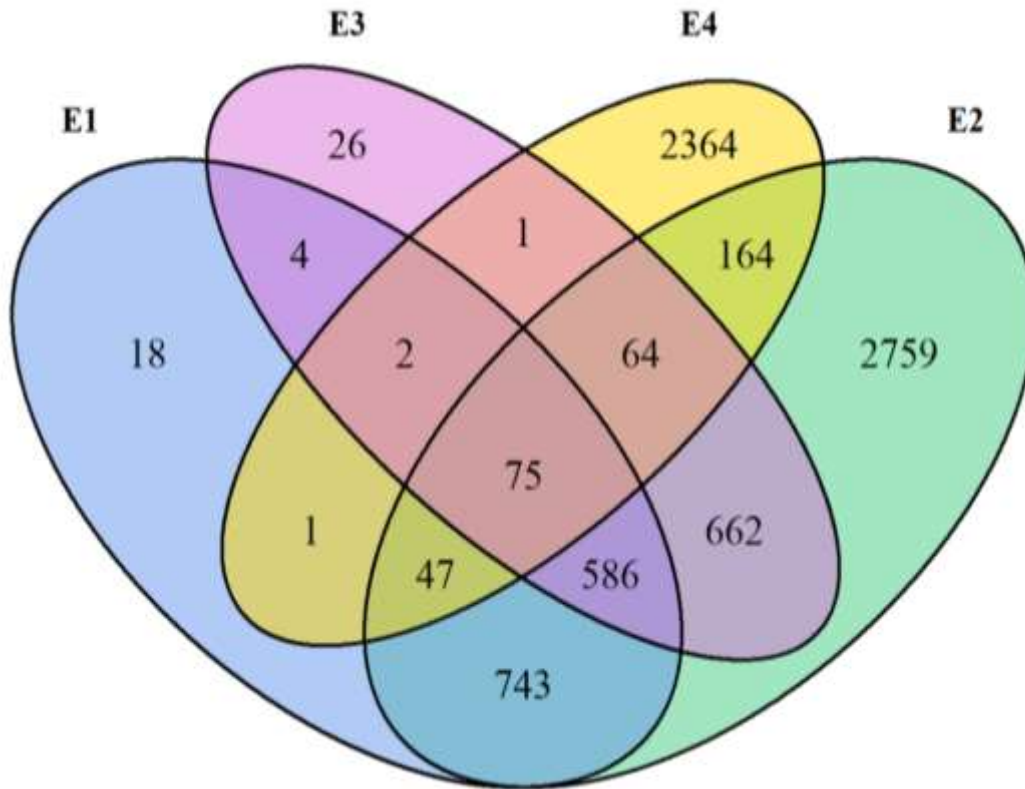


Figure 40: distribution des marqueurs génétiques et relations entre les isolats

Le dendrogramme représenté dans la Figure 41, illustre de manière hiérarchique les relations génétiques entre les souches E1, E2, E3 et E4. E1 et E3 fusionnent d'abord à une hauteur très basse (environ 40). E2 rejoint ensuite ce groupe à une hauteur intermédiaire (environ 60). Enfin, E4 intègre l'ensemble à la hauteur maximale (environ 70), matérialisant son isolement génétique relatif. La progression des hauteurs quantifie la divergence croissante depuis le noyau E1-E3 jusqu'à l'isolat E4.

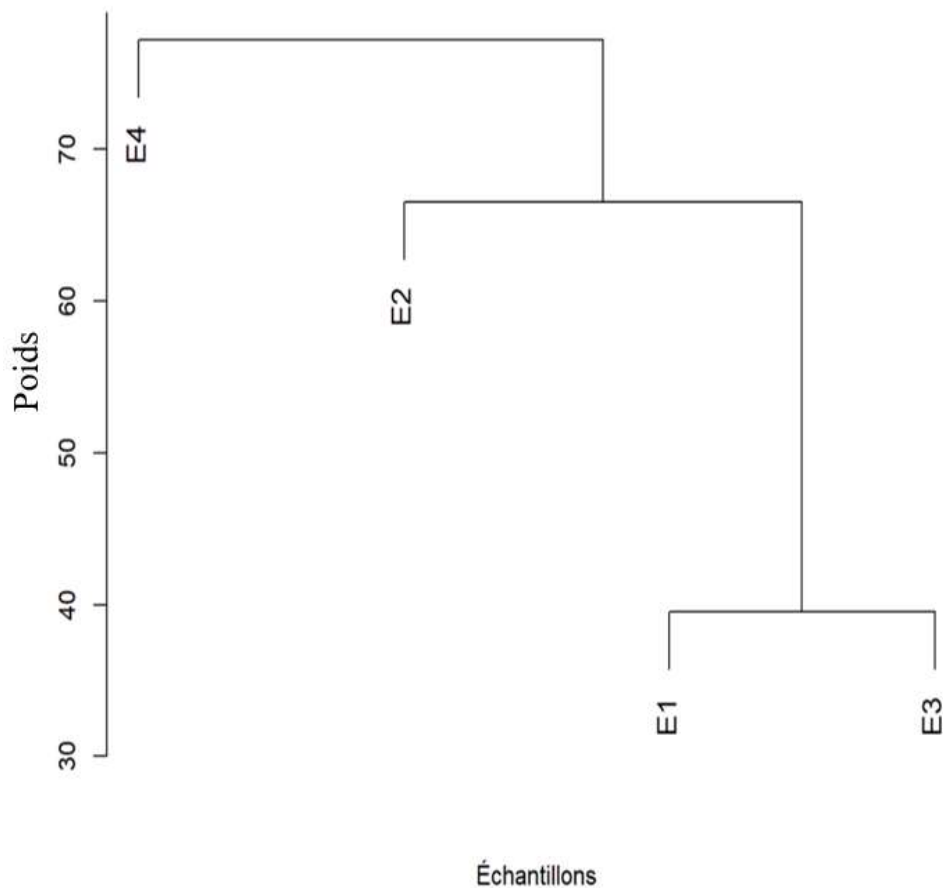


Figure 41: Dendrogramme de similarité entre les échantillons

1.5.2.2. Enzymes impliquées dans la production d'acide citrique

La Figure 42 illustre la distribution des principales familles enzymatiques impliquées dans le cycle de l'acide citrique chez les isolats fongiques E1 à E4. Au total, huit familles enzymatiques ont été identifiées, incluant notamment : l'aconitase, l'IPM isomérase, l'alpha-IPM synthase homocitrate, la citrate synthase, les isocitrate et isopropylmalate déshydrogénases, la PEP mutase, l'isocitrate déshydrogénase ainsi que l'isocitrate lyase. Parmi les quatre isolats, E2 présente l'abondance enzymatique la plus élevée, atteignant environ 75 % du total détecté. Cet isolat affiche une représentation complète de toutes les familles enzymatiques identifiées, en particulier l'aconitase, l'IPM isomérase et les isocitrate déshydrogénases, ce qui se manifeste visuellement par une large bande multicolore bien définie. Les isolats E3 et E4 présentent des profils relativement similaires avec une abondance enzymatique totale avoisinant 9 % chacun. Bien que globalement faibles, leurs profils révèlent toutefois la présence des huit familles. Chez E4, une légère prédominance des isocitrate déshydrogénases est observée, traduite par un segment chromatique plus accentué

au sein de la barre correspondante. A la fin, l'isolat E1 présente la plus faible activité enzymatique, avec une abondance totale d'environ 5 %. Sa représentation graphique courte et morcelée reflète une diminution marquée de l'expression des citrates synthases et une faible présence des autres familles enzymatiques.

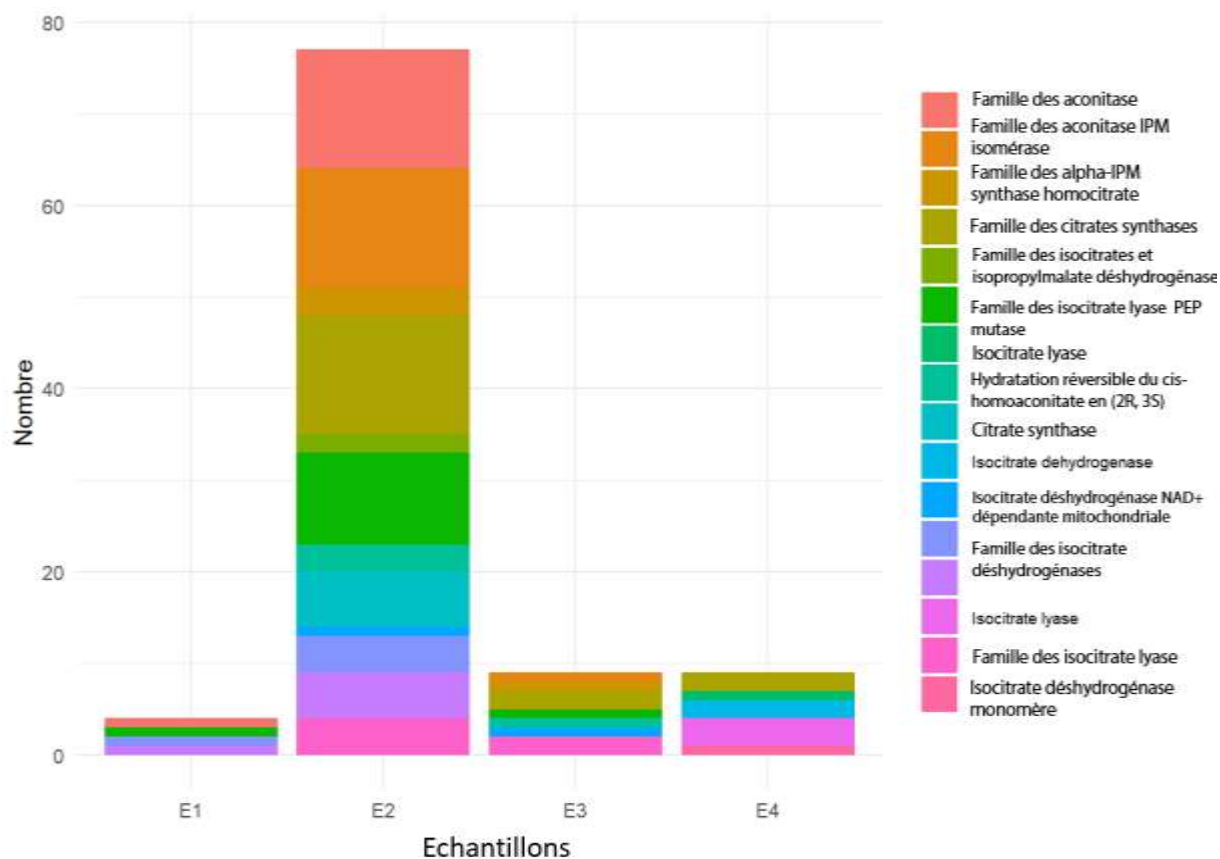


Figure 42: Enzymes impliquées dans la production d'acide citrique

1.5.2.3. Enzymes impliquées dans la dégradation de l'amidon

La Figure 43 présente la distribution des enzymes amylolytiques identifiées chez les isolats fongiques E1, E2, E3 et E4. Chaque isolat est représenté par une barre dont la hauteur indique l'abondance enzymatique totale, tandis que les segments colorés au sein de chaque barre correspondent aux différentes familles d'enzymes détectées. L'isolat E2 se distingue nettement, avec une abondance enzymatique totale d'environ 80 %, ce qui en fait le plus performant du groupe. Neuf familles enzymatiques y sont recensées avec une nette prédominance de deux activités majeures : l'alpha-amylase et la bêta-glucosidase qui constituent l'essentiel de son potentiel enzymatique. L'isolat E4 occupe la seconde position en termes d'abondance, mais reste loin derrière E2 avec une activité globale estimée à environ 18 %. Cinq familles enzymatiques y sont identifiées, toutes exprimées à des niveaux

relativement faibles et sans dominance marquée d'une activité particulière. Les isolats E3 et E1 affichent des profils intermédiaires. E3 dépasse légèrement E1 en abondance enzymatique totale, mais les deux présentent une diversité fonctionnelle appréciable. Parmi les enzymes détectées figurent notamment les glucan endo-1,3-alpha-glucosidases et diverses glycosyl-hydrolases. Toutefois, la concentration et l'expression globale de ces enzymes restent inférieures à celles observées chez E2.

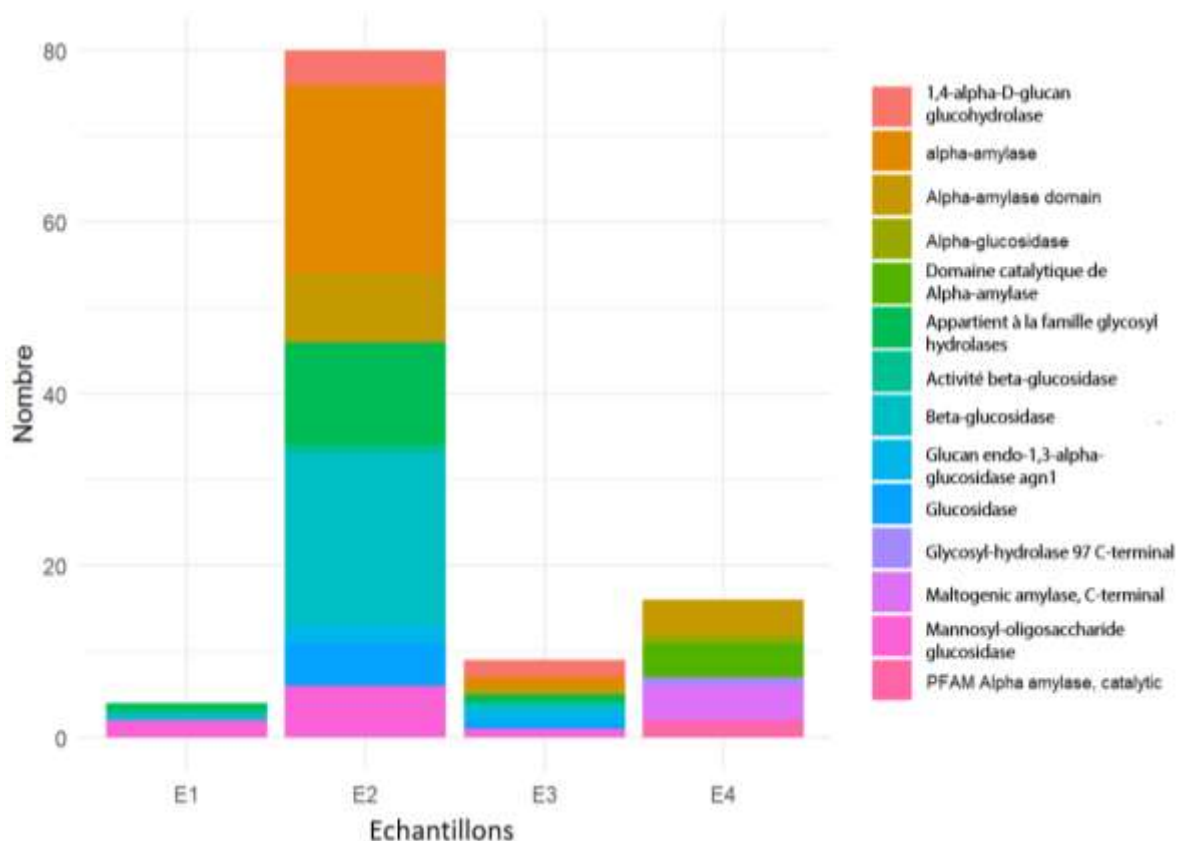


Figure 43: Enzymes impliquées dans la dégradation de l'amidon

2. Discussion

Cette étude visait à identifier et caractériser des souches locales de *Aspergillus niger* performantes et sûres pour la production d'acide citrique à partir de résidus agricoles.

L'analyse microbiologique a révélé une diversité fongique significative avec 110 isolats purifiés (*Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Fusarium*,...), dont 70 issus de fruits et légumes en décomposition et 40 du sol rhizosphérique de bananeraies. Cette répartition reflète des niches écologiques distinctes. En effet, les substrats végétaux hébergent des communautés adaptées aux sucres simples, tandis que le sol abrite des souches tolérantes aux polymères complexes (Pitt & Hocking, 2009). La présence simultanée de quatre morphotypes de *Aspergillus* (groupe 1, 4, 6 et 7) dans le sol et les végétaux corrobore sa plasticité écologique. La présence

de *Aspergillus* dans le sol rhizosphérique confirme les travaux de Schuster *et al.* (2002), qui attribuent cette colonisation à sa capacité à se développer sur diverses surfaces, notamment pour *A. niger* qui colonise des matrices variées grâce à des adaptations métaboliques (Frisvad *et al.*, 2019). La sélection de 24 isolats regroupés en 7 morphotypes distincts (groupe 1 à 7), confirme une diversité morphologique au sein des souches locales collectées, reflétant la variabilité potentielle de cette espèce dans différents environnements et substrats, comme observé dans d'autres études sur la diversité fongique environnementale (Klich, 2002; Dufresne & Guy, 2021).

L'identification morphologique approfondie, combinant observations macroscopiques et microscopiques, a été essentielle pour confirmer l'appartenance au genre *Aspergillus* et tenter de différencier les morphotypes. Cette approche classique s'aligne avec les clés taxonomiques standard décrites par Diguta (2010) et Ruchi (2012) et fournit des informations précieuses pour une première caractérisation et une présélection des souches, comme le soulignent Samson *et al.* (2010).

Un criblage biochimique rigoureux a guidé la sélection des souches pour l'analyse moléculaire. En effet, l'évaluation de la production d'aflatoxines, des mycotoxines hépatotoxiques et cancérigènes produites principalement par *Aspergillus flavus* et *A. parasiticus* (Bennett & Klich, 2003), a révélé que les groupes 3 et 5 étaient de forts producteurs, le groupe 2 un producteur modéré, tandis que les groupes 1, 4, 6 et 7 étaient non producteurs. Cette variabilité inter-souches est documentée par Varga *et al.* (2011), qui notent que certaines lignées de *Aspergillus* peuvent synthétiser des mycotoxines sous l'effet de facteurs déclencheurs (stress). Leur présence dans un procédé de production d'acide citrique serait inacceptable, contaminant le produit final et posant un risque grave pour la santé des consommateurs. Ce résultat est capital, car il permet d'écarter d'emblée les souches potentiellement toxigènes (groupes 2, 3 et 5) pour la suite des investigations sur la production d'acide citrique, priorisant ainsi les souches sûres (groupes 1, 4, 6 et 7). Parallèlement, le criblage qualitatif de la production d'acide citrique sur milieu Czapek-Dox au vert de bromocrésol (indicateur de pH) a identifié quatre isolats performants (E1, E2, E3, E4) avec des halos supérieurs à 15 mm, contre une production marginale (8 mm) chez les producteurs d'aflatoxines. Il est particulièrement notable que ces quatre souches les plus performantes appartiennent justement aux groupes identifiés comme non producteurs d'aflatoxines (groupes 1, 4, 6 et 7). Cette corrélation négative pourrait résulter d'une compétition métabolique. En effet, la biosynthèse des aflatoxines mobilise l'acétyl-CoA et le malonyl-CoA, précurseurs

clés du cycle tricarboxylique (Iqbal *et al.*, 2019; Keller, 2019), détournant ainsi les ressources de la production d'acide citrique.

La performance des souches E1, E2, E3 et E4, en particulier celles provenant de sources comme le citron (présent dans les groupes 4, 6 et 7) et la carotte (groupe 1), est encourageante. Elle rejoint les observations d'autres auteurs qui ont rapporté que des souches sauvages de *A. niger*, notamment celles isolées d'environnements naturellement acides ou riches en sucres, peuvent présenter une forte capacité acidogène, parfois supérieure à certaines souches industrielles, lorsqu'elles sont cultivées sur des substrats complexes ou des déchets agricoles (Dhillon *et al.*, 2011).

Le décodage du matériel génétique des souches de *Aspergillus* a été amorcé par une analyse taxonomique multi-niveaux des isolats E1, E2, E3 et E4. Cette approche, explorant successivement les niveaux Phylum, Classe, Ordre, Genre et Espèce, permet une identification fiable en intégrant des critères évolutionnaires et en limitant les erreurs liées à la plasticité génomique des champignons. Comme l'indiquent Samson *et al.*, (2014), l'intégration de ces niveaux est indispensable à la détection des espèces cryptiques, selon une méthodologie largement adoptée par les bases internationales telles que NCBI ou Fungal Databases.

L'analyse moléculaire ciblée sur les isolats performants et sûrs (E1 à E4) a révélé des profils distincts. Les isolats E1, E2 et E3 présentent une cohérence remarquable avec le profil génétique de l'espèce *Aspergillus niger*. Au niveau du phylum, Ascomycota domine à 100 % ; à la classe, Eurotiomycetes atteint 98 %, suivie de l'ordre Eurotiales et du genre *Aspergillus* avec des taux similaires confirmant leur appartenance au groupe attendu. Au niveau spécifique, *A. niger* est largement dominant (64 à 92 %), avec un faible taux de discordance génétique (0,46 à 1,2 %), ce qui atteste de leur intégrité génomique (Andersen *et al.*, 2011). Cette homogénéité structurelle à travers les niveaux taxonomiques valide leur classification.

En revanche, E4 se distingue par un profil radicalement différent. L'abondance de Ascomycota chute à 40 %, accompagnée d'une proportion significative de Basidiomycota (15 %) et Chytridiomycota (10 %), comme observé dans des souches adaptées à des environnements extrêmes (Visagie *et al.*, 2014). Au niveau de la classe, Eurotiomycetes est réduit à 15 %, tandis que d'autres classes comme Chytridiomycetes et Agaricomycetes émergent. Le genre *Aspergillus* ne représente plus que 5 %, au profit de genres exogènes comme *Batrachochytrium*, *Spizellomyces* et *Malassezia*, indiquant soit une contamination

majeure (Robert *et al.*, 2011), soit une symbiose adaptative (Stajich *et al.*, 2009) ou une acquisition horizontale de gènes (Visagie *et al.*, 2014). Ce profil atypique pourrait correspondre à un consortium fongique métagénomique.

Parmi les isolats, E2 présente la pureté taxonomique la plus élevée (92 % de *A. niger*), dépassant les valeurs rapportées pour les souches industrielles (Andersen *et al.*, 2011). Son faible taux de discordance (0,46 %) confirme sa stabilité génétique, essentielle pour la production enzymatique. Les profils hybrides de E1 et E3 (*A. niger/A. welwitschiae*) illustrent la plasticité du complexe niger et les avantages fonctionnels potentiels de l'hybridation (Jia *et al.*, 2024). L'analyse de similarité génétique confirme ces observations. Les isolats E1, E2 et E3 partagent un ensemble cohérent de marqueurs notamment 586 marqueurs communs.

Sur le plan fonctionnel, l'abondance des enzymes du cycle de l'acide citrique diffère selon les isolats. Trois enzymes y jouent un rôle central. Ce sont la citrate synthase, l'aconitase et l'isocitrate déshydrogénase (Karaffa & Kubicek, 2003). Leur absence ou sous-expression peut altérer significativement la production (Papagianni, 2007; da Silva, 2021). E2 montre un profil optimal avec 75 % d'abondance totale et une présence élevée de ces trois enzymes, assurant un flux métabolique efficace (Kubicek *et al.*, 2011). En revanche, E3 et E4 affichent une abondance intermédiaire (9 %) et E1 une activité plus faible (5 %), limitant leur potentiel industriel.

Les enzymes amylolytiques, essentielles à la fourniture de sucres fermentescibles, montrent également des variations. E2 possède un profil optimisé avec 80 % d'abondance et neuf familles enzymatiques, dominées par l'alpha-amylase et la β -glucosidase, conformément aux observations de Pel *et al.* (2007) chez les souches de référence. E4, avec seulement 18 %, présente une diversité réduite, tandis que E3 et E1 affichent des niveaux intermédiaires, dominés par des enzymes spécialisées mais moins abondantes (Benoit *et al.*, 2012). La convergence entre les profils taxonomiques, génétiques et enzymatiques valide le statut de E2 comme souche de référence. E4, à l'opposé, pourrait être un consortium complexe ou une espèce non référencée, posant la question des limites des bases de données actuelles (Robert *et al.*, 2011).

3. Conclusion partielle

Cette étude a permis d'identifier et de caractériser des souches locales de *Aspergillus* présentant un potentiel pour la production durable d'acide citrique à partir de résidus agricoles.

Les analyses combinées (morphologiques, biochimiques et moléculaires) révèlent que les

souches E1, E2 et E3, isolées de matrices végétales (citron, carotte et oignon), correspondent à *Aspergillus niger* génétiquement stable, non productrices d'aflatoxines et capables d'une forte acidogénèse. La corrélation négative observée entre production d'aflatoxines et d'acide citrique, attribuable à une compétition pour les précurseurs métaboliques comme l'acétyl-CoA, confirme la pertinence de l'exclusion des souches toxigènes (groupes 2, 3, 5).

Parmi les isolats, E2 émerge comme souche d'élite pour les applications biotechnologiques, affichant une supériorité intégrée. En effet, sa pureté taxonomique exceptionnelle (92 % *A. niger*), couplée à un profil enzymatique complet dans le cycle de Krebs (75 % d'abondance) et la dégradation de l'amidon (80 %), lui confère une capacité métabolique intégrée rare. Cette exhaustivité permet une conversion optimale des substrats en acide citrique, positionnant E2 comme référence industrielle.

E1 et E3, bien que présentant une hybridation naturelle (*A. niger/A. welwitschiae*), conservent un potentiel innovant. Leurs enzymes spécialisées, comme les glucan endo-1,3-alpha-glucosidases, pourraient offrir des avantages ciblés (ex: résistance thermique), justifiant une exploration phénotypique approfondie. Cependant, leurs lacunes en citrate synthase (E1) et leur faible rendement global limitent leur compétitivité face à E2.

En revanche, E4 incarne un cas complexe. Son isolement génétique (marqueur unique 2364, fusion dendrogramme à hauteur 70) et son profil enzymatique fragmenté (18 % dans l'amylolyse, 9 % dans le cycle de Krebs) signalent une déviation radicale. Bien que deux hypothèses soient envisageables (contamination selon Robert *et al.* (2011) ou consortium adaptatif d'après Stajich *et al.* (2009)). Son inadaptation aux bioprocédés standards est manifeste. Néanmoins, ses traits atypiques (*Batrachochytrium*, *Malassezia*) pourraient révéler des enzymes extrémophiles valorisables en biorestauration.

CHAPITRE 2: DETERMINATION DES SOUS-PRODUITS ET DECHETS INDUSTRIELS AGRICOLES LES PLUS PERFORMANTS POUR LA PRODUCTION BIOLOGIQUE D'ACIDE CITRIQUE EN FERMENTATION SUR SUBSTRAT SOLIDE

1. Résultats

1.1. Evolution des paramètres chimiques des sous-produits et déchets industriels agricoles avant fermentation

Le Tableau XX présente les résultats des paramètres chimiques des produits agricoles. Une analyse comparative de plusieurs produits agricoles (mangue, anacarde, ananas, banane plantain, manioc, maïs et son de riz) a été effectuée à travers trois paramètres que sont : le pH, le degré Brix et la conductivité électrique.

Pour ce qui est du pH, il varie entre 4,2 (DIAa) et 6,52 (SPAr), indiquant une acidité marquée. L'acidité est plus prononcée chez les substrats fruitiers (SPAmg (pH 4,24) et SPAac (pH 4,5)). Le son de riz se distingue par un pH presque neutre (6,52). Tandis que les autres substrats amylicés de SPAbp, de DIAM et de DIAMs sont moins acides.

Au niveau du degré Brix, les substrats DIAa et SPAmg présentent les degrés Brix les plus élevés (20° et 19,8°), indiquant une forte teneur en sucres solubles, favorable à la fermentation. À l'inverse, SPAr et DIAMs affichent des valeurs très basses (2° et 5°), suggérant une disponibilité limitée en substrats fermentescibles.

Quant à la conductivité, liée à la concentration en ions, elle est maximale pour DIAa (2488 $\mu\text{S}/\text{cm}$) et minimale pour SPAr (493 $\mu\text{S}/\text{cm}$), reflétant des différences significatives dans la composition minérale des milieux. Les substrats SPAbp et DIAM montrent des conductivités modérées (1548 et 1261 $\mu\text{S}/\text{cm}$), tandis que SPAmg se distingue par une conductivité particulièrement basse (427 $\mu\text{S}/\text{cm}$), malgré son Brix élevé.

Tableau XX: Résultats des paramètres chimiques avant fermentation

	SPAbp	DIAM	SPAr	DIAMs	SPAmg	DIAa	SPAac
pH	5,51 ± 0,01	5,12 ± 0,01	6,52 ± 0,03	5,22 ± 0,01	4,24 ± 0,05	4,2 ± 0,06	4,5 ± 0,05
Degré Brix	16,6 ± 0,02	13 ± 0,02	2 ± 0,01	5 ± 0,03	19,8 ± 0,04	20 ± 0,01	17,5 ± 0,01
Conductivité (μS/cm)	1548 ± 0,1	1261 ± 0,05	493 ± 0,07	955 ± 0,04	427 ± 0,01	2488 ± 0,03	1955 ± 0,1

*Les valeurs sont la moyenne ± écart-type de trois mesures (n = 3).

SPAbp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAM : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAMs : déchet industriel agricole de maïs ; SPAmg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde.

1.2. Evolution des paramètres chimiques après fermentation

1.2.1. Variation du potentiel hydrogène pendant la fermentation

Les Figures 44 à 47 représentent l'évolution du pH sur une période de 0 à 15 jours, avec des mesures effectuées tous les 2 jours (0, 2, 4, 6, 8, 10 et 14). Une dernière analyse a été faite à la fin de la fermentation. Les substrats analysés incluent SPAbp, DIAM, SPAr, DIAMs, SPAMg, DIAa et SPAac. Une acidification générale est observée au fil du temps pour tous les substrats, marquée par des baisses significatives du pH sur l'ensemble des quatre représentations.

Au niveau de la Figure 44, le substrat SPAbp subit une chute brutale entre le 10^e et le 12^e jour avec l'isolat E1, passant d'un pH de 4,7 à 3,8. Certains substrats, comme SPAr, DIAM et DIAMs, montrent une stabilisation partielle de leur pH à partir du 10^e au 12^e jour, suggérant un équilibre atteint dans le processus étudié. Pour finir, le substrat DIAa se distingue comme la plus acide, avec un pH final de 2,5.

La Figure 45 présente une évolution du pH caractérisée par une diminution régulière sur la période de 0 à 15 jours pour E2. Le substrat SPAbp subit une chute brutale entre le 6^e et le 12^e jour, passant d'un pH de 4,28 à 3,27. Certains substrats, comme SPAr, DIAM et DIAMs, montrent une stabilisation partielle de leur pH à partir du 10^e jour. Le substrat DIAa se distingue comme le plus fortement acidifié, avec un pH final de 2,5.

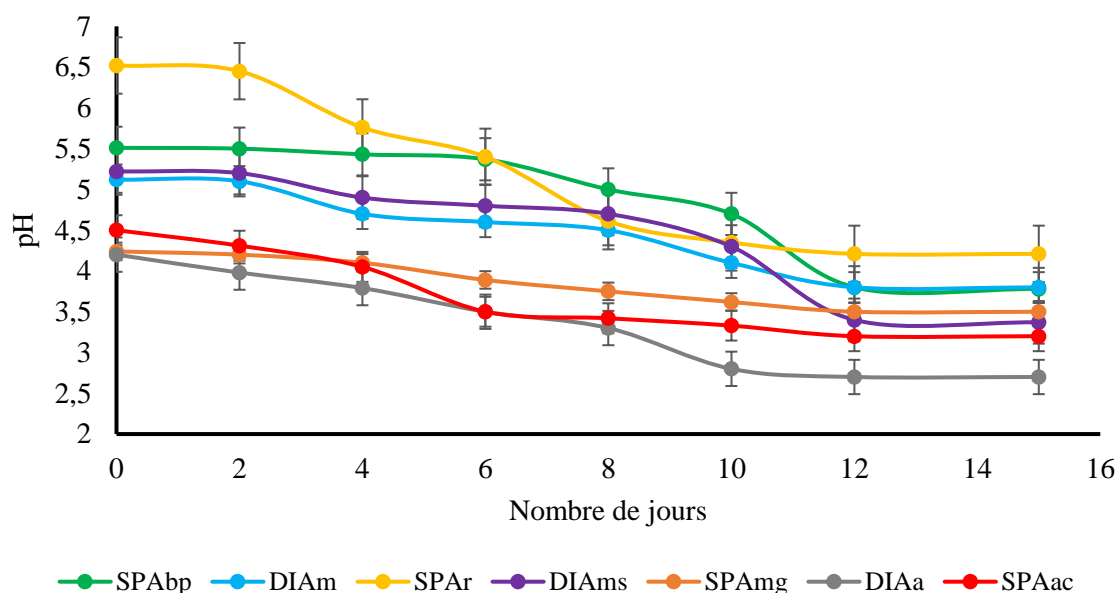


Figure 44: Evolution du pH avec l'isolat E1

SPAbp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAM : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAMs : déchet industriel agricole de maïs ; SPAMg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde.

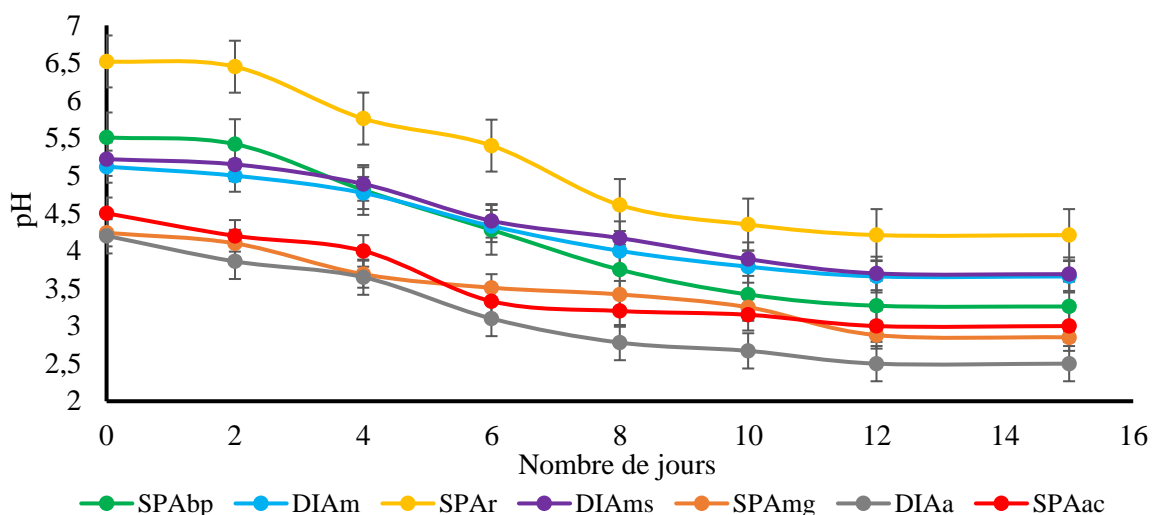


Figure 45 : Evolution du pH avec l'isolat E2

SPABp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAM : déchet industriel agricole de manioc ; SPAR : sous-produit agricole de riz ; DIAMs : déchet industriel agricole de maïs ; SPAMg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde.

L'évolution du pH pour E3 sur l'ensemble des substrats est illustrée par la Figure 46. Les substrats SPAMg et DIAa émergent comme les substrats les plus acidifiés lors de la fermentation, atteignant des pH critiques de 2,99 et 2,50 respectivement à J15. A l'inverse, le substrat SPAR maintient le pH le moins acide en fin d'expérience (4,15). Les substrats SPABp, DIAM et DIAMs montrent quant à eux des profils similaires, caractérisés par une acidification modérée et une stabilisation dès le jour 10.

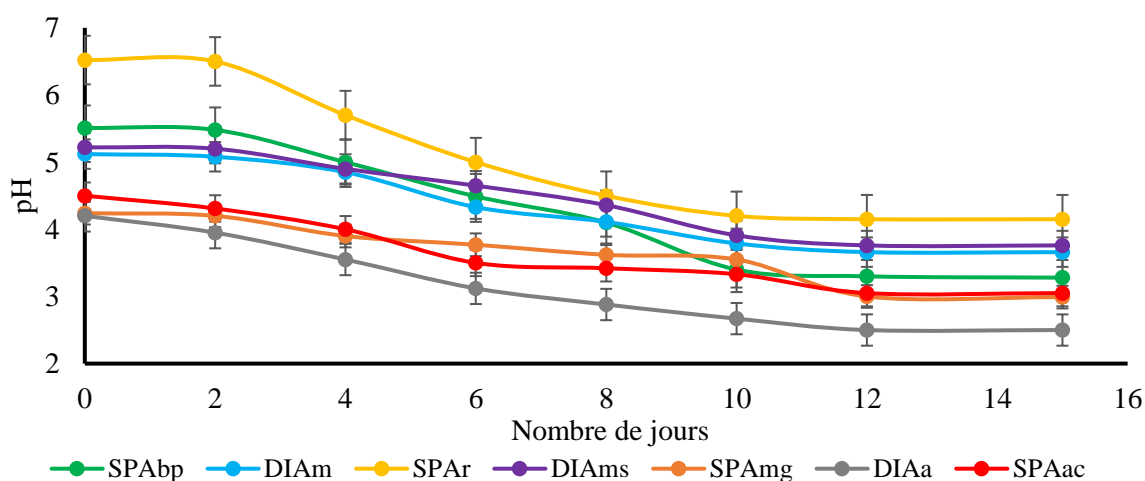


Figure 46: Evolution du pH avec l'isolat E3

SPABp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAM : déchet industriel agricole de manioc ; SPAR : sous-produit agricole de riz ; DIAMs : Déchet industriel agricole de maïs ; SPAMg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde.

Pour ce qui est de la Figure 47, elle présente l'évolution du pH pour les mêmes substrats que les précédentes analyses (SPAbp, DIAM, SPAr, DIAMs, SPAMg, DIAa, SPAac), mais révèle une acidification moins prononcée que dans l'évolution du pH avec E1 et E2. Elle montre également une acidification similaire à l'évolution du pH avec E4. Le substrat SPAMg se démarque par une acidification moindre que chez E1, avec un pH final de 3,64 contre 2,99 précédemment. Le substrat DIAMs montre quant à lui, une baisse régulière et progressive du pH, passant de 5,22 à 3,9. Le substrat DIAa demeure le substrat le plus acide avec un pH final de 2,6. Tandis que le substrat SPAbp est le plus basique avec un pH final de 3,8.

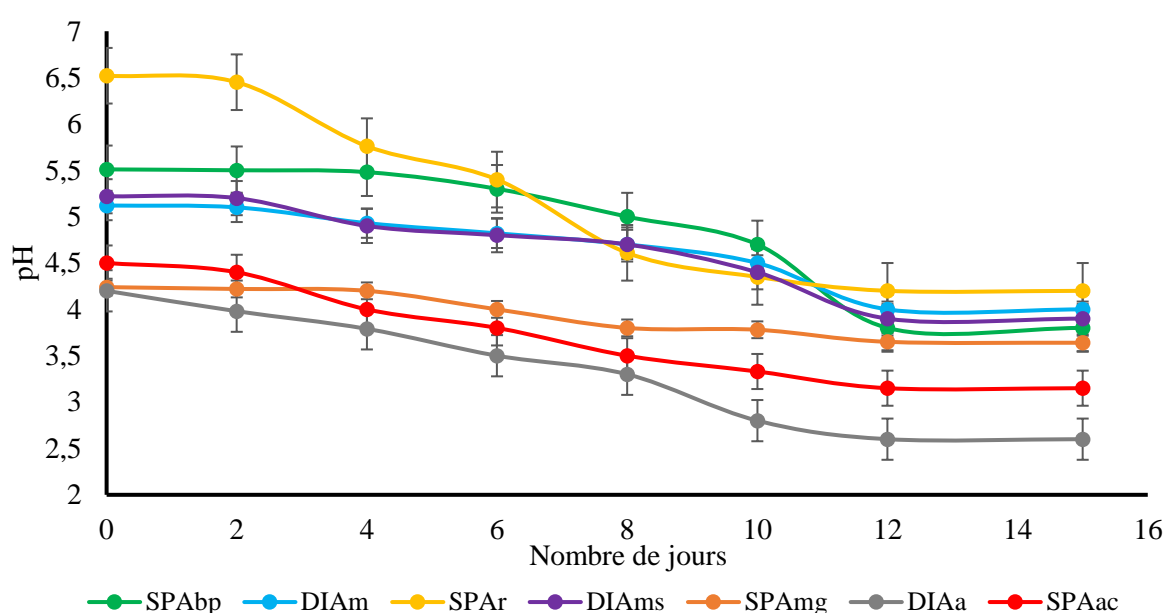


Figure 47: Evolution du pH avec l'isolat E4

SPAbp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAM : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAMs : déchet industriel agricole de maïs ; SPAMg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde.

1.2.1.1. Impact des souches de *Aspergillus* sur l'acidification des substrats amylacés

L'historique de la Figure 48 révèle des variations distinctes dans l'acidification des substrats amylacés selon les souches fongiques. Le substrat SPAbp présente une acidification plus marquée sous les souches E2 (pH 3,26) et E3 (pH 3,28) comparé à E1 (pH 3,78) et E4 (pH 3,80), indiquant une sensibilité accrue aux premières souches. Pour DIAM, les souches E2 et E3 provoquent une acidification similaire (pH 3,66), tandis que E1 (pH 3,80) et surtout E4 (pH 4,00) montrent un effet atténué, soulignant leur moindre efficacité acidifiante sur ce substrat.

Le substrat SPAr maintient systématiquement les pH les plus élevés, avec des valeurs stables autour de 4,15-4,21 quelles que soient les souches de *Aspergillus niger* et l'isolat E4, démontrant une résistance intrinsèque à l'acidification. A l'inverse, DIAMs présente un comportement remarquable avec l'isolat E1. E1 induit l'acidification la plus forte (pH 3,37), contrastant nettement avec les autres souches (pH 3,69 à 3,90). Globalement, les souches E2 et E3 montrent un pouvoir acidifiant plus prononcé sur SPAbp et DIAM, tandis que E1 se distingue par son action ciblée sur DIAMs. L'isolat E4 apparaît comme la moins efficace pour abaisser le pH, particulièrement sur DIAM.

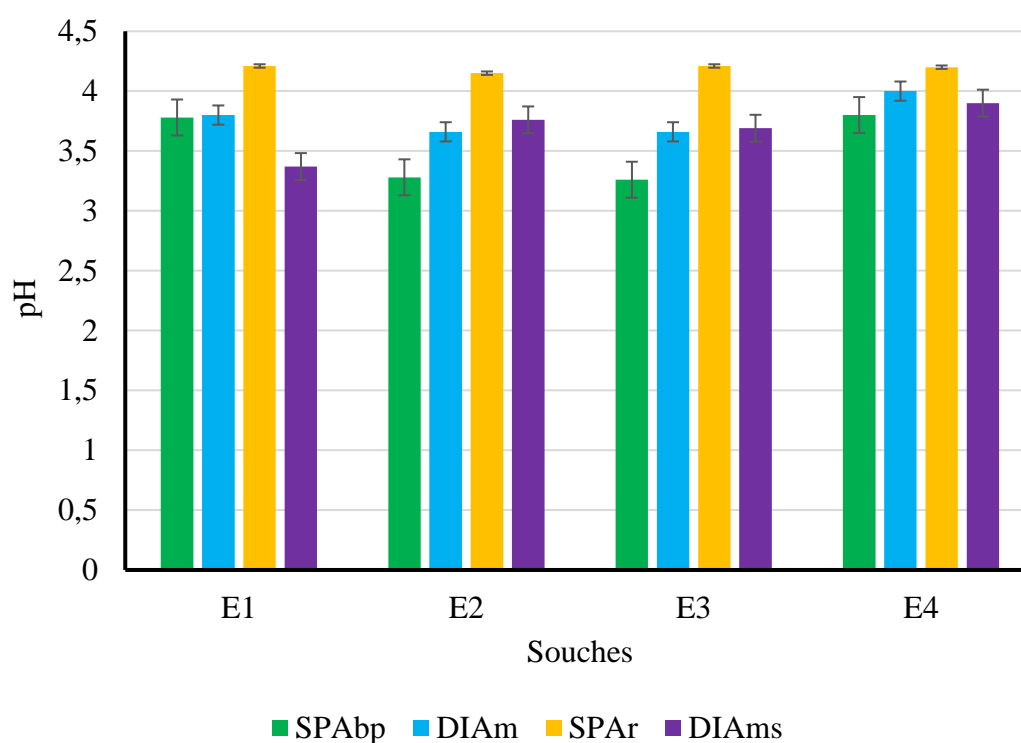


Figure 48: Impact des souches sur l'acidification des substrats amylicés

SPAbp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAM : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAMs : déchet industriel agricole de maïs

1.2.1.2. Impact des souches de *Aspergillus* sur l'acidification des substrats de fruits

L'analyse de la Figure 49 montre des profils d'acidification distincts pour les trois substrats de fruits (SPAmg, DIAa et SPAac) sous l'influence des différentes souches fongiques. Le substrat DIAa présente la plus forte sensibilité à l'acidification, atteignant des pH inférieurs à 2,7 pour toutes les souches, avec un minimum de 2,5 pour E2 et E3.

Le substrat SPAmg présente une vulnérabilité accrue aux souches E2 (pH 2,85) et E3 (pH 2,99), tandis que E1 (pH 3,50) et E4 (pH 3,64) montrent un effet significativement atténué,

indiquant une moindre efficacité de ces dernières souches sur ce substrat.

Le substrat SPAac maintient des valeurs intermédiaires plus stables, variant modérément entre pH 3,00 (E2) et 3,20 (E3).

En synthèse, E2 et E3 démontrent le pouvoir acidifiant le plus agressif sur tous les substrats, particulièrement sur SPAmg et DIAa. Alors que, E1 et E4 induisent systématiquement des acidifications moins prononcées, avec E4 affichant l'impact le plus limité sur SPAmg.

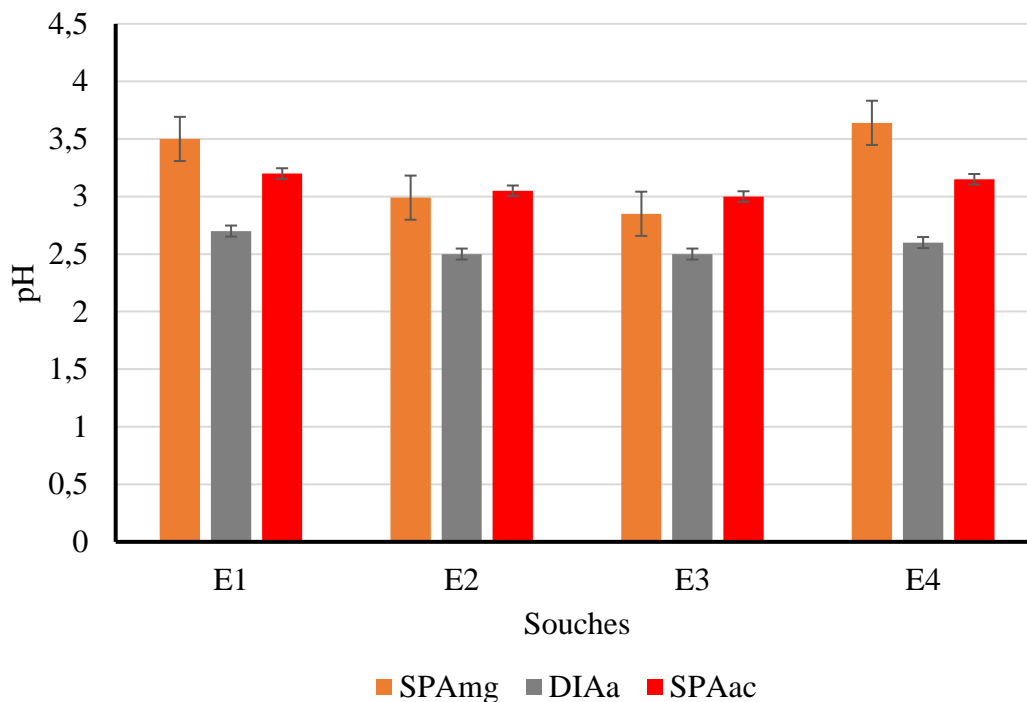


Figure 49: Impact des souches sur l'acidification des substrats de fruits

SPAmg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde.

1.2.2. Variation du degré Brix pendant la fermentation

Les Figures 50 à 53 illustrent l'évolution du degré Brix lors de la fermentation par différentes souches de *Aspergillus niger* (E1, E2 et E3) et l'isolat E4 sur sept substrats. Ces variations reflètent la consommation des sucres solubles, révélant des dynamiques distinctes selon les combinaisons souche-substrat.

La Figure 50 (isolat E1) met en lumière des comportements contrastés : SPAbp et SPAmg enregistrent des chutes abruptes (16,6 à 5 °Brix ; 19,8 à 6 °Brix), tandis que DIAms et SPAr, malgré des teneurs initiales basses, atteignent un épuisement quasi total. Un phénomène atypique est observé pour DIAa, où le degré Brix augmente temporairement à J6 avant de

chuter. Par ailleurs, SPAac montre une accélération de la consommation après J6, passant de 15,6 à 6 °Brix.

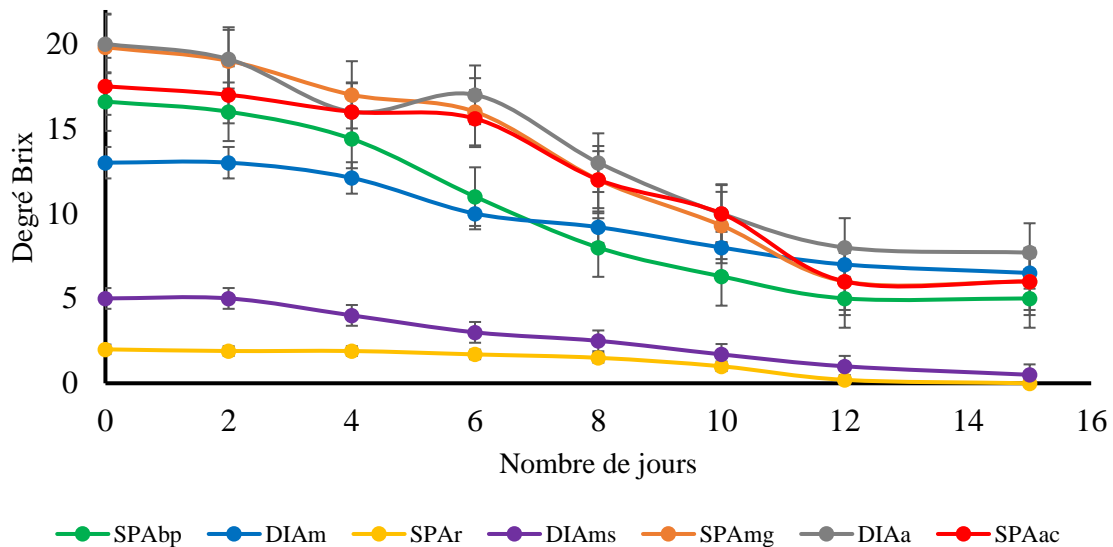


Figure 50: évolution du degré Brix avec la souche E1

SPAabp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAm : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAMs : déchet industriel agricole de maïs ; SPAmg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde.

Pour la souche E2 (Figure 51), les substrats SPAmg et DIAa, initialement riches en sucres (19,8 °Brix et 20 °Brix), présentent une baisse rapide, passant respectivement à 5 °Brix et 7 °Brix en fin de culture. A l'inverse, DIAMs et le son de riz, avec des teneurs initialement faibles (5 °Brix et 2 °Brix), montrent une diminution limitée. SPAabp se distingue par un déclin marqué (16,6 à 3 °Brix), tandis que DIAm affiche des réductions plus modérées.

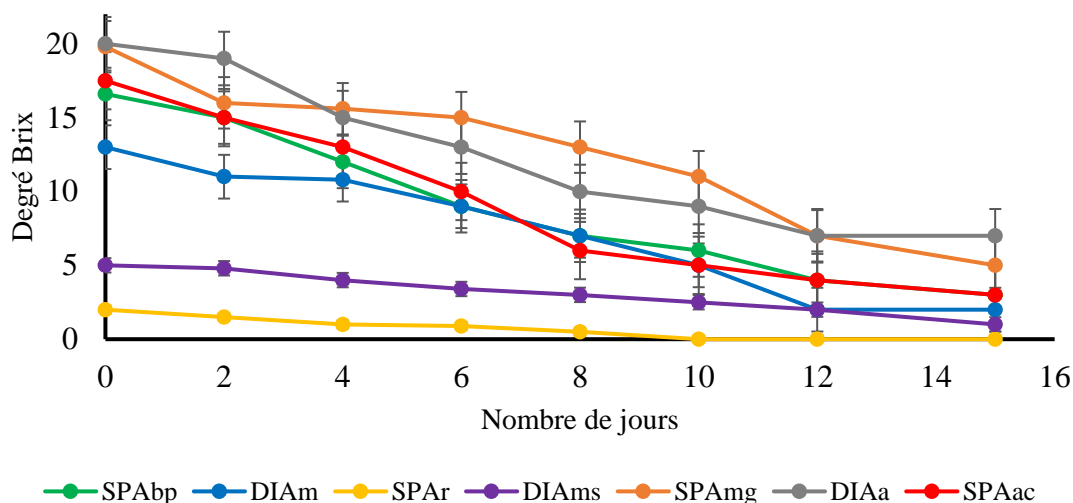


Figure 51: évolution du degré Brix avec la souche E2

SPAbp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAM : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAMs : déchet industriel agricole de maïs ; SPAMg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde.

Chez la souche E3 (Figure 52), les tendances s'alignent globalement avec DIAa et SPAMg, aux valeurs initiales élevées, subissent une consommation accélérée, alors que DIAMs et SPAr, moins riches en sucres, évoluent peu. DIAM, SPAac et SPAbp suivent des trajectoires intermédiaires, avec une vitesse de réduction variant selon la biodisponibilité des nutriments.

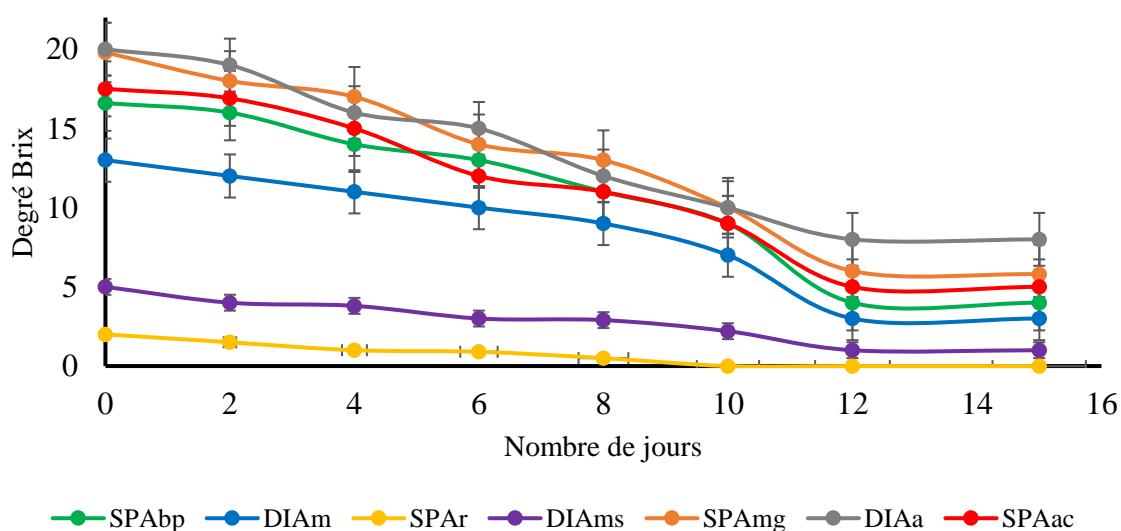


Figure 52: évolution du degré Brix avec la souche E3

SPAbp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAM : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAMs : déchet industriel agricole de maïs ; SPAMg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde.

Au niveau de l'isolat E4 (Figure 53), tous les substrats présentent une diminution générale du degré Brix. Les substrats initialement riches en sucres, comme SPAbp (16,6 à 5 °Brix), SPAmg (19,8 à 6°Brix) et DIAa (20 à 8 °Brix), subissent une baisse marquée, avec des réductions de 60 à 70 %. Les substrats à faible teneur initiale, comme SPAr (2 à 0 °Brix) et DIAMs (5 à 0,5 °Brix), sont quasi entièrement épuisés. Le substrat DIAM (13 à 6,8 °Brix) affiche une diminution progressive. Le substrat SPAac (17,5 à 6 °Brix) montre une baisse régulière, avec une accélération en fin de culture.

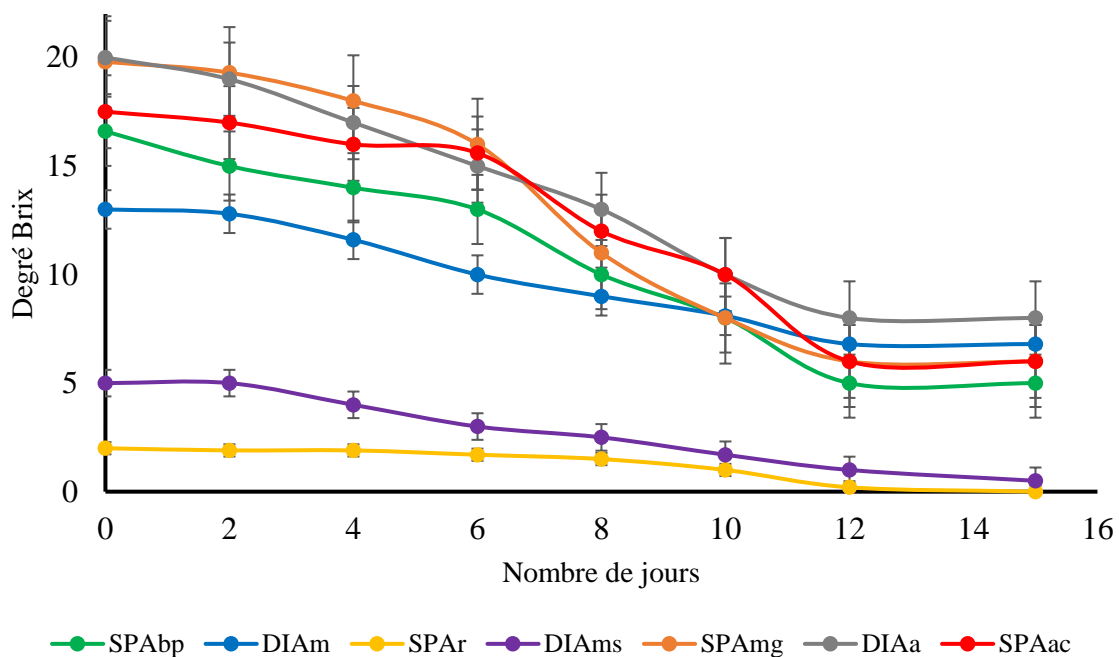


Figure 53: Evolution du degré Brix avec l'isolat E4

SPAbp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAM : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAMs : déchet industriel agricole de maïs ; SPAmg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde.

1.2.2.1. Impact des souches de *Aspergillus* sur le degré Brix des substrats amylacés

L'impact des souches de *Aspergillus niger* et l'isolat E4 sur la consommation des sucres solubles présents dans les substrats de fruits est représenté dans le Figure 54. L'histogramme révèle des différences nettes dans les résidus de Brix après fermentation. Pour commencer, E2 affiche les valeurs résiduelles les plus basses pour chaque substrat, tandis que E4 présente au contraire les résidus les plus élevés sur l'ensemble des substrats.

Par ailleurs, le substrat SPAr se distingue par une absence totale de résidus sucrés (0° Brix) pour toutes les souches, alors que le substrat DIAM conserve systématiquement les résidus les

plus importants, et ce quelles que soient les souches fongiques testées.

En ce qui concerne SPAbp et DIAMs, ces substrats occupent des positions intermédiaires, avec des résidus variant modérément selon les souches. Plus précisément, les résidus de SPAbp passent de 3° (E2) à 5° (E4), tandis que ceux de DIAMs fluctuent entre 0,5° et 1°.

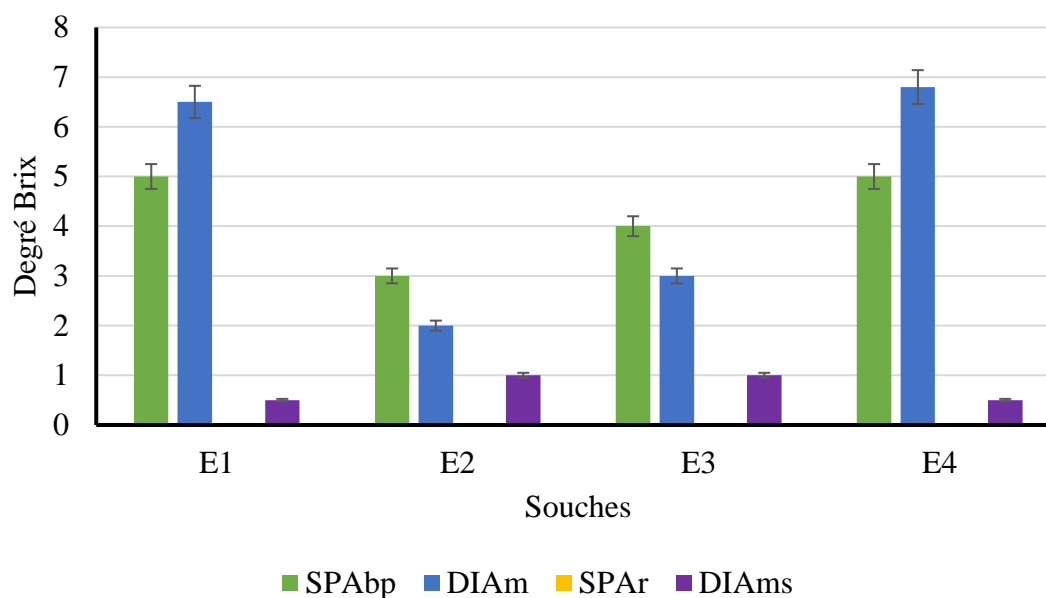


Figure 54: Impact des souches sur les substrats amylacés

SPAbp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAM : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAMs : déchet industriel agricole de maïs.

1.2.2.2. Impact des souches de *Aspergillus* sur le degré Brix des substrats de fruits

La Figure 55 représente les résidus de degré Brix après fermentation des substrats SPAmg, DIAa et SPAac par trois souches de *Aspergillus* et un isolat (E4). E2 présente les résidus les plus faibles pour tous les substrats. Alors que E4 enregistre au contraire les résidus les plus élevés dans la majorité des cas. Les isolats E1 et E3 occupent des positions intermédiaires, avec des valeurs généralement supérieures à E2 mais inférieures à E4.

Le substrat DIAa conserve les résidus les plus élevés quelles que soient les souches. Tandis que le substrat SPAac montre initialement les résidus les plus bas sous E2 (3°), mais cette valeur augmente sensiblement avec les autres souches.

Dans l'ensemble, tous les isolats montrent une consommation des sucres solubles quasi-identiques pour l'ensemble des substrats de fruits.

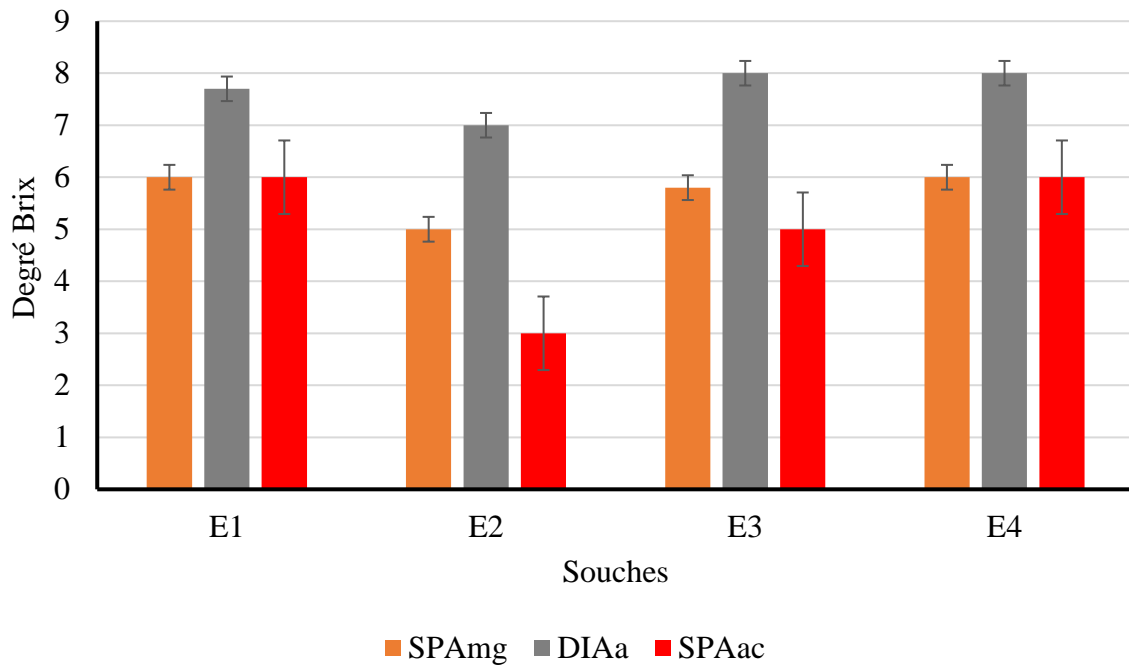


Figure 55: Impact des souches sur les substrats de fruits

SPAmg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde

1.2.3. Variation de la conductivité pendant la fermentation

Les Figures 56 à 59 présentent les mesures de conductivité (en $\mu\text{S}/\text{cm}$) pour quatre souches de (E1 à E4) cultivés sur sept substrats (SPAbp, DIAM, SPAr, DIAMs, SPAmg, DIAa, SPAac) sur une période de 15 jours. Pour chaque combinaison souche-substrat, les valeurs augmentent progressivement au fil du temps, avec des variations d'amplitude dépendantes de la souche et du substrat. Les données révèlent une hiérarchie constante entre les souches : E2 > E3 > E1 égal environ E4 en termes d'augmentation globale de la conductivité, quel que soit le substrat.

La souche E2 affiche les augmentations les plus marquées sur SPAmg (Figure 56), la conductivité passe de 427 à 1243 $\mu\text{S}/\text{cm}$, tandis que sur DIAa et SPAac, elle atteint respectivement 3100 et 2800 $\mu\text{S}/\text{cm}$ en fin de culture. Le substrat DIAa, initialement le plus conducteur (2488 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à J0 pour toutes les souches), enregistre les valeurs finales les plus élevées, notamment avec 3100 $\mu\text{S}/\text{cm}$. SPAmg, bien que partant de la conductivité la plus basse (427 $\mu\text{S}/\text{cm}$), présente la croissance relative la plus forte. Aussi, l'isolat E2 se démarque par les hausses les plus marquées sur SPAbp, la conductivité passe de 1548 à 2578 $\mu\text{S}/\text{cm}$, et sur SPAr, elle augmente de 493 à 1532 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

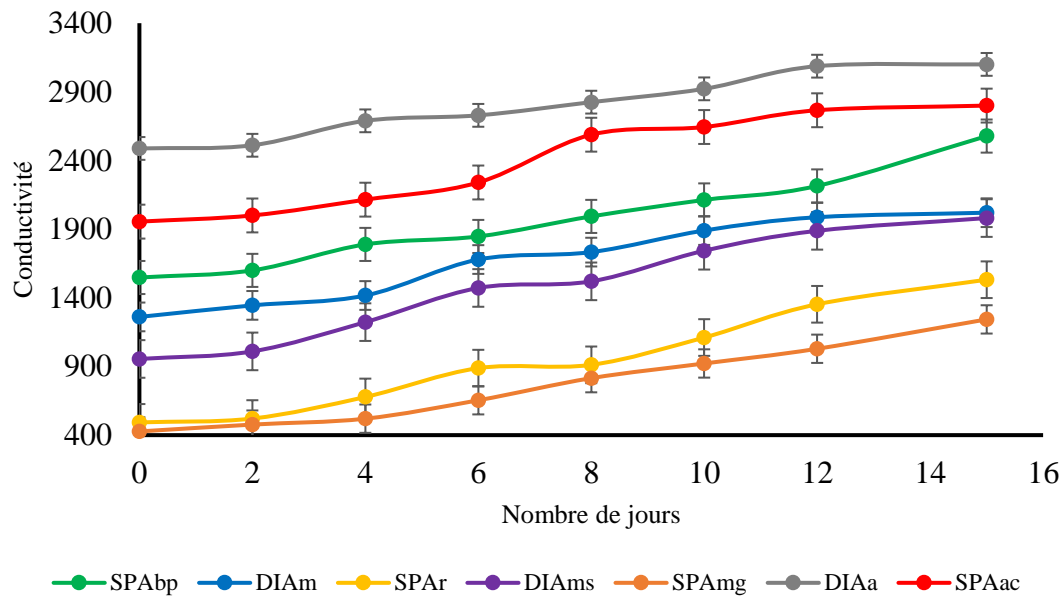


Figure 56 : Evolution de la conductivité avec l'isolat E2

SPAbp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAM : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAMs : déchet industriel agricole de maïs ; SPAMg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde.

E3 suit une tendance similaire (Figure 57), mais avec des hausses légèrement moins prononcées, notamment sur SPAMg (427 à 1120 $\mu\text{S}/\text{cm}$), SPAr (493 à 1478 $\mu\text{S}/\text{cm}$) et DIAMs (955 à 1855 $\mu\text{S}/\text{cm}$). DIAa maintient constamment les valeurs les plus élevées, passant de 2488 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à J0 à 2961 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à J15. SPAac suit une progression similaire avec une hausse continue de 1955 à 2789 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Les substrats SPAbp et DIAM présentent des évolutions parallèles : SPAbp croît de 1548 à 2100 $\mu\text{S}/\text{cm}$, tandis que DIAM augmente de 1261 à 1945 $\mu\text{S}/\text{cm}$. DIAMs montre une croissance soutenue de 955 à 1855 $\mu\text{S}/\text{cm}$, dépassant progressivement DIAM après J10.

Les substrats SPAr et SPAMg enregistrent les conductivités les plus basses. SPAr progresse régulièrement de 493 à 1478 $\mu\text{S}/\text{cm}$. SPAMg part de la valeur minimale (427 $\mu\text{S}/\text{cm}$) pour atteindre 1120 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à J15, restant le substrat le moins conducteur.

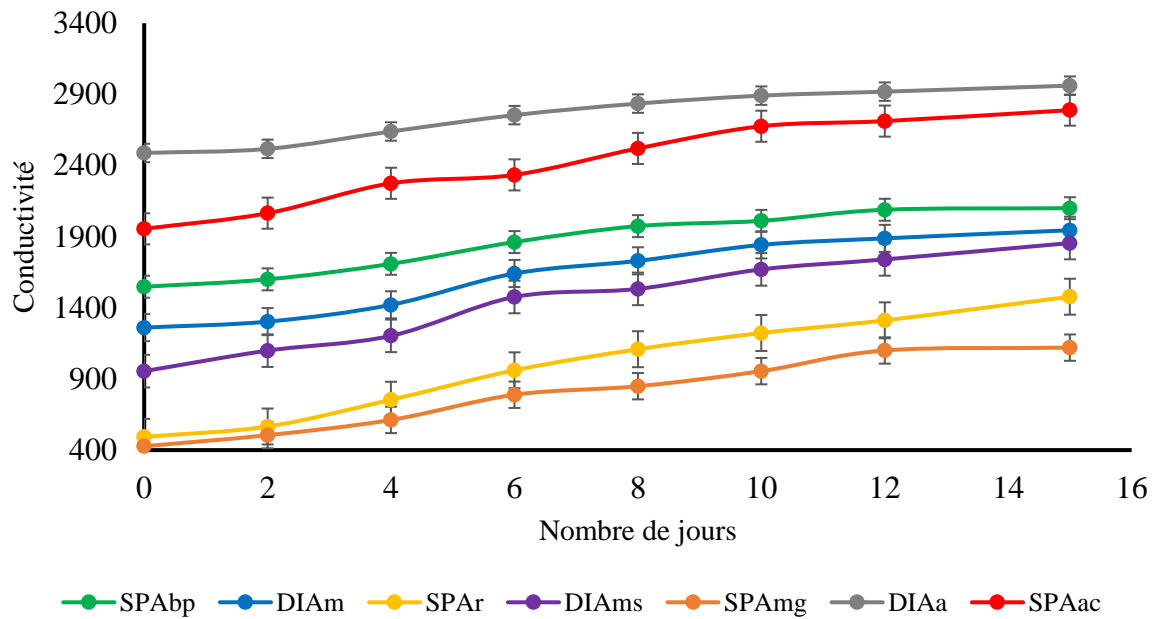


Figure 57: Evolution de la conductivité avec l'isolat E3

SPABp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAM : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAMs : déchet industriel agricole de maïs ; SPAMg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde.

Pour E1 (Figure 58) et E4 (Figure 59), les augmentations sont plus modérées. Sur SPABp, leurs conductivités atteignent respectivement 2099 et 1980 $\mu\text{S}/\text{cm}$, tandis que SPAr culmine à 1225 et 1200 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Les substrats DIAM et DIAMs affichent des progressions régulières pour toutes les souches, avec des valeurs finales oscillant entre 1800–2020 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (DIAM) et 1488–1981 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (DIAMs). Le substrat SPAr, bien que partant des valeurs initiales les plus basses (493 $\mu\text{S}/\text{cm}$), enregistre les croissances relatives les plus fortes, notamment pour E2 et E3. A l'inverse, SPABp et DIAM, initialement plus conductifs, montrent des hausses absolues importantes mais des taux de croissance relatifs moins élevés.

Aussi, E1 et E4 montrent des progressions plus modérées. Sur SPAMg, leurs conductivités culminent à 967 et 953 $\mu\text{S}/\text{cm}$, respectivement. Pour DIAa, ces souches atteignent 2871 et 2800 $\mu\text{S}/\text{cm}$, et pour SPAac, 2525 et 2500 $\mu\text{S}/\text{cm}$, respectivement. SPAac, avec des valeurs intermédiaires, suit une augmentation constante, passant de 1955 à environ 2500–2800 $\mu\text{S}/\text{cm}$ selon les souches.

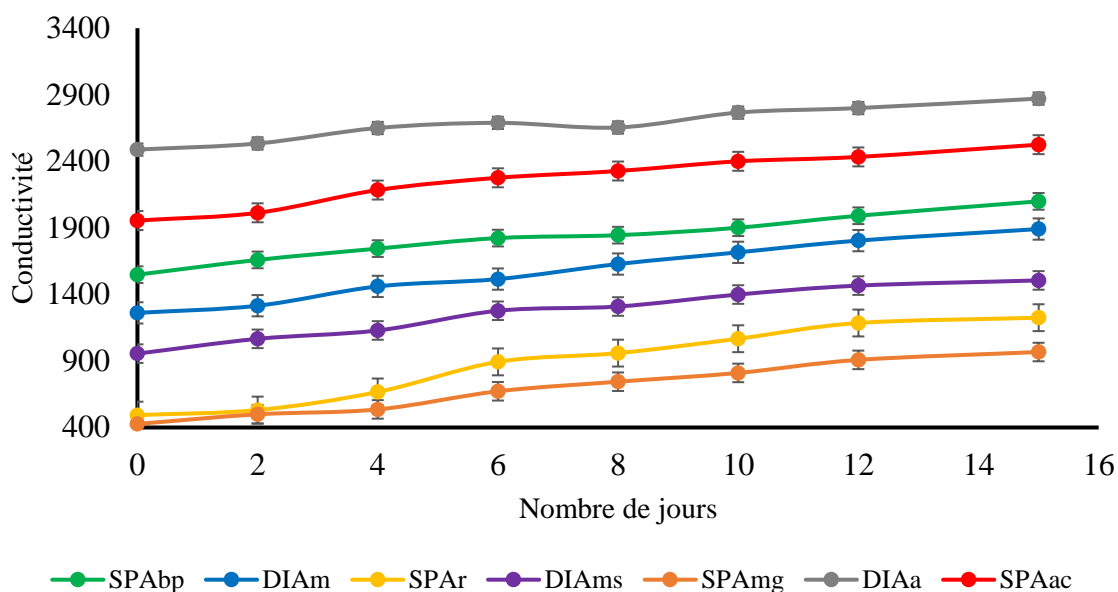


Figure 58: Evolution de la conductivité avec l'isolat E1

SPABp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAM : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAMs : déchet industriel agricole de maïs ; SPAMg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde.

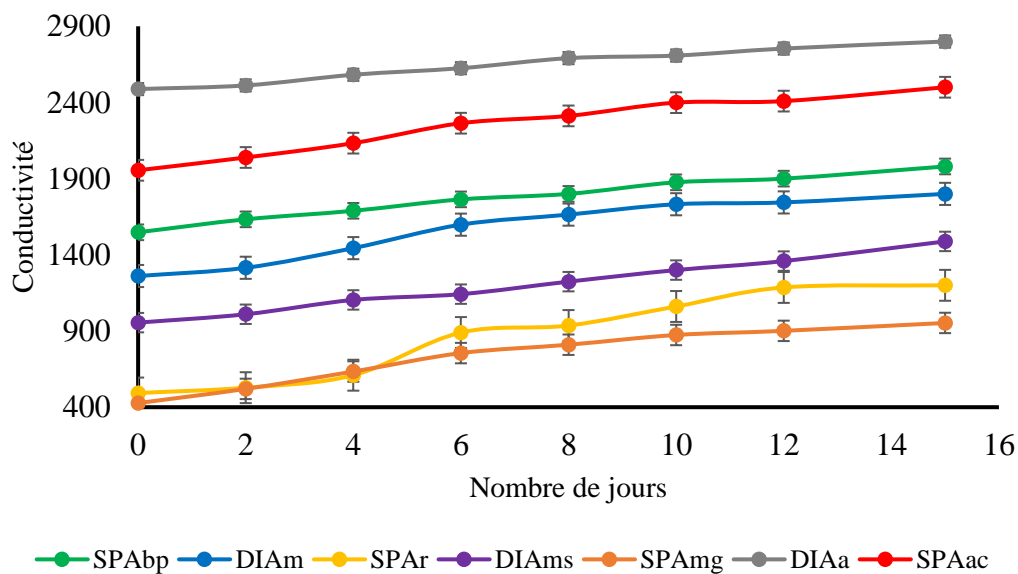


Figure 59: Evolution de la conductivité avec l'isolat E4

SPABp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAM : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAMs : déchet industriel agricole de maïs ; SPAMg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde.

1.2.3.1. Impact des souches de *Aspergillus* sur la conductivité des substrats amylicés

La Figure 60 compare la conductivité électrique de quatre substrats amylicés après traitement par différentes souches fongiques. Concernant les souches, E2 génère les conductivités les

plus élevées, tandis que E4 produit les valeurs les plus basses pour tous les substrats ; par ailleurs, E1 et E3 montrent des effets intermédiaires, avec E3 légèrement plus conductrice que E1.

Pour les substrats, SPAbp présente toujours la conductivité la plus forte, variant de 2578 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (E2) à 1980 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (E4). En revanche, SPAr enregistre systématiquement la conductivité la plus faible, passant de 1532 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (E2) à 1200 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (E4). Quant à DIAM et DIAMs, ces substrats occupent une position médiane : DIAM oscille entre 2020 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (E2) et 1800 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (E4), tandis que DIAMs évolue de 1981 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (E2) à 1488 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (E4).

Retenons que deux tendances se confirment : d'une part la conductivité diminue progressivement de E2 vers E4 pour tous les substrats, et d'autre part la hiérarchie des substrats reste constante (SPAbp > DIAM \approx DIAMs > SPAr) quelle que soit la souche utilisée.

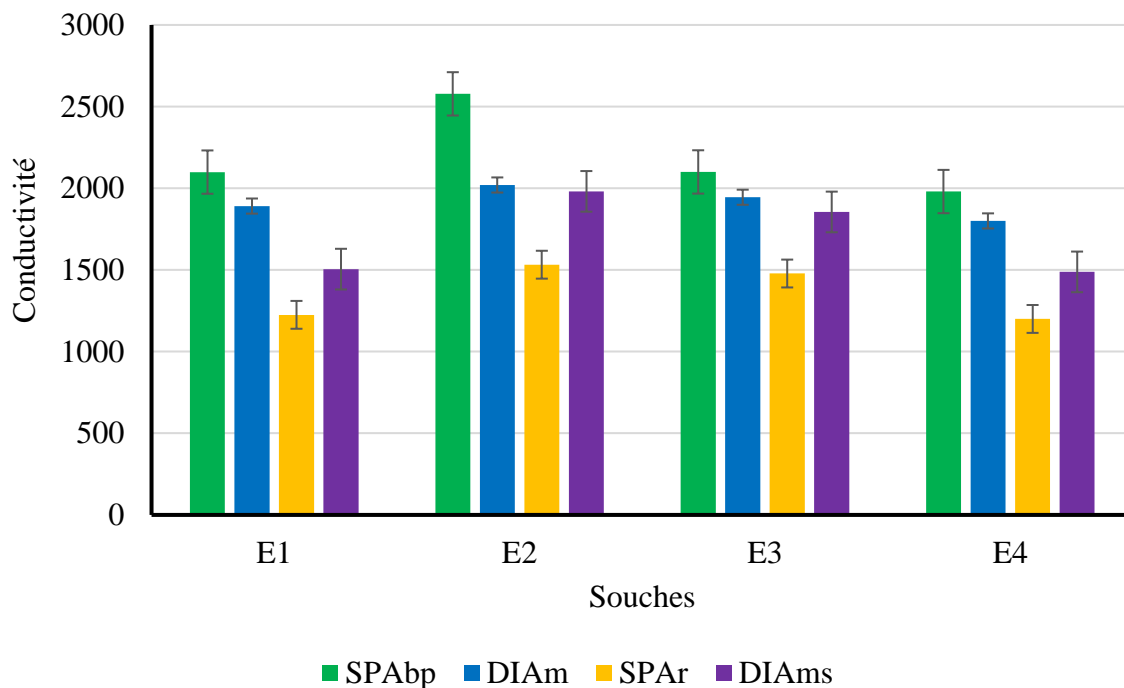


Figure 60: Impact des souches sur la conductivité des substrats amylicés

SPAbp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAM : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAMs : déchet industriel agricole de maïs

1.2.3.2. Impact des souches de *Aspergillus* sur la conductivité des substrats de fruits

L'influence de quatre souches fongiques sur la conductivité électrique de trois substrats de fruits après fermentation est illustrée par la Figure 61. Concernant les souches, E2 génère les conductivités les plus élevées pour tous les substrats, tandis que E4 produit les valeurs les plus basses. Par ailleurs, E1 et E3 montrent des effets intermédiaires avec E3 légèrement supérieure à E1.

Pour les substrats, DIAa présente les conductivités les plus fortes quelle que soit la souche, variant de 3100 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (E2) à 2800 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (E1). SPAac occupe une position médiane, passant de 2800 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (E2) à 2500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (E4). En revanche, SPAmg enregistre systématiquement les valeurs les plus faibles, descendant de 1243 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (E2) à 953 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (E4).

En tout, deux tendances se confirment : d'une part la conductivité diminue progressivement de E2 vers E4 pour chaque substrat, et d'autre part la hiérarchie des substrats reste constante (DIAa > SPAac > SPAmg) indépendamment de la souche utilisée.

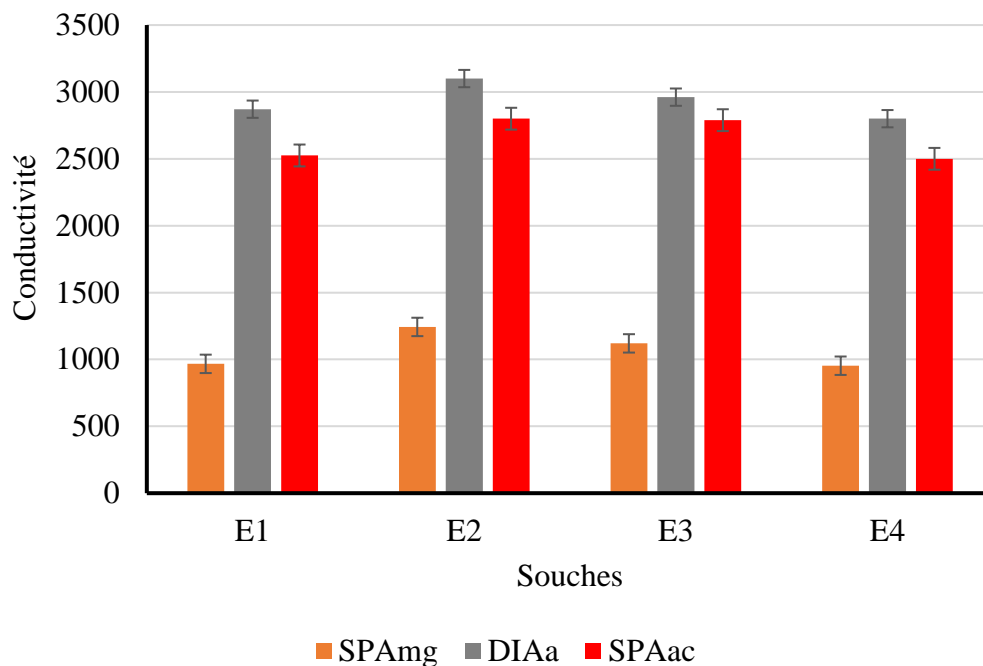


Figure 61: Impact des souches sur la conductivité des substrats de fruits

SPAmg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde.

1.3. Quantification de l'acide citrique issue des sous-produits agricoles et déchets industriels agricoles

La production d'acide citrique (g/L) par quatre souches fongiques sur quatre substrats amylicés est présentée dans la Figure 62.

Concernant les souches, E2 produit les concentrations les plus élevées pour tous les substrats, tandis que E4 génère les valeurs les plus faibles. Par ailleurs, E1 et E3 montrent des performances intermédiaires, avec E3 généralement supérieure à E1.

Pour les substrats, SPAbp donne les rendements les plus élevés quelle que soit la souche, variant de 0,6 g/L (E2) à 0,33 g/L (E4). DIAMs occupe la deuxième position, passant de 0,34 g/L (E2) à 0,14 g/L (E4). En revanche, DIAM et SPAr produisent les quantités les plus faibles

: DIAM descend de 0,1 g/L (E2) à 0,02 g/L (E4), tandis que SPAr évolue de 0,08 g/L (E2) à 0,035 g/L (E4).

De manière générale, il y a deux tendances majeures : d'une part, la production diminue fréquemment de E2 vers E4 pour chaque substrat, et d'autre part, la hiérarchie des substrats reste invariable en fonction de la souche utilisée (SPAbp > DIAMs > DIAM > SPAr).

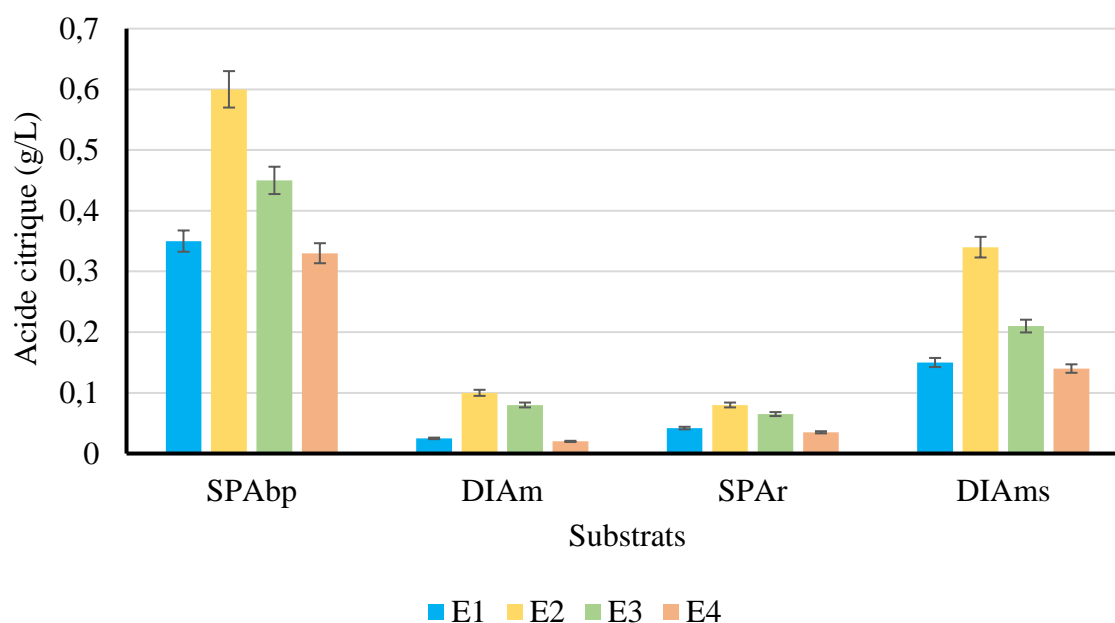


Figure 62 : Production d'acide citrique par quatre isolats sur les substrats amylicés

SPAbp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAM : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAMs : déchet industriel agricole de maïs.

La Figure 63 présente les concentrations d'acide citrique (g/L) produites par trois souches de *Aspergillus niger* (E1, E2, E3) et l'isolat E4 sur trois substrats de fruits.

Au niveau des souches, E3 produit les valeurs les plus élevées pour SPAmg (0,9 g/L) et SPAac (0,955 g/L), tandis que E2 domine sur DIAa (1,02 g/L). A l'inverse, E4 génère les concentrations les plus faibles pour tous les substrats, alors que E1 occupe une position intermédiaire.

Pour les substrats, DIAa donne les rendements maximaux avec E2 (1,02 g/L), tandis que SPAmg enregistre les valeurs minimales sous E4 (0,55 g/L). SPAac montre des performances variables, atteignant son pic avec E3 (0,955 g/L) mais reste toujours supérieur à SPAmg. DIAa émerge comme le substrat le plus productif pour trois souches sur quatre, alors que SPAmg demeure le moins performant.

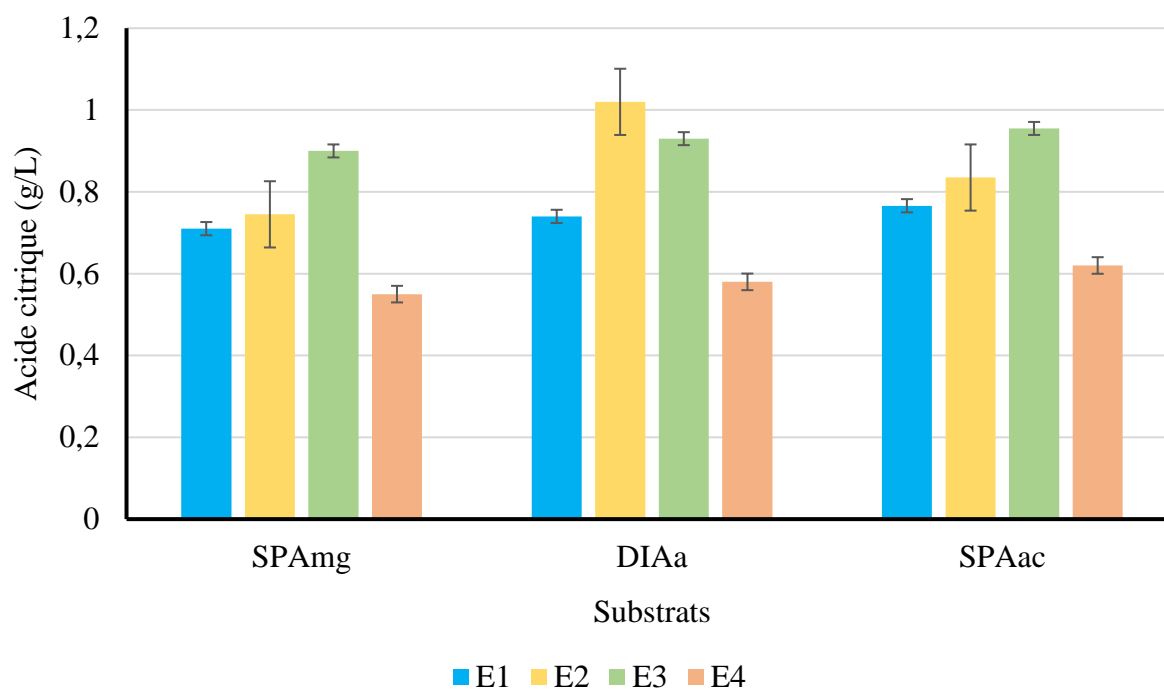


Figure 63: Production d'acide citrique par quatre isolats sur les substrats de fruits

SPAmg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde.

1.4. Evaluation des propriétés biochimiques des sous-produits et déchets industriels agricoles avant et après fermentation

Le Tableau XXI illustre l'impact de la fermentation sur différents substrats, avec une diminution marquée des glucides totaux et des sucres réducteurs pour la plupart des produits. Les fibres totales restent quasiment stables (banane plantain passe de 4,42 % à 4,4 %).

L'amidon subit une réduction drastique dans les substrats riches comme le maïs (68,45 % à 10,0 %) ou le son de riz (54,42 % à 15,0 %). Les substrats initialement pauvres en amidon, comme la mangue (0,94 % à 0,9 %), montrent peu de changement. Les sucres réducteurs, rapidement consommés, chutent fortement : l'ananas passe de 21,84 % à 5,0 %, et l'anacarde de 32,60 % à 5,0 %.

Tableau XXI: Données biochimiques des sous-produits et déchets industriels agricoles

	(%) Glucide		(%) Fibres totaux		(%) Sucre réducteur		(%) Amidon	
	Avant fermentation	Après fermentation	Avant fermentation	Après fermentation	Avant fermentation	Après fermentation	Avant fermentation	Après fermentation
SPAbp	60,83 ^a ± 0,11	24 ^a ± 0,23	4,42 ^a ± 0,1a	4,4 ^a ± 0,23	8,12 ^a ± 0,01	1,5 ^c ± 0,95	4,04 ^a ± 0,1	2 ^a ± 0,05
DIAm	85,76 ^b ± 1,74	48 ^b ± 0,81	7,39 ^a ± 0,42	7,3 ^a ± 0,11	0,35 ^c ± 0,03	0,1 ^c ± 0	67,01 ^b ± 0,4	10 ^b ± 0,13
SPAr	74,38 ^b ± 0,12	41 ^b ± 0,14	5,26 ^a ± 0,75	5,2 ^a ± 0,13	0,13 ^c ± 0,1	0 ^c ± 0	54,42 ^b ± 0,7	15 ^b ± 0,22
DIAs	80,55 ^b ± 0,8	46 ^b ± 1,4	3,59 ^a ± 0,62	3,5 ^a ± 0,08	0,25 ^c ± 0,05	0,1 ^c ± 0	68,45 ^b ± 0,1	10 ^b ± 0,07
SPAmg	52,15 ^a ± 0,4	23 ^a ± 0,45	3,49 ^a ± 0,71	3,4 ^a ± 0,46	14,28 ^b ± 0,03	0,5 ^c ± 0,1	0,94 ^c ± 0,09	0,9 ^c ± 0,15
DIAa	81,11 ^b ± 0,64	53 ^b ± 0,1	6,23 ^a ± 0,11	6,2 ^a ± 0,64	21,84 ^b ± 0,7	5 ^a ± 0,12	45,98 ^b ± 0,2	10 ^b ± 0,1
SPAac	36,17 ^c ± 0,45	18 ^a ± 0,03	15,26 ^b ± 0,22	15,2 ^b ± 0,71	32,6 ^b ± 0,06	5 ^a ± 0,12	10,66 ^a ± 0,14	3 ^a ± 0,08

*Les valeurs sont la moyenne ± écart-type de trois mesures (n = 3). La même lettre en indice dans une même colonne indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les échantillons pour le paramètre concerné (p<0,05).

SPAbp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAm : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAs : déchet industriel agricole de maïs ; SPAmg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde.

1.5. Evaluation des éléments minéraux

Le Tableau XXII présente des variations dans la composition minérale des sept substrats analysés.

Les substrats montrent des disparités extrêmes pour certains éléments. Le phosphore, par exemple, varie de 142,5 mg/kg (SPAac) à 0,378 mg/kg (SPAbp). Le fer présente la plus grande amplitude avec SPAac (5,71 mg/kg) à DIAMS (784,79 mg/kg).

Le substrat DIAMS se distingue comme le substrat le plus riche en multiples éléments : zinc (22,86 mg/kg), fer (784,79 mg/kg), cuivre (5,81 mg/kg) et azote (0,82 %). Tandis que le substrat SPAac présente un profil paradoxal ; dominant en phosphore (142,5 mg/kg), il est le plus pauvre en zinc (1,08 mg/kg) et cuivre (1,12 mg/kg).

Le substrat DIAa accumule préférentiellement le manganèse (36,65 mg/kg), une concentration 6 fois supérieure à la moyenne des autres substrats, mais montre un déficit marqué en azote (0,05 %). Alors que les substrats SPAr, SPAbp et SPAmg affichent des compositions globalement modestes, bien que SPAbp présente le magnésium le plus élevé (1,924 g/kg).

Tableau XXII: Composition minérale des sous-produits et déchets industriels agricoles

	Zinc (mg/kg)	Magnésium (g/kg)	Manganèse (mg/kg)	Fer (mg/kg)	Cuivre (mg/kg)	Phosphore (mg/kg)	Azote (%)
SPAbp	9,56 ^a ± 0,01	1,924 ^a ± 0,05	6,05 ^a ± 0,1	19,58 ^a ± 0,1	2,43 ^a ± 0,01	0,378 ^c ± 0,05	0,32 ^a ± 0,02
DIAm	8,29 ^a ± 0,3	1,113 ^a ± 0,01	3,04 ^a ± 0,02	205,34 ^b ± 0,01	2,38 ^a ± 0,01	1,607 ^a ± 0,2	0,47 ^a ± 0,01
SPAr	12,24 ^a ± 0,02	0,438 ^a ± 0,2	11,42 ^a ± 0,05	120,59 ^b ± 0,05	2,28 ^a ± 0,01	0,522 ^c ± 0,01	0,36 ^a ± 0,01
DIAmS	22,86 ^b ± 0,04	0,894 ^a ± 0,02	10,95 ^a ± 0,06	784,79 ^b ± 0,6	5,81 ^a ± 0,01	4,691 ^a ± 0,1	0,82 ^a ± 0,04
SPAmg	2,32 ^c ± 0,01	0,522 ^a ± 0,03	8,69 ^a ± 0,01	13,53 ^a ± 0,03	2,31 ^a ± 0,01	0,521 ^c ± 0,03	0,31 ^a ± 0,02
DIAa	8,01 ^a ± 0,1	1,452 ^a ± 0,2	36,65 ^b ± 0,3	48,96 ^a ± 0,04	4,12 ^a ± 0,01	1,496 ^a ± 0,01	0,05 ^a ± 0,01
SPAac	1,08 ^c ± 0,01	1,21 ^a ± 0,02	6,81 ^a ± 0,01	5,71 ^c ± 0,02	1,12 ^a ± 0,01	142,5 ^b ± 0,03	0,4 ^a ± 0,01

*Les valeurs sont la moyenne ± écart-type de trois mesures (n = 3). La même lettre en indice dans une même colonne indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les échantillons pour le paramètre concerné (p < 0,05).

SPAbp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAm : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAmS : déchet industriel agricole de maïs ; SPAmg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde.

2. Discussion

Les résultats obtenus révèlent une acidification générale des substrats au cours de la fermentation, quelle que soit le substrat analysé (SPAbp, DIAM, SPAr, DIAMs, SPAMg, DIAa, SPAac). Cette tendance se manifeste par une baisse progressive ou marquée du pH sur l'ensemble, conformément aux mécanismes classiques des fermentations microbiennes. Ces fluctuations de pH s'alignent avec les observations rapportées par (Grewal & Kalra, 1995; Dhillon, 2012; Show *et al.*, 2015). Selon leurs études, les sucres présents dans les substrats servent de source carbonée pour *Aspergillus niger*, lequel métabolise progressivement ces composés en acide citrique. Une fois synthétisé, cet acide acidifie le milieu de culture, entraînant ainsi une diminution graduelle du pH. Par ailleurs, il est important de noter que les champignons filamenteux, dont *Aspergillus niger*, présentent une tolérance à des pH variés (de 2 à 9), avec une croissance optimale dans une plage de 2 à 6,0 (Ajala *et al.*, 2020). Les conditions de pH des milieux de fermentation étudiés se situent donc dans cette zone optimale, favorisant le développement du champignon.

Au niveau de l'évolution du pH avec E2, le substrat DIAa avec un pH final extrêmement bas (2,5), suggère une acidification plus intense que les autres substrats. Cette acidification s'explique principalement par la production d'acides organiques (acide citrique, lactique ou oxalique) par le microorganisme E2 lors de la dégradation des substrats. La chute brutale observée pour SPAbp pourrait être liée à une phase de croissance exponentielle du microorganisme, durant laquelle la production d'acides s'accélère, ou à une libération soudaine de métabolites acides suite à un stress métabolique ou à la lyse cellulaire. Quant à la stabilisation partielle du pH pour SPAr, DIAM et DIAMs, elle reflète probablement un équilibre dynamique entre la production d'acides et leur neutralisation par des composés tampons présents dans le substrat, ou encore l'épuisement des sucres fermentescibles, limitant la production d'acides. Le substrat DIAa, avec un pH final de 2,5, souligne l'impact de la composition spécifique du substrat ou de la souche microbienne sur l'acidification. Un substrat riche en sucres simples ou dépourvu de composés tampons (minéraux basiques) pourrait favoriser une acidification plus marquée. Ces observations s'alignent avec les travaux de Soccol *et al.*, (2006) et Papagianni, (2007), qui décrivent une chute du pH à des valeurs comprises entre 1,5 et 3,0 lors de fermentations par *Aspergillus niger*. De même, la stabilisation du pH observée pour certains substrats rejoint les conclusions de Dhillon (2012), qui l'attribue à l'épuisement des ressources ou à l'adaptation métabolique des microorganismes.

L'évolution du pH avec E3 révèle une diminution régulière du pH sur une période de 0 à 15 jours pour tous les substrats analysés (SPAbp, DIAM, SPAr, DIAMs, SPAmg, DIAa, SPAac), contrairement aux chutes brutales observées avec E2. Le substrat SPAr atteint un pH final de 4,2, tandis que DIAa confirme son rôle de substrat le plus acide avec un pH final de 2,5, identique à celui obtenu avec E2. Ces résultats, bien que statistiquement similaires à ceux de E2 en termes de pH final, mettent en évidence une cinétique d'acidification distincte pour E3. Cette diminution progressive du pH suggère une production d'acides organiques plus régulière par E3, sans pics de métabolisme marqués. L'absence de chutes brutales pourrait s'expliquer par une croissance microbienne plus homogène ou une adaptation métabolique mieux régulée, limitant les phases de stress cellulaire ou de lyse. La stabilité de l'acidité finale pour DIAa (pH 2,5) renforce l'idée que la composition du substrat (richesse en sucres, absence de composés tampons) joue un rôle clé dans l'acidification, indépendamment de la souche microbienne utilisée. Ces observations s'alignent avec les travaux de Papagianni (2007), qui soulignent que différentes souches de *Aspergillus* peuvent présenter des cinétiques de production d'acides variables, tout en atteignant des pH finaux similaires. La régularité de la baisse du pH avec E3 rappelle également les études de (Dhillon, 2012), où une fermentation prolongée et bien contrôlée évite les fluctuations abruptes. Cependant, le fait que DIAa maintienne un pH de 2,5 avec les deux souches suggère que l'efficacité d'acidification dépend davantage du substrat que de la souche microbienne un phénomène également rapporté par Rivas *et al.* (2008).

Contrairement aux souches E2 et E3, les deux autres souches E1 et E4 induisent une acidification globalement moins prononcée. E4 confirme cette tendance avec des courbes d'acidification statistiquement identiques à celles de E1, mais encore moins marquées que pour E2 et E3. Cette atténuation de l'acidification suggère que E1 et E4 possèdent un métabolisme moins producteur d'acides ou une adaptation différente aux substrats. La réduction de la production d'acides organiques (acide citrique, gluconique) pourrait être liée à une activité enzymatique moins efficace (ex. : citrate synthase) ou à une préférence métabolique pour d'autres voies (ex. : production de polysaccharides). La similarité des profils entre E1 et E4 indique une parenté physiologique ou génétique entre ces souches, comme l'ont observé De Vries *et al.*, (2017) dans leur étude comparative de souches de *Aspergillus*. Le cas de DIAMs, qui montre une baisse régulière du pH malgré l'atténuation générale, souligne l'importance de la composition du substrat. Sa teneur élevée en sucres fermentescibles ou en précurseurs métaboliques pourrait stimuler une acidification même

avec des souches moins efficaces, un phénomène décrit par Dhillon *et al.* (2013) dans des travaux sur la valorisation de déchets agricoles.

Au niveau de l'impact des souches sur l'acidification des substrats, l'étude révèle une diminution généralisée du pH pour toutes les combinaisons souche-substrat, mais avec des dynamiques et des intensités variables selon les spécificités des souches microbiennes et la nature des substrats. Les essais indiquent que l'acidification varie fortement selon les souches et substrats. E2 et E3 abaissent drastiquement le pH de DIAa (jusqu'à 2,5) et SPAmg (2,85 à 2,99). E1 agit fortement sur DIAns (pH 3,37), mais pas sur SPAmg. E4 reste la souche la moins efficace partout. Ces différences s'expliquent par deux facteurs clés. Premièrement, les substrats riches en sucres rapides (DIAa, SPAbp) favorisent la production d'acides par E2 et E3, comme l'observe Papagianni (2007) pour *Aspergillus niger*. Deuxièmement, les minéraux tampons (calcium, potassium) dans SPAr et SPAac bloquent l'acidification, confirmant les travaux de Latif *et al.* (2024) sur les matrices végétales. Pour finir, l'affinité de E1 pour DIAns suggère des enzymes adaptées, phénomène rapporté par Couto & Sanromán (2006) pour d'autres souches spécialisées. Nos résultats concordent avec Dhillon *et al.* (2013) sur les substrats sucrés qui favorisent l'acidification. Cependant, la faible efficacité de E4 sur SPAmg contredit partiellement Singhanian *et al.* (2009), indiquant que des inhibiteurs naturels (polyphénols) pourraient perturber l'activité fongique. Ces écarts soulignent la complexité des interactions souche-substrat.

Concernant l'évolution du degré Brix lors de la fermentation des substrats agricoles par les souches de *Aspergillus*, les substrats DIAa et SPAmg, caractérisés par des valeurs initiales élevées de Brix (20 °Brix et 19,8 °Brix respectivement), montrent une diminution rapide et marquée du degré. À l'inverse, les substrats à faible teneur initiale en sucres, comme DIAns (5 °Brix) et SPAar (2 °Brix), présentent une baisse limitée en fin de fermentation. Ces tendances sont identiques pour E2 et E3 soulignant que la composition du substrat, plutôt que la souche microbienne, est le facteur clé influençant la cinétique de consommation des sucres. Cette consommation différentielle des sucres s'explique par la disponibilité et la nature des substrats carbonés. Les substrats à haut degré Brix initial (DIAa et SPAmg) contiennent probablement des sucres facilement fermentescibles (glucose, fructose), rapidement métabolisés par *Aspergillus niger* pour produire de l'acide citrique, comme l'ont montré Satheeshkumar *et al.* (2019) dans des travaux sur la bioconversion de résidus agricoles. À l'inverse, les substrats à faible Brix (DIAns et SPAar) contiennent des sucres complexes

(amidon) et des fibres limitant l'accès aux enzymes fongiques, ralentissant leur dégradation. La stabilisation observée pour DIAM à partir de J10 suggère un épuisement des sucres simples, laissant des composés moins accessibles, un phénomène décrit par Yafetto (2022) dans des substrats similaires. La similitude des profils entre E2 et E3 indique que ces souches partagent des voies métaboliques comparables pour l'utilisation des sucres, malgré des différences potentielles dans leur efficacité d'acidification. Cette observation rejoint les conclusions de Kumar *et al.* (2024), qui soulignent que les souches de *Aspergillus* ont des stratégies métaboliques convergentes face à des substrats riches en carbone.

Pour les deux souches E3 et E4, une diminution générale est observée au niveau du degré Brix sur les 15 jours, mais avec des dynamiques variables selon la nature des substrats. Les substrats initialement riches en sucres, comme SPAbp (16,6 °Brix) et SPAMg (19,8 °Brix), subissent une baisse marquée (respectivement jusqu'à 5 °Brix et 6 °Brix), traduisant une consommation rapide des sucres fermentescibles par les souches. À l'inverse, les substrats à faible teneur initiale, comme SPAr (2 °Brix) et DIAMs (5 °Brix), montrent un épuisement quasi-total des sucres (0 °Brix et 0,5 °Brix), suggérant une biodisponibilité élevée des composés carbonés malgré leur faible concentration. Le substrat DIAa présente un comportement atypique après une augmentation temporaire du degré Brix à J6 (17 °Brix contre 16 °Brix à J4), la teneur en sucres diminue ensuite pour atteindre 7,7 °Brix en fin de fermentation. Cette hausse transitoire pourrait s'expliquer par une libération de sucres simples suite à l'hydrolyse enzymatique de polysaccharides complexes (ex. : amidon, cellulose) présents dans le substrat, un phénomène décrit par Amos *et al.* (2025) dans des fermentations prolongées. La baisse accélérée après J10 pour SPAac (17,5 à 6 °Brix) indique une activation tardive des voies métaboliques ou une adaptation du microorganisme à des sucres moins accessibles, comme l'ont observé Zhang *et al.* (2020) dans des substrats similaires.

Les similitudes entre E1 et E4 sont frappantes. Les deux souches consomment les sucres avec une efficacité comparable, notamment sur les substrats à haut Brix initial (SPAbp, SPAMg). Cela suggère que la composition du substrat, plutôt que la souche microbienne, est le principal facteur déterminant la cinétique de consommation. Par exemple, DIAM (13 à 6,5 °Brix) montre une diminution progressive pour les deux souches, probablement en raison d'une présence mixte de sucres simples et complexes, ralentissant le métabolisme fongique. Ces résultats corroborent les travaux de Yafetto (2022), qui soulignent l'impact du substrat sur l'activité enzymatique. Cependant, des différences subtiles existent. E1 et E4 affichent des performances légèrement divergentes sur DIAa. La hausse temporaire de Brix est plus

marquée pour E4 tandis que E1 montre une consommation plus régulière. Ces variations pourraient refléter des différences de profil enzymatique (ex. : alpha amylase et bêta-glucosidase plus marqué chez E4) entre les souches, un aspect exploré par Kumar *et al.* (2024) dans une étude génomique comparative. De même, la stabilisation plus rapide du Brix pour SPAr et DIAMs avec E4 suggère une adaptation métabolique légèrement plus efficace aux substrats pauvres en sucres.

Pour ce qui est de l'impact des souches sur la consommation des sucres solubles des substrats, l'étude montre que E2 a les degrés Brix les plus bas pour tous les substrats, signifiant sa forte consommation de sucres. Inversement, E4 a les valeurs les plus élevées, révélant une efficacité réduite. Le substrat SPAr présente une particularité. En effet, ses sucres sont totalement consommés (0° Brix) par toutes les souches. À l'opposé, DIAM conserve les valeurs les plus importantes, quelle que soit la souche testée. Les substrats SPAbp et DIAMs occupent une position intermédiaire, avec des résidus croissant progressivement de E2 (3° ; 0,5°) à E4 (5° ; 1°). Pour les substrats de fruits (SPAmg, DIAa, SPAac), E2 confirme sa supériorité, tandis que DIAa résiste le plus à la dégradation. Ces différences s'expliquent par deux mécanismes clés. Premièrement, l'efficacité de E2 découle probablement d'enzymes hydrolytiques puissantes capables de libérer les sucres liés. Ceci rejoint les travaux de Woinaroschy *et al.* (2010) sur *Aspergillus niger*. Deuxièmement, la consommation totale de SPAr indique une biodisponibilité immédiate de ses sucres solubles. Nos résultats concordent avec Kumar *et al.* (2003) qui stipulent que *Aspergillus niger* consomme mieux les sucres simples que les matrices complexes. Aussi, la forte dégradation de DIAa et SPAmg épousent totalement les résultats de Kouassi (2018), signalant que les substrats fruitiers sont habituellement bien métabolisés. La performance constante de E2 valide les conclusions de Singh *et al.* (2016) sur la supériorité métabolique de certaines souches sauvages.

Les mesures de conductivité révèlent une dynamique métabolique distincte selon les isolats et les substrats testés. La hiérarchie observée ($E2 > E3 > E1 \approx E4$) suggère que E2, avec des augmentations de conductivité atteignant 1532 $\mu\text{S}/\text{cm}$ sur SPAr et 1243 $\mu\text{S}/\text{cm}$ sur SPAmg, possède une capacité supérieure à libérer ou à générer des ions lors de la dégradation des substrats. Cette performance pourrait être liée à une expression enzymatique plus efficace, notamment des hydrolases capables de fragmenter les polymères complexes (ex. cellulose, amidon) en sucres simples, libérant ainsi des composés ioniques. Ces résultats corroborent les travaux de Kumar *et al.* (2003), qui associent l'activité métabolique accrue de *A. niger* à une surexpression des gènes de dégradation des substrats. La différence marquée entre souches

s'explique également par leur adaptation physiologique. E2 isolé initialement de substrats de fruits, montre une affinité particulière pour SPAmg, où sa conductivité triple en 15 jours. Ce phénomène rappelle les observations de Dhillon *et al.* (2013), qui décrivent une corrélation entre l'origine écologique des souches et leur efficacité sur des substrats spécifiques. À l'inverse, E1 et E4, moins performantes, pourraient présenter des limitations dans le transport membranaire des nutriments ou la régulation des voies métaboliques, comme l'évoquent Rivas *et al.* (2008) dans leur étude sur les souches industrielles. Les variations inter-substrats apportent un éclairage complémentaire. SPAr, bien que pauvre en sucres initiaux (493 $\mu\text{S}/\text{cm}$), engendre les croissances relatives les plus fortes, notamment chez E2. Cette tendance pourrait refléter une hydrolyse accrue des fibres, libérant des ions lors de la décomposition de la lignocellulose, un mécanisme décrit par Soccol *et al.* (2006) dans la valorisation des déchets agricoles. À l'opposé, DIAa, riche en sucres solubles, montre une augmentation absolue record (3100 $\mu\text{S}/\text{cm}$ avec E2), probablement due à la libération d'acides organiques et de sels minéraux lors de la fermentation, un processus similaire à celui rapporté par Show *et al.* (2015) avec des résidus fruitiers.

L'étude révèle deux tendances majeures concernant l'impact des isolats sur les substrats. La première, E2 génère systématiquement les conductivités les plus élevées pour tous les substrats, tandis que E4 produit les valeurs les plus basses. La seconde est la hiérarchie des substrats qui reste constante : SPABp > DIAM \approx DIAMs > SPAr pour les amylacés, et DIAa > SPAac > SPAmg pour les fruits. Par exemple, SPABp atteint 2578 $\mu\text{S}/\text{cm}$ sous E2 contre 1980 $\mu\text{S}/\text{cm}$ sous E4, et DIAa varie de 3100 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (E2) à 2800 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (E4). Ces profils s'expliquent par deux mécanismes complémentaires. D'une part, E2 libère davantage d'ions (potassium, calcium, phosphore) lors de la dégradation métabolique, augmentant la conductivité. Ce phénomène rejoint les observations Dhillon (2012) sur la minéralisation accrue par les souches hyperproductrices d'acides. D'autre part, la composition chimique intrinsèque des substrats détermine leur potentiel conducteur. SPABp et DIAa, riches en minéraux solubles (magnésium, potassium), favorisent naturellement une conductivité élevée, tandis que SPAr et SPAmg, pauvres en électrolytes, limitent le transfert ionique. Nos résultats concordent avec les travaux de Chergui *et al.* (2021), qui montrent que *Aspergillus niger* augmente la conductivité des substrats amylacés via la libération d'ions organiques. Cependant, la faible conductivité de SPAmg sous E4 contredit partiellement les travaux de Kumar *et al.* (2024), suggérant que certains inhibiteurs naturels (tanins) pourraient bloquer la solubilisation minérale.

Quant à la production d'acide citrique sur les substrats, E2 produit les concentrations d'acide citrique les plus élevées sur les substrats amylicés (jusqu'à 0,6 g/L pour SPAbp) alors que E4 génère les valeurs les plus faibles. SPAbp donne les meilleurs rendements amylicés (0,33-0,6 g/L), tandis que DIAM et SPAr restent les moins productifs (0,02-0,1 g/L). Pour les substrats fruitiers, E2 excelle sur DIAa (1,02 g/L) et E3 sur SPAmg et SPAac (0,9-0,955 g/L). DIAa émerge comme substrat fruitier le plus performant (0,58-1,02 g/L), SPAmg le moins efficace (0,55-0,9 g/L). Ces différences s'expliquent par deux facteurs. Premièrement, E2 possède un métabolisme optimisé pour hydrolyser l'amidon des substrats amylicés en sucres fermentescibles, comme l'explique Papagianni (2007). Deuxièmement, la richesse en sucres rapides de DIAa et SPAbp favorise la production d'acide citrique. L'efficacité réduite de E4 suggère des déficits enzymatiques (citrate synthase), phénomène observé par Karaffa & Kubicek (2003). Nos données concordent avec Dhillon *et al.* (2011) sur les substrats amylicés riches (SPAbp) qui produisent plus d'acide citrique que les substrats pauvres (SPAr). La supériorité de E2 et E3 rejoint Papagianni *et al.* (1998), qui attribuent ce résultat à une expression accrue d'enzymes clés.

Les données révèlent une transformation drastique des substrats lors de la fermentation, marquée par une consommation intensive de glucides et de sucres réducteurs par les micro-organismes. Par exemple, la réduction des glucides totaux du manioc (de 85,76 % à 45,0 %) et des sucres réducteurs de l'ananas (de 21,84 % à 5,0 %) souligne une activité métabolique accrue orientée vers la production d'acides organiques ou d'énergie. Ces tendances corroborent les observations de Soccol *et al.* (2006), qui ont montré que les souches de *Aspergillus* métabolisent préférentiellement les glucides simples et l'amidon pour soutenir leur croissance et leur production d'acide citrique. La stabilité des fibres totales (SPAbp passant de 4,42 % à 4,4 %) confirme leur résistance à la dégradation microbienne, probablement due à la structure lignocellulosique complexe, comme l'a détaillé une étude sur la décomposition des épiluchures de fruits par *Aspergillus niger* (Satheeshkumar *et al.*, 2019). La réduction spectaculaire de l'amidon dans des substrats comme le maïs (68,45 % à 10,0 %) ou le son de riz (54,42 % à 15,0 %) s'explique par son hydrolyse enzymatique en sucres fermentescibles, suivie d'une assimilation rapide par les micro-organismes.

Ce mécanisme a été décrit par Avci *et al.* (2025) qui ont identifié des souches de *Aspergillus* capables de sécréter des amylases et glucoamylases pour dégrader l'amidon en glucose. La chute abrupte des sucres réducteurs, comme pour l'anacarde (32,60 % à 5,0 %), met en

évidence leur utilisation prioritaire comme source de carbone rapide. La chute de l'amidon et des sucres réducteurs montre une relation inverse. L'amidon est d'abord hydrolysé en sucres réducteurs par des enzymes (amylases), puis ces sucres sont consommés par les microorganismes. Ces sucres, facilement assimilables, alimentent les voies glycolytiques et le cycle de Krebs, générant de l'ATP et des précurseurs pour la synthèse d'acides. Une étude sur la cinétique des sucres en fermentation solide a confirmé que leur épuisement précoce coïncide avec la phase de croissance exponentielle des micro-organismes (Dashen *et al.*, 2014).

L'étude révèle une corrélation claire entre la composition minérale des substrats et la production d'acide citrique. SPAbp, riche en magnésium (1,924 g/kg), donne les rendements les plus élevés (0,6 g/L). DIAMs, pourtant très riche en fer (784,79 mg/kg) et zinc (22,86 mg/kg), produit moins d'acide (0,14-0,34 g/L). DIAa, avec son manganèse élevé (36,65 mg/kg) mais son azote faible (0,05 %), génère des performances variables selon les souches (jusqu'à 1,02 g/L). À l'inverse, SPAac, carencé en zinc (1,08 mg/kg) et cuivre (1,12 mg/kg), montre une production modérée.

Ces différences confirment le rôle crucial des ions métalliques. Le magnésium (abondant dans SPAbp) active les enzymes clés comme la citrate synthase, boostant la production (Karaffa & Kubicek, 2003). L'excès de fer et de zinc dans DIAMs inhibe la production d'acide citrique, car ces métaux perturbent l'homéostasie cellulaire et bloquent les voies métaboliques (Amato *et al.*, 2020). Le manganèse dans DIAa compense partiellement le déficit en azote en stabilisant les cofacteurs enzymatiques (Soccol *et al.*, 2006). Les carences en zinc et cuivre dans SPAac limitent l'activité des déshydrogénases, réduisant le rendement de l'acide citrique. La performance de SPAbp rejoint les travaux de Papagianni (2007) sur l'activation du métabolisme par le magnésium. Toutefois, la faible production d'acide citrique de DIAMs (784,79 mg/kg) justifie les résultats de Amato *et al.* (2020), suggérant que des seuils critiques existent : au-delà de 500 mg/kg de fer, l'inhibition domine.

3. Conclusion partielle

Les analyses menées sur l'évolution du pH, du degré Brix, de la conductivité, de la production d'acide citrique, des paramètres biochimiques et minéraux révèlent des interactions complexes entre les isolats et les substrats agricoles. L'acidification (pH) montre une baisse drastique sous E2 et E3, atteignant des pH critiques de 2,5 pour DIAa et 3,26 pour SPAbp. Concernant les sucres (degré Brix), E2 consomme le plus efficacement les substrats, réduisant

les résidus à près de 0°.

La conductivité électrique augmente significativement avec E2, particulièrement pour SPAbp (2578 $\mu\text{S}/\text{cm}$) et DIAa (3100 $\mu\text{S}/\text{cm}$), reflétant une libération accrue d'ions lors de la dégradation. Pour l'acide citrique, les concentrations maximales sont atteintes avec E2 avec 1,02 g/L (DIAa) et 0,6 g/L (SPAbp), contre des valeurs minimales sous E4 (0,58 g/L de DIAa ; 0,33 g/L de SPAbp).

Les paramètres biochimiques (glucides, sucres réducteurs, amidon) montrent une réduction dans les substrats riches en ressources fermentescibles (rafle de maïs chutant de 68,45 % à 10 %), tandis que les fibres résistent à la dégradation. La production d'acide citrique, maximisée sur des substrats comme SPAmg et DIAa (jusqu'à 1,02 g/L), dépend à la fois de l'efficacité enzymatique des souches (E2 et E3 étant les plus performantes) et de la disponibilité en sucres simples.

Les éléments minéraux jouent un rôle clé. D'une part, le magnésium élevé dans SPAbp (1,924 g/kg) stimule la production d'acide citrique en activant les enzymes ; d'autre part, l'excès de fer dans DIAMs (784 mg/kg) inhibe l'activité fongique et la carence en azote de DIAa (0,05 %) réduit la synthèse de l'acide citrique.

Les analyses intégrées mettent en lumière l'isolat E2 comme la plus performante pour la fermentation, affichant une production d'acide citrique record (1,02 g/L) et une acidification rapide ($\text{pH} \leq 2,5$). Cette souche excelle particulièrement sur les substrats amylicés riches en amidon, tels que SPAbp et DIAMs, où l'hydrolyse de l'amidon en sucres fermentescibles alimente une métabolisation intense. Parmi les substrats fruitiers, DIAa se distingue comme le substrat idéal, combinant une teneur élevée en sucres réducteurs (21,84 % initial) et une absence de composés inhibiteurs, permettant une production élevée d'acide citrique. Ainsi, l'interdépendance des paramètres est évidente. La consommation des sucres déclenche l'acidification, favorisant la libération d'ions et la production d'acide citrique. Cependant, cette synergie nécessite un équilibre minéral optimal, sans excès inhibiteurs (fer) ni carences limitantes (azote, zinc).

Pour avancer, l'optimisation des couples souche-substrat et l'atténuation des déséquilibres minéraux émergent comme des leviers prioritaires. En utilisant ces combinaisons souche-substrat (E2 avec SPAbp, DIAMs, DIAa et SPAac), le rendement peut être maximiser tout en valorisant les résidus agricoles abondants.

CHAPITRE 3 : RECUPERATION ET PURIFICATION DE L'ACIDE CITRIQUE PRODUIT

1. Résultats

1.1. Récupération à l'aide du éther di-éthylique sur des substrats amylacés

Le Tableau XXIII présente les résultats de l'extraction d'acide citrique (AC) obtenus avec différentes combinaisons de souches de *Aspergillus niger* (E1, E2, E3), l'isolat E4 et de substrats amylacés. L'isolat E2 démontre des performances remarquables avec les masses d'acide citrique extraites les plus élevées particulièrement sur les substrats SPAbp et DIAMs. Pour SPAbp, cette souche atteint une concentration initiale de 4,5 g/L et produit 2,52 g d'acide extrait, établissant la référence maximale pour ce substrat. Sur DIAMs, elle maintient sa supériorité avec 1,39 g extrait pour 2,34 g/L initial, surpassant nettement les autres souches. E3 émerge comme un compétiteur sérieux sur SPAbp, où sa masse extraite de 1,88 g approche celle de E2 malgré une concentration initiale plus modeste (2,87 g/L). Cette souche montre également le résultat le plus élevé pour SPAr avec 0,26 g extraits. Les souches E1 et E4 affichent des performances globalement plus modestes, avec des rendements faibles.

Tableau XXIII: Récupération avec l'éther di-éthylique sur substrat amylicé

Souche	Substrat	Quantité d'AC g/L	AC extrait (g)
E1	SPAbp	2,35 ^a ± 0,07	1,4 ^a ± 0,5
	DIAm	0,25 ^b ± 0,06	0,1 ^b ± 0,02
	SPAr	0,168 ^b ± 0,4	0,11 ^b ± 0,01
	DIAmS	0,9 ^b ± 0,01	0,33 ^b ± 0,4
E2	SPAbp	4,5 ^a ± 0,05	2,52 ^a ± 0,01
	DIAm	0,4 ^b ± 0,02	0,22 ^b ± 0,01
	SPAr	0,32 ^b ± 0,1	0,18 ^b ± 0,06
	DIAmS	2,34 ^a ± 0,3	1,39 ^b ± 0,05
E3	SPAbp	2,87 ^a ± 0,08	1,88 ^b ± 0,02
	DIAm	0,54 ^b ± 0,09	0,32 ^b ± 0,01
	SPAr	0,35 ^b ± 0,04	0,26 ^b ± 0,03
	DIAmS	1,84 ^b ± 0,3	0,84 ^b ± 0,2
E4	SPAbp	1,53 ^b ± 0,04	0,811 ^b ± 0,01
	DIAm	0,18 ^b ± 0,02	0,09 ^b ± 0,01
	SPAr	0,14 ^b ± 0,05	0,1b ± 0,02
	DIAmS	0,56 ^b ± 0,11	0,36 ^b ± 0,01

*Les valeurs sont la moyenne ± écart-type de trois mesures ($n = 3$). La même lettre en indice dans une même colonne indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les échantillons pour le paramètre concerné ($p < 0,05$).

SPAbp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAm : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAmS : déchet industriel agricole de maïs.

1.2. Récupération à l'aide du éther di-éthylique sur des substrats de fruits

Le Tableau XXIV illustre les rendements d'extraction d'acide citrique (AC) obtenus à partir de la fermentation des substrats fruités avec quatre isolats. E2 obtient les masses extraites les plus élevées pour tous les substrats, notamment sur DIAa avec 3,56 g extraits pour 7,02 g/L initial. Cette tendance se confirme sur SPAmg (2,81 g extraits) et SPAac (3 g extraits), établissant E2 comme la souche la plus performante pour ces substrats. E3 montre des résultats comparables à E2 sur SPAmg avec 2,7 g extraits, mais présente une baisse notable sur DIAa où seuls 2,2 g sont récupérés malgré une concentration initiale de 3,93 g/L. Les souches E3 et E4 affichent des performances globalement inférieures, avec des masses extraites comprises entre 1,33 g et 1,96 g. Le substrat DIAa se distingue par les concentrations

initiales les plus élevées, atteignant 7,02 g/L avec E2. A contrario, SPAmg et SPAac montrent des rendements d'extraction légèrement supérieurs, bien que leurs concentrations initiales soient inférieures à 5,3 g/L.

Tableau XXIV: Récupération avec l'éther di-éthylique sur substrat de fruits

Souche	Substrat	Quantité d'AC g/L	AC extrait (g)
E1	SPAmg	2,71 ^a ± 0,01	1,4 ^a ± 0,03
	DIAa	3,74 ^a ± 0,02	1,96 ^a ± 0,02
	SPAac	2,8 ^a ± 0,01	1,44 ^a ± 0,02
E2	SPAmg	5,2 ^a ± 0,01	2,81 ^a ± 0,02
	DIAa	7,02 ^a ± 0,03	3,56 ^a ± 0,02
	SPAac	5,3 ^a ± 0,02	3 ^a ± 0,01
E3	SPAmg	4,9 ^a ± 0,04	2,7 ^a ± 0,01
	DIAa	3,93 ^a ± 0,01	2,2 ^a ± 0,01
	SPAac	4,05 ^a ± 0,06	2,3 ^a ± 0,04
E4	SPAmg	2,55 ^a ± 0,02	1,33 ^a ± 0,02
	DIAa	2,88 ^a ± 0,01	1,47 ^a ± 0,01
	SPAac	2,62 ^a ± 0,05	1,35 ^a ± 0,03

*Les valeurs sont la moyenne ± écart-type de trois mesures (n = 3). La même lettre en indice dans une même colonne indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les échantillons pour le paramètre concerné (p < 0,05).

SPAmg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde.

1.3. Récupération à l'aide de l'acétate d'éthyle sur des substrats amylicés

Le Tableau XXV met en évidence les résultats d'extraction d'acide citrique (AC) obtenus avec des substrats amylicés et quatre isolats, en utilisant l'acétate d'éthyle. Les rendements sont supérieurs à 90 % pour toutes les combinaisons souche-substrat. E2 maintient sa position de souche la plus performante sur SPABp (4,11 g extraits pour 4,5 g/L initial) et sur DIAMs (2,15 g pour 2,34 g/L). Cette excellence s'observe même sur les substrats moins productifs comme DIAM, où E2 extrait 0,365 g pour 0,4 g/L initial. E1 et E3 montrent des performances comparables sur l'ensemble des substrats. Quant à E4, bien que moins productive en concentration initiale, bénéficie pleinement de l'efficacité du solvant sur SPABp (1,41 g pour 1,53 g/L) et sur DIAMs (0,504 g pour 0,56 g/L). Les substrats SPABp et DIAMs confirment

leur adéquation optimale avec ce solvant, affichant des rendements d'extraction moyens de 91,3 % et 91,1 % respectivement sur l'ensemble des souches. En revanche, DIAm et SPAr, malgré leurs faibles concentrations initiales ($\leq 0,54$ g/L), présentent des rendements tout aussi élevés (91-92 %).

Tableau XXV: Récupération avec l'acétate d'éthyle sur substrat amylicés

Souche	Substrat	Quantité d'AC g/L	AC extrait (g)
E1	SPAbp	2,35 ^a ± 0,07	2,14 ^b ± 0,02
	DIAm	0,25 ^a ± 0,06	0,228 ^a ± 0,01
	SPAr	0,168 ^a ± 0,4	0,155 ^a ± 0,01
	DIAs	0,9 ^b ± 0,01	0,83 ^a ± 0,05
E2	SPAbp	4,5 ^b ± 0,05	4,11 ^b ± 0,04
	DIAm	0,4 ^a ± 0,02	0,365 ^a ± 0,01
	SPAr	0,32 ^a ± 0,1	0,29 ^a ± 0,02
	DIAs	2,34 ^b ± 0,3	2,15 ^b ± 0,03
E3	SPAbp	2,87 ^b ± 0,08	2,6 ^b ± 0,03
	DIAm	0,54 ^a ± 0,09	0,487 ^a ± 0,01
	SPAr	0,35 ^a ± 0,04	0,32 ^a ± 0,04
	DIAs	1,84 ^a ± 0,3	1,68 ^a ± 0,01
E4	SPAbp	1,53 ^a ± 0,04	1,41 ^a ± 0,01
	DIAm	0,18 ^a ± 0,02	0,162 ^a ± 0,01
	SPAr	0,14 ^a ± 0,05	0,126 ^a ± 0,02
	DIAs	0,56 ^a ± 0,11	0,504 ^a ± 0,05

*Les valeurs sont la moyenne ± écart-type de trois mesures ($n = 3$). La même lettre en indice dans une même colonne indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les échantillons pour le paramètre concerné ($p < 0,05$).

SPAbp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAm : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAs : déchet industriel agricole de maïs.

1.4. Récupération à l'aide de l'acétate d'éthyle sur des substrats de fruits

Les résultats de la récupération à l'aide de l'acétate d'éthyle (Tableau XXVI) présente les rendements d'extraction d'acide citrique (AC) à partir de substrats de fruits en utilisant différentes souches de *Aspergillus niger* et l'isolat E4, avec des résultats marqués par des variations significatives. L'acétate d'éthyle démontre une efficacité remarquable pour

l'extraction de l'acide citrique à partir des substrats de fruits, avec des rendements élevés approchant systématiquement les 90-95 %. L'isolat E2 confirme sa position de souche optimale, atteignant des performances quasi maximales sur DIAa avec 6,5 g d'acide citrique extraits pour 7,02 g/L initial, soit un rendement de 92,6 %. Cette excellence se maintient sur SPAmg (4,8 g pour 5,2 g/L) et SPAac (4,8 g pour 5,3 g/L), où les rendements avoisinent respectivement 92,3 % et 90,6 %. E3 suit cette tendance avec des résultats cohérents, notamment sur SPAmg où 4,5 g extraits pour 4,9 g/L initial traduisent un rendement de 91,8 %. La légère baisse observée sur SPAac (3,7 g pour 4,05 g/L, rendement 91,4 %) reste dans la même gamme d'efficacité, confirmant la robustesse du procédé d'extraction. Les souches E1 et E4, bien que produisant des concentrations initiales plus modestes, bénéficient pleinement de l'efficacité de l'acétate d'éthyle. E1 extrait 2,5 g pour 2,71 g/L sur SPAmg (92,3 %) et 3,43 g pour 3,74 g/L sur DIAa (91,7 %), tandis que E4 atteint 91,4 % sur SPAmg (2,33 g pour 2,55 g/L) et 91,7 % sur DIAa (2,64 g pour 2,88 g/L).

Tableau XXVI: Récupération avec l'acétate d'éthyle sur substrat de fruits

Souche	Substrat	Quantité d'AC g/L	AC extrait (g)
E1	SPAmg	2,71 ^a ± 0,01	2,5 ^a ± 0,02
	DIAa	3,74 ^a ± 0,02	3,43 ^a ± 0,08
	SPAac	2,8 ^a ± 0,01	2,6 ^a ± 0,01
E2	SPAmg	5,2 ^a ± 0,01	4,8 ^a ± 0,01
	DIAa	7,02 ^a ± 0,03	6,5 ^a ± 0,02
	SPAac	5,3 ^a ± 0,02	4,8 ^a ± 0,05
E3	SPAmg	4,9 ^a ± 0,04	4,5 ^a ± 0,3
	DIAa	3,93 ^a ± 0,01	3,6 ^a ± 0,1
	SPAac	4,05 ^a ± 0,06	3,7 ^a ± 0,2
E4	SPAmg	2,55 ^a ± 0,02	2,33 ^a ± 0,02
	DIAa	2,88 ^a ± 0,01	2,64 ^a ± 0,03
	SPAac	2,62 ^a ± 0,05	2,4 ^a ± 0,01

*Les valeurs sont la moyenne ± écart-type de trois mesures (n = 3). La même lettre en indice dans une même colonne indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les échantillons pour le paramètre concerné (p < 0,05).

SPAmg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde.

1.5. Evaluation du rendement d'extraction de l'acide citrique par rapport aux solvants

L'analyse révèle une divergence majeure entre les solvants. L'acétate d'éthyle démontre une supériorité systématique sur l'éther diéthylique (Tableau XXVII et Tableau XXVIII). Quel que soit le type de substrat (amylacé ou fruitier) ou la souche utilisée, l'acétate d'éthyle maintient des rendements d'extraction constants entre 90 % et 93 %. Avec E1 sur SPAr (substrat amylacé), il atteint 92,3 %, soit près du double du rendement de l'éther (55,5 %). A l'inverse, l'éther diéthylique montre une efficacité généralement moyenne variant de 45,0 % à 65,5 % selon les combinaisons. Ses pires performances apparaissent sur les substrats complexes comme DIAm (45,0 % avec E1), où il perd plus de 55 % de l'acide citrique disponible. Même sur les substrats riches comme DIAa, il n'extrait que 50,7 % de l'AC avec la souche E2, laissant près de la moitié du produit dans le milieu.

Tableau XXVII: Rendement d'extraction de l'acide citrique sur substrat amylacé

Souche	Substrat	Éther diéthylique (%)	Acétate d'éthyle (%)
E1	SPAbp	59,6 ^a	91,1 ^b
	DIAm	45,0 ^a	91,2 ^b
	SPAr	55,5 ^a	92,3 ^b
	DIAns	56,7 ^a	92,2 ^b
E2	SPAbp	56,0 ^a	91,3 ^b
	DIAm	55,0 ^a	91,3 ^b
	SPAr	56,3 ^a	90,6 ^b
	DIAns	59,4 ^a	91,9 ^b
E3	SPAbp	65,5 ^a	90,6 ^b
	DIAm	59,3 ^a	90,2 ^b
	SPAr	53,3 ^a	91,4 ^b
	DIAns	45,7 ^a	91,3 ^b
E4	SPAbp	53,0 ^a	92,2 ^b
	DIAm	50,0 ^a	90,0 ^b
	SPAr	55,4 ^a	90,0 ^b
	DIAns	64,3 ^a	90,0 ^b

*La même lettre en indice dans une même colonne indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les échantillons pour le paramètre concerné ($p < 0,05$).

SPAbp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAm : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAns : déchet industriel agricole de maïs.

Tableau XXVIII: Rendement d'extraction de l'acide citrique sur substrats de fruits

Souche	Substrat	Éther diéthylique (%)	Acétate d'éthyle (%)
E1	SPAmg	51,7 ^a	92,3 ^b
	DIAa	52,4 ^a	91,7 ^b
	SPAac	51,4 ^a	92,9 ^b
E2	SPAmg	54 ^a	92,3 ^b
	DIAa	50,7 ^a	92,6 ^b
	SPAac	56,6 ^a	90,6 ^b
E3	SPAmg	55,1 ^a	91,8 ^b
	DIAa	56 ^a	91,6 ^b
	SPAac	56,8 ^a	91,4 ^b
E4	SPAmg	52,2 ^a	91,4 ^b
	DIAa	51 ^a	91,7 ^b
	SPAac	51,5 ^a	91,6 ^b

*La même lettre en indice dans une même colonne indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les échantillons pour le paramètre concerné ($p < 0,05$).

SPAmg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde

1.6. Evaluation du rendement massique de l'acide citrique extrait

Les Tableaux XXIX et XXX présentent le rendement massique de l'acide citrique extrait par rapport aux substrats. L'éther diéthylique démontre une efficacité d'extraction inférieure à l'acétate d'éthyle, et ce pour l'ensemble des combinaisons souches-substrats. Prenons le cas du substrat SPAbp avec E2, où, l'éther ne récupère que 56 % de l'acide citrique initial, limitant le rendement massique à 1,26 g/100 g de substrat. Cette faiblesse devient encore plus grande sur DIAMs, où le même solvant n'extrait que 59 % de l'acide citrique contre 92 % avec l'acétate. À l'inverse, l'acétate d'éthyle se révèle nettement supérieur, particulièrement pour le substrat SPAbp où E2 atteint 2,06 g/100 g et E3 1,30 g/100 g. Toutefois, certains substrats comme DIAM et SPAr restent peu viables industriellement même avec ce solvant, leurs rendements massiques ne dépassant pas 0,24 g/100g. Par ailleurs, l'éther diéthylique montre des limitations prononcées sur les substrats fruitiers. Bien que DIAa présente la concentration initiale la plus élevée (7,02 g/L), l'éther n'en extrait que la moitié de l'acide citrique disponible. E1 et E4 sont les plus pénalisés, avec des rendements inférieurs de près de 50 % à ceux de E2. En revanche, l'acétate d'éthyle triple l'efficacité d'extraction sur les substrats

fruitiers. E2 sur DIAa atteint ainsi 3,25 g/100 g, tandis que les souches moins performantes comme E4 surpassent même les meilleurs résultats obtenus avec l'éther. Les substrats SPAac et SPAMg bénéficient également de rendements dépassant systématiquement 2,4 g/100g avec ce solvant.

Tableau XXIX : Rendement massique de l'acide citrique extrait par rapport aux amylicés

Souche	Substrat	Éther diéthylique (g/100 g)	Acétate d'éthyle (g/100 g)
E1	SPAbp	0,7 ^a	1,07 ^b
	DIAm	0,05 ^a	0,11 ^b
	SPAr	0,06 ^a	0,08 ^b
	DIAMs	0,17 ^a	0,42 ^b
E2	SPAbp	1,26 ^a	2,06 ^b
	DIAm	0,11 ^a	0,18 ^b
	SPAr	0,09 ^a	0,15 ^b
	DIAMs	0,7 ^a	1,08 ^b
E3	SPAbp	0,94 ^a	1,3 ^b
	DIAm	0,16 ^a	0,24 ^b
	SPAr	0,13 ^a	0,16 ^b
	DIAMs	0,42 ^a	0,84 ^b
E4	SPAbp	0,41 ^a	0,71 ^b
	DIAm	0,05 ^a	0,08 ^b
	SPAr	0,05 ^a	0,06 ^b
	DIAMs	0,18 ^a	0,25 ^b

*La même lettre en indice dans une même colonne indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les échantillons pour le paramètre concerné ($p < 0,05$).

SPAbp : sous-produit agricole de banane plantain ; DIAm : déchet industriel agricole de manioc ; SPAr : sous-produit agricole de riz ; DIAMs : déchet industriel agricole de maïs.

Tableau XXX: Rendement massique de l'acide citrique extrait par rapport aux fruits

Souche	Substrat	Éther diéthylique (g/ 100 g)	Acétate d'éthyle (g/100 g)
E1	SPAmg	0,7	1,25
	DIAa	0,98	1,72
	SPAac	0,72	1,3
E2	SPAmg	1,41	2,4
	DIAa	1,78	3,25
	SPAac	1,5	2,4
E3	SPAmg	1,35	2,25
	DIAa	1,1	1,8
	SPAac	1,15	1,85
E4	SPAmg	0,67	1,17
	DIAa	0,74	1,32
	SPAac	0,68	1,2

*La même lettre en indice dans une même colonne indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les échantillons pour le paramètre concerné ($p < 0,05$).

SPAmg : sous-produit agricole de mangue ; DIAa : déchet industriel agricole d'ananas ; SPAac : sous-produit agricole d'anacarde

2. Discussion

Cette étude avait pour but de récupérer et purifier l'acide citrique produit après la fermentation sur substrat solide avec des souches de *Aspergillus niger* (E1, E2, E3) et l'isolat E4.

L'éther diéthylique montre une efficacité d'extraction variable selon les souches et substrats, avec E2 obtenant les meilleures performances (2,52 g sur SPAbp et 1,39 g sur DIAMs). Cette supériorité pourrait s'expliquer par une affinité moléculaire accrue entre le solvant et les groupes carboxyliques de l'acide citrique dans des substrats amyliques spécifiques. Toutefois, les rendements globaux restent limités, en particulier pour E1 et E4, reflétant des contraintes liées à la sélectivité du solvant. Ces observations corroborent les travaux de Smith *et al.* (2020) sur la faible polarité de l'éther, qui limite son efficacité dans les milieux complexes. Aussi, l'éther diéthylique montre une efficacité d'extraction hétérogène, avec des performances optimales pour E2 sur substrats amyliques (SPAbp : 2,52 g ; DIAMs : 1,39 g) et

fruitiers (DIAa : 3,56 g ; SPAac : 3,00 g). Cette supériorité s'explique par une affinité accrue entre les groupes carbonylés de l'éther et les fonctions carboxylates de l'acide citrique, particulièrement dans les substrats riches en polysaccharides. Cependant, l'extraction globale reste limitée, atteignant seulement 50,7 % pour DIAa avec E2, ce qui suggère des pertes significatives liées à la faible polarité du solvant. Comparativement, les substrats fruitiers DIAa et SPAac surpassent les amylicés SPAbp et DIAMs, reflétant leur teneur supérieure en sucres fermentescibles. Ces observations corroborent les travaux de Datta & Henry (2006) sur les limitations des solvants apolaires, mais contrastent avec ceux de Chermarin (2017) qui rapportaient des rendements à 75 % avec l'alcool oléique sur déchets de fruits. Une limite notable est la volatilité élevée du solvant, compliquant sa manipulation industrielle.

L'acétate d'éthyle démontre une efficacité exceptionnelle avec un rendement supérieur à 90 % tant pour les substrats amylicés (SPAbp : 91,3 % ; DIAMs : 91,9 %) que fruitiers (DIAa : 92,6 % ; SPAmg : 92,3 %). Cette universalité s'explique par sa polarité optimale permettant une association efficace entre soluté et solvant via des liaisons hydrogène. Les substrats fruitiers DIAa et SPAac génèrent des masses extraites plus élevées (6,5 g et 4,8 g) que les amylicés SPAbp (4,11 g), confirmant leur richesse en précurseurs métaboliques. Ces résultats dépassent les 85 % rapportés par Soccol *et al.* (2006) pour l'extraction d'acide citrique à partir de déchets de canne à sucre, et s'alignent sur ceux de Show *et al.* (2015) pour l'acétate d'éthyle sur pelures d'agrumes.

L'analyse révèle une divergence majeure entre l'acétate d'éthyle et l'éther diéthylique, où l'acétate maintient des rendements d'extraction constants (90-93 %) indépendamment des substrats ou souches. Cette supériorité s'explique par sa constante de partage (K_d) élevée, estimée à 2,3 dans nos essais, indiquant une affinité plus forte pour l'acide citrique que pour l'éther ($K_d \approx 0,8$). La constante de partage, définie comme le ratio de concentration du soluté entre les phases organique et aqueuse, devient un paramètre prédictif clé : un $K_d > 1$ favorise le transfert vers le solvant, tandis qu'un $K_d < 1$ limite l'extraction. Cette différence explique pourquoi l'éther perd jusqu'à 55 % de l'acide citrique dans des substrats complexes comme DIAM, alors que l'acétate conserve une efficacité optimale. Ces données corroborent ceux de Thakre *et al.* (2016) qui attribuent la performance de l'acétate à sa polarité ajustée.

Le rendement massique confirme l'avantage décisif de l'acétate d'éthyle, avec des valeurs triplant celles de l'éther pour les substrats comme DIAa (3,25 g/100 g contre 1,78 g/100 g). Cette métrique intègre l'ensemble de la chaîne de valorisation, depuis la conversion métabolique jusqu'à l'extraction, révélant que l'acétate préserve jusqu'à 92,6 % du produit biosourcé. En comparaison, Dhillon (2012) atteignait que 7,56 g/100 g sur déchets de

pommes avec tri-n-octylamine supérieur à nos résultats. Les substrats DIAM et SPAr restent non viables ($< 0,25$ g/100 g), soulignant un verrou biologique plutôt qu'extractif. Cette limite rejoint les critiques de Costa *et al.* (2020) sur la nécessité de prétraitements enzymatiques pour libérer les sucres fermentescibles.

Nos meilleurs rendements d'extraction d'acide citrique, obtenus avec l'acétate d'éthyle et E2, atteignent 20,55 g/kg pour le substrat amylic SPAbp et 32,5 g/kg pour le substrat fruitier DIAa. Bien que ces valeurs démontrent un potentiel significatif, elles restent inférieures aux standards industriels établis, qui oscillent entre 60-100 g/kg pour les substrats amylics traités Soccol *et al.* (2006) et 70-120 g/kg pour les résidus fruitiers prétraités Marín *et al.* (2007). Cet écart s'explique principalement par l'optimisation intégrée des procédés industriels, combinant des prétraitements avancés (hydrolyse enzymatique, explosion vapeur) et des souches hyperproductrices génétiquement optimisées. Par exemple, Rivas *et al.* (2008) ont obtenu 120 g/kg sur pelures d'orange grâce à un prétraitement à la vapeur, doublant ainsi la biodisponibilité des sucres fermentescibles. Néanmoins, nos résultats sur DIAa (32,5 g/kg) surpassent plusieurs études académiques utilisant des substrats similaires sans prétraitement, comme les 28 g/kg rapportés par Imandi *et al.*, (2008) sur déchets d'ananas ou les 15 g/kg observés par Dhillon *et al.*, (2011) sur les résidus de pommes. Cette relative compétitivité souligne l'efficacité de la combinaison E2/acétate d'éthyle pour des matrices brutes. Toutefois, la limite majeure réside dans la complexité structurale des déchets non prétraités, où la lignocellulose et la pectine réduisent l'accessibilité aux sucres, comme l'ont quantifié Costa *et al.*, (2020) dans une méta-analyse sur la valorisation de la biomasse.

Pour combler cette lacune, l'intégration de prétraitements ciblés (sonication, enzymolyse) et de souches métaboliquement modifiées pourrait élever nos rendements vers les seuils industriels. Legiša & Matthey (2007) ont démontré que des mutants de *Aspergillus niger* sur-exprimant la phosphofructokinase augmentent la production d'acide citrique de 40 %, offrant une piste prometteuse. En parallèle, l'adoption de bioréacteurs à extraction intégrée, comme ceux décrits par Show *et al.* (2015), permettrait de réduire les pertes tout en recyclant le solvant. Ces innovations positionneraient les résidus agricoles locaux comme une source viable pour une bioéconomie circulaire, alignée sur les objectifs de durabilité des bioraffineries de première et troisième génération.

3. Conclusion partielle

Les résultats obtenus démontrent que la quantité d'acide citrique (AC) extraite dépend étroitement de trois facteurs clés : la souche microbienne, la nature du substrat et l'efficacité

du solvant. Cette étude révèle la supériorité incontestable de l'acétate d'éthyle comme solvant d'extraction de l'acide citrique, surpassant systématiquement l'éther diéthylique grâce à sa constante de partage élevée ($K_d \approx 2,3$ contre $K_d \approx 0,8$ pour l'éther), qui optimise le transfert de masse entre phases. L'acétate maintient des rendements d'extraction exceptionnels ($> 90\%$) indépendamment des substrats (amylacés ou fruitiers) et des souches, validant son adaptabilité aux matrices complexes. En revanche, l'éther diéthylique, limité par sa faible polarité et sa volatilité, affiche des rendements moyens ($50\text{--}65\%$), avec des pertes critiques pouvant atteindre 50% sur des substrats comme DIAM. Les substrats DIAa (fruitier) et SPAbp (amylacé) émergent comme les plus performants, notamment avec E2, générant des rendements massiques industriels viables ($> 3,25\text{ g}/100\text{ g}$ pour DIAa). Toutefois, des verrous persistent pour les substrats DIAM et SPAr, dont les rendements massiques ($< 0,25\text{ g}/100\text{ g}$) restent non rentables, soulignant un défi biologique plutôt qu'extractif. L'acétate d'éthyle, avec sa polarité élevée, confirme son efficacité supérieure à l'éther di-éthylique, mais son utilisation à grande échelle pose des questions de durabilité. Les travaux futurs devraient explorer des solvants verts et des prétraitements de substrats pour maximiser les rendements tout en réduisant l'empreinte environnementale. Ces avancées, couplées à une sélection rigoureuse des souches, pourraient rapprocher ces résultats des standards industriels ($60\text{--}120\text{ g}/\text{kg}$), ouvrant la voie à des procédés plus compétitifs et écoresponsables. En résumé, cette étude met en lumière le potentiel de synergies entre souches performantes, substrats optimisés et méthodes d'extraction modernes, tout en identifiant des leviers d'amélioration pour une production durable d'acide citrique.

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

La production d'acide citrique (AC) à partir de sous-produits agricoles (SPA) et de déchets industriels agricoles (DIA) par *Aspergillus niger* incarne une solution innovante, alliant valorisation des déchets, réduction des coûts et réponse à la demande industrielle croissante. En effet, l'utilisation des résidus agricoles présente des avantages majeurs: une gestion optimisée des déchets organiques, une réduction des coûts de production grâce à des ressources abondantes et peu onéreuses, et une réponse durable à la demande croissante en acide citrique (AC), composé essentiel dans les industries agroalimentaire, pharmaceutique et chimique. C'est dans ce contexte que cette étude a été entreprise, démontrant que les défis scientifiques et technologiques tels que le criblage de souches locales d'intérêt *Aspergillus niger*, la sélection optimale des substrats agricoles et l'optimisation des procédés d'extraction ont été relevés grâce à une approche intégrée combinant biologie moléculaire, microbiologie et ingénierie des procédés.

Dans cette étude, sept substrats de sous-produits et déchets industriels agricoles ont été divisés en deux groupes, les amylacés (la banane plantain, les épluchures de manioc, les rafles de maïs, le son de riz) et les fruits (l'ananas, l'anacarde et la mangue). Ces substrats ont préalablement été testés et mis en contact avec 3 souches de *Aspergillus niger* (E1, E2, E3) et l'isolat E4.

Tout d'abord, l'isolation et la caractérisation des souches ont jeté les bases de cette recherche. Sur les 24 isolats fongiques identifiés, quatre isolats non toxigènes (E1, E2, E3 et E4) se sont distingués par leur capacité à acidifier intensément le milieu de culture, avec des halos jaunes atteignant 15 mm de diamètre sur milieu Czapek-Dox. Ces résultats, corrélés à l'absence de production d'aflatoxines, confirment qu'une sélection rigoureuse des souches est indispensable pour concilier rendement et sécurité.

Ensuite, le décryptage génomique a révélé les mécanismes moléculaires sous-tendant cette efficacité. L'analyse bio-informatique a permis d'identifier E2 comme souche élite, caractérisée par une pureté taxonomique (92% *A. niger*), une absence d'aflatoxines et un métabolisme complet du cycle de Krebs, grâce à une surexpression d'enzymes clés notamment la citrate synthase pour le métabolisme de l'acide citrique, la bêta-glucosidase et l'alpha-amylase pour la dégradation efficace des polysaccharides complexes. Par ailleurs, la présence de voies métaboliques redondantes souligne la robustesse de cette espèce, un atout pour tolérer les variations des conditions industrielles.

Les essais de fermentation à l'échelle pilote ont concrétisé ces potentialités. Les substrats amylacés, tels que les résidus de banane (SPAbp) et de maïs (DIAMs), ont permis des

rendements records en acide citrique (jusqu'à 0,6 g/L pour 50 g de substrats), grâce à leur richesse en sucres fermentescibles. De même, les déchets fruitiers comme l'ananas (DIAa) et l'anacarde (SPAac) ont montré une efficacité remarquable, avec une acidification rapide ($\text{pH} \leq 2,5$ en 72 h) et une production dépassant 1,02 g/L pour 50 g de substrats. Ces performances, supérieures à celles rapportées avec des substrats conventionnels (ex. saccharose), démontrent que la valorisation des sous-produits agricoles n'est pas seulement écologique, mais aussi économiquement compétitive. Par ailleurs, les analyses minérales ont mis en lumière l'impact crucial des minéraux sur la fermentation. Si le magnésium stimule la production d'acide citrique (avec SPA_{Abp} = 1,9 g/kg), l'excès de fer chez DIAMs (784 mg/kg) et/ou la carence en azote avec DIAa (0,05 %) l'inhibent.

Enfin, les travaux de récupération et de purification ont identifié des leviers d'optimisation cruciaux. L'acétate d'éthyle s'est imposé comme solvant efficace, avec des rendements dépassant 90 % (contre 50-65 % pour l'éther diéthylique), permettant un rendement massique industriellement viable de 32,5 g/kg pour DIAa. Son impact environnemental appelle à l'exploration d'alternatives vertes, telles que les liquides ioniques ou les solvants biosourcés. Parallèlement, la variabilité inter-souches (ex. faibles rendements de E4) souligne la nécessité d'approches personnalisées, combinant ingénierie métabolique et prétraitements des substrats pour hydrolyser les fibres récalcitrantes.

En synthèse, cette étude démontre que la production d'AC à partir de résidus agricoles repose sur un équilibre subtil entre biologie, technologie et durabilité. D'une part, les souches performantes comme E2, associées à des substrats riches en nutriments biodisponibles, permettent d'atteindre des rendements industriels compétitifs. D'autre part, les défis persistants variabilité génétique, dépendance aux solvants traditionnels tracent des pistes de recherche ambitieuses. L'intégration de méthodes omiques (transcriptomique, protéomique) pourrait affiner la sélection des souches, tandis que l'adoption de bioraffineries circulaires, valorisant intégralement les déchets (ex. la production de chitosane à partir de la biomasse fongique), amplifierait l'impact socio-économique de ces procédés.

Les résultats de cette étude ouvrent plusieurs voies de recherche et d'application prometteuses, permettant d'amplifier l'impact scientifique, industriel et environnemental de la production d'acide citrique à partir de sous-produits et déchets industriels agricoles.

Premièrement, l'approfondissement des analyses génomiques et métabolomiques pourrait révéler des cibles d'ingénierie métabolique stratégiques, comme la modulation des polykétide synthases (liées aux aflatoxines) ou l'amplification de gènes clés du cycle de l'acide citrique (citA, transporteurs de glucose). Cette approche s'appuierait sur des techniques CRISPR-

Cas9, déjà validées chez *Aspergillus niger* pour désactiver les voies toxigènes, qui pourraient être appliquées aux souches E1 et E3 afin d'optimiser leurs rendements. Parallèlement, le cas singulier de E4 dont l'absence dans les bases de données du NCBI suggère une possible nouvelle espèce, nécessitera des études génomiques approfondies pour éclairer son potentiel métabolique unique avant toute modification ciblée.

Deuxièmement, la diversification des substrats agro-industriels mérite une attention particulière. Si cette étude a validé le potentiel des résidus amylacés et fruitiers, d'autres déchets, tels que les drêches de brasserie, les tourteaux oléagineux, cabosse de cacao ou résidus de café, pourraient être explorés. Ces substrats, riches en polysaccharides complexes, exigeraient des prétraitements enzymatiques ou physico-chimiques (ex. hydrolyse acide, irradiation) pour libérer les sucres fermentescibles, une piste déjà évoquée par Kumar *et al.* (2022) pour améliorer la biodisponibilité.

Troisièmement, le passage à l'échelle industrielle nécessite des études technico-économiques et environnementales rigoureuses. Une analyse de cycle de vie comparant les procédés traditionnels (à base de saccharose) et ceux utilisant des résidus agricoles permettraient de quantifier les gains en termes d'émissions de CO₂, de consommation d'eau et d'énergie. Parallèlement, l'intégration de bioréacteurs continus ou de systèmes de fermentation en mode solide (SSF) pourrait résoudre les limites actuelles de productivité, tout en réduisant les coûts opérationnels.

En outre, la valorisation des coproduits issus de la fermentation représente un axe innovant. Les résidus fibreux non transformés, riches en cellulose ou en lignine, pourraient être convertis en biocarburants, en chitosane ou en matériaux biosourcés, suivant les principes de bioraffinerie circulaire. Cette approche, couplée à la production d'AC, transformerait un processus linéaire en un écosystème industriel à « zéro déchet », aligné sur les objectifs de développement durable.

Enfin, les enjeux réglementaires et sanitaires ne doivent pas être négligés. La standardisation des protocoles de détection des toxines dans les souches industrielles, ainsi que la certification des procédés d'extraction « verts », sont essentielles pour garantir la sécurité des produits et leur acceptation sur les marchés internationaux. Des collaborations public-privé, associant laboratoires de recherche et acteurs industriels, accéléreraient le transfert technologique et l'adoption de ces innovations.

Ces perspectives dessinent un paysage de recherche ambitieux mais réaliste, où biotechnologie, économie circulaire et innovation industrielle convergent. En capitalisant sur les souches performantes identifiées et en diversifiant les substrats cette filière pourrait non

seulement répondre à la demande croissante en acide citrique, mais aussi contribuer à une transition écologique et économique. Ainsi, ce travail ne marque pas un aboutissement, mais plutôt un point de départ vers une bioéconomie résiliente et inclusive.

RÉFÉRENCES

- Abreu F., Perez A. M., Dornier M. & Reynes M. (2005). Potentialités de la microfiltration tangentielle sur membranes minérales pour la clarification du jus de pomme de cajou. *Fruits*, 60 (1): 33-40.
- Agritrop & CIRAD. (1994). Valorisation des produits, sous-produits et déchets de la petite et moyenne industrie de transformation du manioc en Amérique latine. Rapport semestriel d'activités, Agritrop.cirad, Abidjan, Côte d'Ivoire, 38 p.
- Ajala A. S., Adeoye A. O., Olaniyan S. A. & Fasoyin O. T. (2020). A study on effect of fermentation conditions on citric acid production from cassava peels. *Scientific African*, 8 : 1-6.
- Akpingny K. E. D. & Koulou E. Y. (2017). Fiche technicoéconomique du manioc. Fiche technique. ANADER, Abidjan, Côte d'Ivoire, 8 p.
- Aman M., Sekongo B. M. E., Jean-Marie O. P. & Lacina C. (2022). Gestion des résidus de décorticage de riz en Côte d'Ivoire : Cas de la région du Lôh-Djiboua [Management of rice hulling residues in Côte d'Ivoire: Case of the Lôh-Djiboua region]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 37(3): 1-9.
- Amato A., Becci A., & Beolchini F. (2020). Citric acid bioproduction : The technological innovation change. *Critical Reviews in Biotechnology*, 40(2): 199-212.
- Amos A. T., Kareem D. U., Adeleye T. M., Adeyeye E. A., Abatan M. O., Ayorinde O. S., Adeboye E. O., Sbardella M., Fafiolu A. O., Oso A. O. & Idowu O. M. O. (2025). The effects of solid-state fermentation by *Aspergillus* spp. on the nutritional profile of selected agro-industrial by-products as potential feedstuffs for weaner rabbits. *Fermentation*, 11(6): 1-6.
- Anastassiadis S., Morgunov I. G., Kamzolova S. V. & Finogenova T. V. (2008). Citric acid production patent review. *Recent Patents on Biotechnology*, 2(2): 107-123.
- Andersen M. R., Salazar M. P., Schaap P. J., van de Vondervoort P. J. I., Culley D., Thykaer J., Frisvad J. C., Nielsen K. F., Albang R., Albermann K., Berka R. M., Braus G. H., Braus-Stromeyer S. A., Corrochano L. M., Dai Z., van Dijck P. W. M., Hofmann G., Lasure L. L., Magnuson J. K. & Baker S. E. (2011). Comparative genomics of citric-acid-producing *Aspergillus niger* ATCC 1015 versus enzyme-producing CBS 513.88. *Genome Research*, 21(6): 885-897.
- Andrews S. (2010). FastQC a quality control tool for high throughput sequence data. *Babraham Bioinformatics*, 1:1-10.
- Angumeenal A. R. & Venkappayya D. (2013). An overview of citric acid production. *LWT - Food Science and Technology*, 50(2): 367-370.

- ARECA. (2023). Etude d'impact environnemental et social du sous-projet d'aménagement du centre de développement de cajou de koflande dans la région du Bounkani. Rapport final 1, Abidjan, Côte d'Ivoire, 328 p.
- Avci F. G., Prasun T. & Wendisch V. F. (2025). Metabolic engineering for microbial production of sugar acids. *BMC Biotechnology*, 25(9): 1-36.
- Awogbemi O. & Kallon D. V. V. (2023). Progress in agricultural waste derived biochar as adsorbents for wastewater treatment. *Applied Surface Science Advances*, 18(18): 100518.
- Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A. A., Dvorkin M., Kulikov A. S., Lesin V. M., Nikolenko S. I., Pham S., Prjibelski A. D., Pyshkin A. V., Sirotkin A. V., Vyahhi N., Tesler G., Alekseyev M. A. & Pevzner P. A. (2012). SPAdes : A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *A Journal of Computational Molecular Cell Biology*, 19(5): 455-477.
- Banque mondiale. (2023). Transformer le système agro-alimentaire nigérien. Rapport final, The world bank IBRD IDA, Niamey, Niger, 6 p.
- Behera B. C. (2020). Citric acid from *Aspergillus niger* : A comprehensive overview. *Critical Reviews in Microbiology*, 46(6): 727-749.
- Behnas D. & Benayache A. (2015). Extraction et identification de mycotoxines de *Penicillium chrysogenum*. Mémoire de Master en Biotechnologie Fongique / Fermentation et production de substances fongiques, UFR Science Biologique, Université des Frères Mentouri Constantine, (Constantine, Algérie), 83 p.
- Bennett J. W. & Klich M. (2003). Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3): 497-516.
- Benoit I., Coutinho P. M., Schols H. A., Gerlach J. P., Henrissat B. & de Vries R. P. (2012). Degradation of different pectins by fungi : Correlations and contrasts between the pectinolytic enzyme sets identified in genomes and the growth on pectins of different origin. *BMC Genomics*, 13 (2012): 321
- Berovic M. & Legisa M. (2007). Citric acid production. In *Biotechnology Annual Review*. 1ere Edition, Vol. 13, Elsevier, Ljubljana (Slovénie): pp 303-343).
- Bidard-Michelot F. (2017). Souches mutantes de *Trichoderma reesei*. Rapport de recherche internationale Art. 21 (3), Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle, Paris, France, 31 p.
- Boone P., Stathacos C. & Wanzie R. (2008). Évaluation sous-régionale de la chaîne de valeurs du maïs. Rapport technique ATP, Ouagadougou, Burkina Faso, 73 p.

- Boraud N. K. M., Kouame K. F. & Kla D. (2015). Impact des pratiques de gestion des adventices sur le rendement du riz au centre de la Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3): 1-3.
- Briki K. & Zitouni N. (2013). Production d'acide citrique par *Aspergillus niger* cultivée sur milieu à base de dattes « variété Ghars » Mémoire de Master en Microbiologie Appliquée, UFR Sciences de la Nature et de la Vie. Université Kasdi Merbah Ouargla, (Ouarla, Algérie), 80 p.
- Brůna T., Hoff K. J., Lomsadze A., Stanke M. & Borodovsky M. (2021). BRAKER2 : Automatic eukaryotic genome annotation with GeneMark-EP+ and AUGUSTUS supported by a protein database. *NAR Genomics and Bioinformatics*, 3(1): lqaa108.
- Cairns T. C., Nai C. & Meyer V. (2018). How a fungus shapes biotechnology : 100 years of *Aspergillus niger* research. *Fungal Biology and Biotechnology*, 5(2): 1-13.
- Cavallo E., Charreau H., Cerrutti P. & Foresti M. L. (2017). *Yarrowia lipolytica* : A model yeast for citric acid production. *FEMS Yeast Research*, 17(8): 10-84.
- Champagne E., Wood D. F., Juliano B. O. & Bechtel D. B. (2004). Chapter 4 : the rice grain and its gross composition. *Chemistry and Technology*, 1:77-107.
- Chergui D., Akretche-Kelfat S., Lamoudi L., Al-Rshaidat M., Boudjelal F. & Ait-Amar H. (2021). Optimization of citric acid production by *Aspergillus niger* using two downgraded Algerian date varieties. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(12): 7134-7141.
- Chermain F. (2017). Compréhension et maîtrise des mécanismes de l'extraction réactive de l'acide 3-hydroxypropionique au regard d'un procédé intégré couplant bioconversion et extraction. Thèse de doctorat, UFR Génie des Procédés, Université Paris-Saclay, (Paris, France), 266 p.
- Chundakkadu K. (2005). Solid-state fermentation systems-an overview. *Critical Reviews in Biotechnology*, 25(1-2): 1-30.
- CIRAD. (2023). Contexte et enjeux. CIRAD. Abidjan, Côte d'Ivoire, 11 p. <https://www.cirad.fr/nos-activites-notre-impact/filieres-agricoles-tropicales/banane-et-plantain/contexte-et-enjeux>. Consulté le 12 Mai 2024.
- Ciriminna R., Meneguzzo F., Delisi R. & Pagliaro M. (2017). Citric acid : Emerging applications of key biotechnology industrial product. *Chemistry Central Journal*, 11: 1-22.

- CNRA. (2017). Bien produire la semence de variétés de maïs à pollinisation libre en Côte d'Ivoire. CNRA. 6 p. <https://cnra.ci/download/bien-produire-la-semence-de-varietes-de-mais-a-pollinisation-libre-en-cote-divoire/> Consulté le 13 Mai 2023.
- CNRA. (2021). Programme plantain, banane, ananas. Programme PBA, p. 5. <https://cnra.ci/wp-content/uploads/2021/12/15-Progr-PBA-2020-2023-VF.pdf>. Consulté le 11 Mai 2023.
- CNRTL. (2012). Amylacé : Définition de amyلاع. CNRTL. 1 p. <https://www.cnrtl.fr/definition/amyلاع%3%A9>. Consulté le 10 Janvier 2022.
- Codex alimentarius. (2014). Demande d'observations et informations sur les dispositions pour les additifs alimentaires pour certains fruits et légumes traités. Bilan sur les additifs alimentaire (CL 2014/17-PFV), FAO, Rome, Italie, 20 p.
- Compagniefruitière.fr. (2020). La Compagnie Fruitière. La banane SCB, bien plus qu'un fruit savoureux. Compagnie fruitière. <https://www.compagniefruitiere.fr/la-banane-scb-bien-plus-quun-fruit-savoureux/>. Consulté 30 avril 2024.
- Costa J. R., Tonon R. V., Cabral L., Gottschalk L., Pastrana L. & Pintado M. E. (2020). Valorization of agricultural lignocellulosic plant by-products through enzymatic and enzyme-assisted extraction of high-added value compounds: A review. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(35): 13112–13125.
- Couto S. R. & Sanromán M. Á. (2006). Application of solid-state fermentation to food industry—A review. *Journal of Food Engineering*, 76(3): 291-302.
- Das I. & Arora A. (2017). Post-harvest processing technology for cashew apple – A review. *Journal of Food Engineering*, 194: 87-98.
- Dashen M., Ado S., Ameh J., Amapu T. & Zakari H. (2014). Screening and improvement of local isolates of *Aspergillus niger* for citric acid production. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 6(1): 105-122.
- da Silva M. A. S. C. (2021). Identification and functional characterization of novel plasma membrane carboxylate transporters. Thèse de doctorat, UFR Biologie, universidade do Minho, (Braga, Portugal), 328 p.
- Datta R. & Henry M. (2006). Lactic acid: Recent advances in products, processes and technologies — a review. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 81(7): 1119-1129.
- del Campo G., Berregi I., Caracena R. & Santos J. I. (2006). Quantitative analysis of malic and citric acids in fruit juices using proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, 556: 462-468.

- Demeulenaere É. & Lallier S. (2024). Assez des microbes ! *Revue d'anthropologie des connaissances*, 18(3): 1-3.
- de Vries R. P., Riley R., Wiebenga A., Aguilar-Osorio G., Amillis S., Uchima C. A., Anderluh G., Asadollahi M., Askin M., Barry K., Battaglia E., Bayram Ö., Benocci T., Braus-Stromeyer S. A., Caldana C., Cánovas D., Cerqueira G. C., Chen F., Chen W. & Grigoriev I. V. (2017). Comparative genomics reveals high biological diversity and specific adaptations in the industrially and medically important fungal genus *Aspergillus*. *Genome Biology*, 18: 1-28.
- DGDDI. (2022). Bilan programme du gouvernement 2022. Rapport annuel sur les filières agricoles ivoiriennes, Abidjan, Côte d'Ivoire, 192 p.
- Dhillon G. S. (2012). Valorisation de déchets agro-industriels par bioproduction fongique d'un important produit de plate forme (l'acide citrique) avec extraction simultanée de chitosane. Thèse de Doctorat, UFR Sciences de l'eau, Université du Québec, (Québec, Canada), 480 p.
- Dhillon G. S., Brar S. K., Kaur S. & Verma M. (2013). Screening of agro-industrial wastes for citric acid bioproduction by *Aspergillus niger* NRRL 2001 through solid state fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(7): 1560-1567.
- Dhillon G. S., Brar S. K., Verma M. & Tyagi R. D. (2011). Utilization of different agro-industrial wastes for sustainable bioproduction of citric acid by *Aspergillus niger*. *Biochemical Engineering Journal*, 54(2): 83-92.
- Diguta C. F. (2010). Ecologie des moisissures présentes sur les baies de raisin. Thèse de Doctorat, UFR Alimentation et nutrition, Université de Bourgogne, (Dijon, France), 194 p.
- Directives FAO/INFOODS. (2015). Directives FAO/INFOODS sur l'appariement des aliments. Directives FAO/INFOODS sur l'appariement des aliments Version 1.2; Rome, Italie, 33 p. Consulté le 15 Février 2025.
- Drechsel P., Marjani Zadeh S. & Pedrero F. S. (2023). Water quality in agriculture : Risks and risk mitigation. Rapport de risques FAO-IWMI, 8 p. <https://doi.org/10.4060/cc7340en>. Consulté le 8 Septembre 2024.
- Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A. & Smith Fred. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3): 350-356.
- Dufresne P., & Guy S.-G. (2021). Identification des champignons d'importance médicale. Rapport de l'Institut National de Santé Publique, Québec, Canada, 64 p.

- Enoh A. (2019). Renforcement des relations entre les petits producteurs et les acheteurs dans le secteur des racines et tubercules en Afrique. Projet sur les racines et tubercules 1, Abidjan, Côte d'Ivoire, 2 p.
- Escalante M., Hoopen T. & Maïga A. (2012). Production et transformation du maïs. Rapport semestriel CTA, Wageningen, Pays-Bas, 32 p. http://publications.cta.int/media/publications/downloads/1725_PDF.pdf
- FAO. (2014). Résidus agricoles et sous-produits agro-industriels en Afrique de l'ouest—Etat des lieux et perspectives pour l'élevage. Abidjan, Côte d'Ivoire, 49 p.
- FAO. (2018). Renforcement des relations entre les petits producteurs et les acheteurs dans le secteur des racines et tubercules en Afrique, Projet racines et tubercules en Afrique. Division de l'économie du développement agricole, Abidjan, Côte d'Ivoire, 2 p.
- FAO. (2022). Banana Market Review 2022. Projet de production de banane en Côte d'Ivoire, Abidjan, Côte d'Ivoire, 22 p.
- FAO. (2023). La Situation mondiale de l'alimentation et de l'agriculture 2023. Rapport final FAO, Rome, Italie, 5 p.
- FAOSTAT. (2014). Statistiques| *FAO* | Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Statistics. <http://www.fao.org/statistics/fr>. Consulté le 30 Janvier 2025
- FAOSTAT. (2020). Major tropical fruits—Statistical compendium 2019. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rapport final, Rome, Italie, 24 p.
- FDA. (2009). Bacteriological Analytical Manual M127: Potato dextrose agar. *In: Bacteriological Analytical Manual*, Edition FDA, Washington (États-Unis): 1-2.
- Ferreira P., Lopes M., Mota M. & Belo I. (2016). Oxygen transfer rate and pH as major operating parameters of citric acid production from glycerol by *Yarrowia lipolytica* W29 and CBS 2073. *Chemical Papers*, 70(7): 869-876.
- Fouré E. & Tézenas Du Montcel H. (2000). Les productions bananières: Un enjeu économique majeur pour la sécurité alimentaire. *Bulletin de Liaison (Coopération Régionale pour le Développement des Productions Horticoles en Afrique)*, 18: 23-28.
- Frisvad J. C., Hubka V., Ezekiel C. N., Hong S.-B., Nováková A., Chen A. J., Arzanlou M., Larsen T. O., Sklenář F., Mahakarnchanakul W., Samson R. A. & Houbraken J. (2019). Taxonomy of *Aspergillus* section Flavi and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. *Studies in Mycology*, 93: 1-63.
- Gagnon B. & Ziadi N. (2012). Impact agroenvironnemental de l'utilisation de différents résidus forestiers en grandes cultures. *Journée d'information scientifique Grandes cultures*, 1:1-11.

- GIZ. (2020). Partnership Ready Côte d'Ivoire : Gestion et recyclage des déchets organiques. *Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit*, 1:1-8.
- Gounga M. E., Ado R. I. & Boukary H. (2023). Conséquences des pertes post-récolte des produits maraîchers et stratégies d'adaptation des producteurs ruraux au Niger. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 38(4): 1-10.
- Goyon A. & Mestres C. (2017). Le riz : Bénéfices et risques pour la santé. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 52(4): 202-209.
- Grewal H. S. & Kalra K. L. (1995). Fungal production of citric acid. *Biotechnology Advances*, 13(2): 209-234.
- Gul Z. & Monga M. (2014). Medical and dietary therapy for kidney stone prevention. *Korean Journal of Urology*, 55(12), 775-779.
- Haq I.-U., Ali S., Qadeer M. A. & Iqbal J. (2002). Effect of copper ions on mould morphology and citric acid productivity by *Aspergillus niger* using molasses based media. *Process Biochemistry*, 37:1085-1090.
- Harold M. & Tabo R. (2015). Les cultures céréalières : Riz, maïs, millet, sorgho et blé. Nourrir l'Afrique, Rapport de la FAO, Dakar, Sénégal, 5 p.
- Hölker U., Höfer M. & Lenz J. (2004). Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64(2): 175-186.
- Hölker U. & Lenz J. (2005). Solid-state fermentation—Are there any biotechnological advantages? *Current Opinion in Microbiology*, 8(3): 301-306.
- Huang X., Duan N., Xu H., Xie T. N., Xue Y.-R. & Liu C.-H. (2018). CTAB-PEG DNA Extraction from Fungi with High Contents of Polysaccharides. *Molekuliarnaia Biologija*, 52(4): 718-726.
- Imandi S. B., Bandaru V. V. R., Somalanka S. R., Bandaru S. R. & Garapati H. R. (2008). Application of statistical experimental designs for the optimization of medium constituents for the production of citric acid from pineapple waste. *Bioresource Technology*, 99(10): 4445-4450.
- Ionidis G., Hübscher J., Jack T., Becker B., Bischoff B., Todt D., Hodasa V., Brill F. H. H., Steinmann E. & Steinmann J. (2016). Development and virucidal activity of a novel alcohol-based hand disinfectant supplemented with urea and citric acid. *BMC Infectious Diseases*, 16: 35-77.
- Iqbal J., Haq I., Javed M., Hameed U., Khan A., Parveen N. & Khan T. S. (2015). Isolation of *Aspergillus niger* strains from soil and their screening and optimization for enhanced

- citric acid production using cane molasses as carbon source. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, 5(4): 128-137.
- Iqbal M., Abbas M., Adil M., Nazir A. & Ahmad I. (2019). Aflatoxins biosynthesis, toxicity and intervention strategies : A Review. *Chemistry International*, 3: 168-191.
- Ishige T., Honda K. & Shimizu S. (2005). Whole organism biocatalysis. *Current Opinion in Chemical Biology*, 9(2): 174-180.
- ISO 20244:2018. (2018). Qualité du sol—Méthode de diagnostic applicable à la teneur en eau—Détermination par réfractométrie. *ISO*,1:1- 6.
- Javanmard M. & Endan J. (2010). A survey on rheological properties of fruit jams. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 1: 31-37.
- Jia X., Song J., Wu Y., Feng S., Sun Z., Hu Y., Yu M., Han R. & Zeng B. (2024). Strategies for the enhancement of secondary metabolite production via biosynthesis gene cluster regulation in *Aspergillus oryzae*. *Journal of Fungi*, 10(5): 312.
- Kanté T. H. (2020). Valorisation des variétés de mangue produites au Burkina Faso : Aspects biochimiques, biotechnologiques et nutritionnels. Thèse de Doctorat, UFR Sciences et Technologies, Université Joseph Ki-Zerbo, Ouagadougou, Burkina Faso, 171 p.
- Kaplan D. M. (2019). Encyclopedia of Food and Agricultural Ethics. 2^e éd., Vol. 2. *Springer reference*, Dordrecht, Pays Bas, 2454 p.
- Karaffa L. & Kubicek C. P. (2003). *Aspergillus niger* citric acid accumulation : Do we understand this well working black box? *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61(3): 189-196.
- Keller N. (2019). Fungal secondary metabolism : Regulation, function and drug discovery. *Nature Reviews Microbiology*, 17(3): 167-180.
- Kertes A. S., King C. J. & Blanch H. W. (2009). Extraction chemistry of fermentation product carboxylic acids. *Biotechnology and Bioengineering*, 103(3): 431-445.
- Klich, M. A. (Éd.). (2002). Identification of common *Aspergillus* species. 1^{re} éd., vol. 1. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, Pays-bas, 124 p.
- Kobenan K. N. S., Angbo-Kouakou C. E. M., Saoré K. A. & Kouakou N. D. V. (2023). Disponibilité et valorisation des épiluchures de manioc en alimentation animale en Côte d'Ivoire : Cas de la commune de Yamoussoukro: Availability and valorization of cassava peelings in animal feed in Côte d'Ivoire: case of the commune of Yamoussoukro. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 17(2): 539-548.

- Konan C. & Ricau P. (2010). La filiere anacarde en Côte d'Ivoire acteurs et organisation. 36 p. http://www.rongead.org/IMG/pdf/Synthese_filiere_anacarde_Pierre_light.pdf. Consulté le 6 Avril 2022.
- Kouakou J.-L., Gonedélé-Bi S., Assamoi J.-B. & Assanvo N'Guetta S.-P. (2022). Optimization of the Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) DNA extraction protocol using forest elephant dung samples. *MethodsX*, 9(19): 101867.
- Kouassi E. (2018). Contribution à la valorisation des sous-produits agricoles en bioproduits. These de doctorat, UFR Sciences des Agroressources, Université de Toulouse, (Toulouse, France), 122 p.
- Kouassi E. K. A., Soro Y., Vaca-Garcia C. & Kouassi B. Y. (2017). Valorisation des déchets d'agroressources par bioproduction d'acide citrique. *Journal de La Société Ouest-Africaine de Chimie*, 44: 36-42.
- Koulibaly B., Traoré O., Dakuo D., Zombré P. N. & Bondé D. (2010). Effets de la gestion des résidus de récolte sur les rendements et les bilans culturaux d'une rotation cotonnier-maïs-sorgho au Burkina Faso. *Tropicultura*, 28(3): 1-7.
- Kristiansen B., Linden J. & Matthey M. (1998). Citric Acid Biotechnology: Vol. 11 Bioscience, Physical Sciences (1^{re} éd.). *CRC Press*. Londre, Angleterre, 265 p.
- Książek E. (2024). Citric Acid: Properties, Microbial Production, and Applications in Industries. *Molecules*, 29(1): 1-10.
- Kubicek C. P., Herrera-Estrella A., Seidl-Seiboth V., Martinez D. A., Druzhinina I. S., Thon M., Zeilinger S., Casas-Flores S., Horwitz B. A., Mukherjee P. K., Mukherjee M., Kredics L., Alcaraz L. D., Aerts A., Antal Z., Atanasova L., Cervantes-Badillo M. G., Challacombe J., Chertkov O. & Grigoriev I. V. (2011). Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. *Genome Biology*, 12(4): R40.
- Kumar D., Jain V. K., Shanker, G. & Srivastava A. (2003). Citric acid production by solid state fermentation using sugarcane bagasse. *Process Biochemistry*, 38(12): 1731-1738.
- Kumar M., Kotiyal A. & Ahmadi F. (2024). Banana peel waste as an eco-friendly nutrient medium for improving rooting success in plum (*Prunus salicina*) Cuttings. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 24(3): 4829-4841.
- Lambaré, P. (2015). *Potentiel de sous-produits agro-industriels en Afrique de l'Ouest : Cas du Sénégal, du Mali et du Niger* [Rapport de stage de première partie de CEI].
- Latif, A., Hassan, N., Ali, H., Niazi, M. B. K., Jahan, Z., Ghuman, I. L., Hassan, F., & Saqib, A. (2024). An overview of key industrial product citric acid production by *Aspergillus*

- niger* and its application. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 52 (kuaf007): 1-16.
- Lebailly P., Avadí A., Boutinot L., Garnier B. & Sekongo S. (2023). Analyse de la chaîne de valeur de l'anacarde en Côte d'Ivoire. *Agrinatura*, 172 p.
- Legiša M. & Matthey M. (2007). Changes in primary metabolism leading to citric acid overflow in *Aspergillus niger*. *Biotechnology Letters*, 29(2): 181-190.
- Lende S. V., Karemore H. & Umekar M. J. (2021). Review on production of citric acid by fermentation technology. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 17(3): 085-093.
- Li Q.-Z., Jiang X.-L., Feng X.-J., Wang J.-M., Sun C., Zhang H.-B., Xian M. & Liu H.-Z. (2016). Recovery processes of organic acids from fermentation Broths in the Biomass-Based Industry. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(1): 1-8.
- Li X., Muñoz J. F., Gade L., Argimon S., Bougnoux M. E., Bowers J. R., Chow N. A., Cuesta I., Farrer R. A., Maufrais C., Monroy-Nieto J., Pradhan D., Uehling J., Vu D., Yeats C. A., Aanensen D. M., D'enfert C., Engelthaler D. M., Eyre D. W. & Cuomo C. A. (2023). Comparing genomic variant identification protocols for *Candida auris*. *Microbial genomics*, 9(4), 1-19.
- Lim J. S., Abdul Manan Z., Wan Alwi S. R. & Hashim H. (2012). A review on utilisation of biomass from rice industry as a source of renewable energy. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(5): 3084-3094.
- Lin M. T. & Dianese J. C. (1976). A coconut-agar medium for rapid detection of aflatoxin production by *Aspergillus* spp. *Phytopathology*, 66: 1466-1469.
- LSB. (2011). Protocol for Analytical Methods Used in the Assessment of Properties under Part XV. *Laboratory Services Branch Ministry of the Environment*, 1: 1-89.
- Lu H., Jia Q., Chen L. & Zhang L. (2016). Effect of organic acids on bacterial cellulose produced by *Acetobacter xylinum*. *Research & Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology*, 5(2): 1-6.
- Maimunah M. A., Norhashila H., Samsuzana A. A. & Ola L. (2020). Pineapple (*Ananas comosus*): A comprehensive review of nutritional values, volatile compounds, health benefits, and potential food products. *Food Research International*, 137: 109675.
- Marín F. R., Soler-Rivas C., Benavente-García O., Castillo J. & Pérez-Alvarez J. A. (2007). By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibres. *Food Chemistry*, 100(2): 736-741.

- Max B., Salgado J. M., Rodríguez N., Cortés S., Converti A. & Domínguez J. M. (2010). Biotechnological production of citric acid. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(4): 862-875.
- Medina J., Monreal C., Barea J. M., Arriagada C., Borie F. & Cornejo P. (2015). Crop residue stabilization and application to agricultural and degraded soils: A review. *Waste Management*, 42: 41-54.
- Method 9045D. (2004). Test Method for Evaluating Solid Waste. *Physical Chemical Environmental Protection Agency. No. SW-846*, 1: 1-5.
- Morgunov I. G., Kamzolova S. V. & Lunina J. N. (2018). Citric Acid Production by *Yarrowia lipolytica* Yeast on Different Renewable Raw Materials. *Fermentation*, 4(2): 1-2.
- Motyka-Pomagruk A., Zoledowska S., Kabza M. & Lojkowska E. (2021). PacBio-Based Protocol for Bacterial Genome Assembly. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 2242: 3-14.
- Ndiaye L., Charahabil M. M., Niang L., Diouf A. & Ayessou N. C. (2022). Valeur nutritionnelle et énergétique des pommes de cajou (*Anacardium occidentale* L.) de la Casamance, Sénégal. *Afrique Science Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 21(2), 13-24.
- NFV 04-211. (2011). Lait-Détermination de la teneur en azote- Méthode de Kjeldahl. (04-211; p. 10). Association Française de Normalisation (AFNOR). Paris, France, 10 p.
- N'Guettia M. Y., Kouassi N. & Diallo H. A. (2014). Evaluation of Anthracnose Disease of Mango (*Mangifera indica* L.) Fruits and Characterization of Causal Agent in Côte d'Ivoire. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 2(6):1-10.
- NI ISO 659. (2009). Graines oléagineuses—Détermination de la teneur en huile. *iTeh STANDARD PREVIEW*, 4:1-9.
- Norme ISO 712. (2009). Céréales et produits céréaliers—Détermination de la teneur en eau—Méthode de référence. *iTeh STANDARD PREVIEW*, 4:1-11.
- Norme ISO 2171. (2007). Céréales, légumineuses et produits dérivés—Dosage du taux de cendres par incinération. *iTeh STANDARD PREVIEW*, 4:1-9.
- Nuss E. T. & Tanumihardjo S. A. (2011). Quality Protein Maize for Africa: Closing the Protein Inadequacy Gap in Vulnerable Populations. *Advances in Nutrition*, 2(3): 217-224.
- N'zue B., Okoma M. P., Zohouri G. P., Essis B. S. & Dansi A. A. (2021). Morphological Characterization of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Accessions Collected in the

- Centre-west, South-west and West of Côte d'Ivoire. *Greener Journal of Agricultural Sciences*, 4(6): 220-231.
- OECD & FAO. (2021). *OECD-FAO Agricultural Outlook 2021-2030*. OECD. <https://doi.org/10.1787/19428846-en>. Consulté le 30 Mars 2024.
- Ouédraogo S. A. (2021). Analyse de la chaîne de valeur riz en Côte d'Ivoire—Optimiser l'impact socio-économique et environnemental d'un scénario d'autosuffisance à l'horizon 2030. 1^{re} Ed. Vol 1. *Book stand alone*, (FAO, 1-1), Accra (Ghana), 52 p.
- PacBio. (2020). *Sequencing 101 : From DNA to discovery — the steps of SMRT sequencing*. <https://www.pacb.com/blog/steps-of-smrt-sequencing/> Consulté le 20 Janvier 2025
- Pandey A., Soccol C. R. & Mitchell D. (2000). New developments in solid state fermentation : I-bioprocesses and products. *Process Biochemistry*, 35(10): 1153-1169.
- Papagianni M. (2007). Advances in citric acid fermentation by *Aspergillus niger* : Biochemical aspects, membrane transport and modeling. *Biotechnology Advances*, 25(3): 244-263.
- Papagianni M., Matthey M. & Kristiansen B. (1998). Citric acid production and morphology of *Aspergillus niger* as functions of the mixing intensity in a stirred tank and a tubular loop bioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 2(3), 197-205.
- PCCET. (2022). Côte d'Ivoire : Baisse de la production d'ananas de 188 000 tonnes en deux ans, Chaînes de valeur Compétitives pour l'Emploi et la Transformation économique. Africa24. <https://africa24tv.com/cote-divoire-baisse-de-la-production-dananas-de-188-000-tonnes-en-deux-ans>. Consulté le 15 Juillet 2023.
- Pel H. J., de Winde J. H., Archer D. B., Dyer P. S., Hofmann G., Schaap P. J., Turner G., de Vries R. P., Albang R., Albermann K., Andersen M. R., Bendtsen J. D., Benen J. A. E., van den Berg M., Breestraat S., Caddick M. X., Contreras R., Cornell M., Coutinho P. M. & Stam H. (2007). Genome sequencing and analysis of the versatile cell factory *Aspergillus niger* CBS 513.88. *Nature Biotechnology*, 25(2), 221-231.
- Pitt J. I. & Hocking A. D. (2009). *Aspergillus and Related Teleomorphs*. In J. I. Pitt & A. D. Hocking (Éds.), *Fungi and Food Spoilage* (3^e éd., Vols. 1-14, p. 275-337). Springer US.
- PNIA. (2017). Programme national d'investissement agricole II (2018-2025). Pacte de partenariat, PNIA, Abidjan, Côte d'Ivoire, 13 p.
- Pometto A., Shetty K., Paliyath G. & Levin R. E. (2005). *Food Biotechnology*. 2^e éd., Vol. 1. *CRC Press*. 567 p.

- Portillo R. S. (2022). Déchets industriels : Définition, types, classification et gestion. projetecolo.com. <https://www.projetecolo.com/dechets-industriels-definition-types-classification-et-gestion-914.html>. Consulté le 14 Octobre 2022.
- Porto de Souza L. (2000). Développement d'un procédé pour la production d'acide citrique par fermentation en milieu solide à partir de résidus de l'agro-industrie du manioc. Thèse de doctorat, UFR Génie des procédés industriels, École doctorale Sciences pour l'ingénieur, (Compiègne, France), 188 p
- Prado K. S. & Spinacé M. A. S. (2019). Isolation and characterization of cellulose nanocrystals from pineapple crown waste and their potential uses. *International Journal of Biological Macromolecules*, 122(1): 410-416.
- Pugnet V. (2018). La mangue en Côte d'Ivoire (255; Fiche pays producteur). Fruitrop, 6 p.
- Quatresous N. (2011). Aspergillose humaine : Épidémiologie, diagnostic biologique, contrôle. Thèse de Doctorat, UFR médecine et Santé, Université de Limoges, (Limoges, France) 179 p.
- Rajeev B. (2021). Valorization of Agri-Food Wastes and By-Products (1^{re} éd.). Recent trends, innovations and sustainability challenges. *Elsevier*. Tallinn (Estonie), 3556 p.
- Rapport Final de Benchmark. (2022). Etude sur la gestion durable des déchets menagers et industriels dans les états membres de l'uemoa en vue de la production d'énergie. Rapport final, Abidjan, Côte d'Ivoire, 72 p.
- Rapport sur le marché mondial de l'acide citrique. (2023). Taille, Part, Tendances De L'Industrie Et Prévisions Du Marché De L'Acide Citrique 2023 à 2030. <https://www.databridgemarketresearch.com/fr/reports/global-citric-acid-market>. Consulté le 10 Janvier 2025.
- Rivas B., Torrado A., Torre P., Converti A. & Domínguez J. M. (2008). Submerged citric acid fermentation on orange peel autohydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(7): 2380-2387.
- Robert V., Szoke S., Jabas B., Vu D., Chouchen O., Blom E. & Cardinali G. (2011). BioloMICS Software : Biological Data Management, Identification, Classification and Statistics. *The Open Applied Informatics Journal*, 5(87): 87-98.
- Rørvik L. M., Aase B., Alvestad T. & Caugant D. A. (2003). Molecular epidemiological survey of *Listeria monocytogenes* in broilers and poultry products. *Journal of Applied Microbiology*, 94(4): 633-640.

- Royer A., Marcellis-Warin N., Peignier I., Warin T., Panot M. & Mondin C. (2020). Les enjeux du numérique dans le secteur agricole : Défis et opportunité. Rapport de projet 2020RP-12; Cirano Allier savoir et décision, Québec, Canada, 217 p.
- Ruchi S. (2012). Pathogenecity of *Aspergillus niger* in plants. *Cibtech Journal of Microbiology*, 1(1): 47-51.
- Saidou C. (2024). Les sous-produits animaux et les produits qui en sont dérivés : Valorisation et élimination. Rapport agriculture, Paris, France, 2 p. <https://agriculture.gouv.fr/les-sous-produits-animaux-et-les-produits-qui-en-sont-derives-valorisation-et-elimination>. Consulté le 20 Mars 2024.
- Saito M. & Machida S. (1999). A rapid identification method for aflatoxin-producing strains of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* by ammonia vapor. *Mycoscience*, 40(2): 205-208.
- Samson R. A., Houbraken J., Thrane U., Frisvad J. C. & Andersen B. (2010). Food and Indoor Fungi 2^e éd. Vol. 1. *Centre de biodiversité fongique CBS-KNAW*. Utrecht, Pays-Bas, 390 p.
- Samson R. A., Visagie C. M., Houbraken J., Hong S.-B., Hubka V., Klaassen C. H. W., Perrone G., Seifert K. A., Susca A., Tanney J. B., Varga J., Kocsubé S., Szigeti G., Yaguchi T. & Frisvad J. C. (2014). Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in Mycology*, 78: 141-173.
- Satheeshkumar S., Sivagurunathan P., Muthulakshmi K. & Uma C. (2019). Utilization of fruit waste for the production of citric acid by using *Aspergillus niger*. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(4-A): 9-14.
- Sawant O., Mahale S., Ramchandran V., Nagaraj G. & Bankar A. (2018). Fungal citric acid production using waste materials: a mini-review. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 8(2): 821-828.
- Schuster E., Dunn-Coleman N., Frisvad J. C. & Van Dijck P. W. M. (2002). On the safety of *Aspergillus niger*—A review. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59(4-5): 426-435.
- Semassa A. J., Padonou S. W. & Anihouvi V. B. (2016). Diversité Variétale, Qualité Et Utilisation Du Maïs (*Zea Mays*) En Afrique De l'Ouest : Revue Critique. *European Scientific Journal*, 12(8): 197-217.
- Shamsudin R., Zulkifli N. A. & Kamarul Zaman A. A. (2020). Quality attributes of fresh pineapple-mango juice blend during storage. *International Food Research Journal*, 27(1): 1-10.

- Shazla M., Flint S., Palmer J., Fletcher G. C. & Pitt J. I. (2013). An extension of the coconut cream agar method to screen *Penicillium citrinum* isolates for citrinin production. *Letters in Applied Microbiology*, 57(3): 214-219.
- Show P. L., Oladele K. O., Siew Q. Y., Aziz Zakry F. A., Lan J. C.-W. & Ling T. C. (2015). Overview of citric acid production from *Aspergillus niger*. *Frontiers in Life Science*, 8(3): 271-283.
- Singh P., Draboo S., Singh A., Chaturvedi S., Sharma S. & Verma P. (2016). Citric acid production from different sources under submerged conditions using *Aspergillus niger*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(5): 483-492.
- Singhanian R. R., Patel A. K., Soccol C. R. & Pandey A. (2009). Recent advances in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 44(1): 13-18.
- Smith J. M., Van Ness H. C., Abbot M. M. & Swihart M. T. (2020). Introduction to chemical engineering thermodynamics. *Journal of Chemical Education*, 27(10): 584.
- Soccol C. R. & Vandenberghe L. P. S. (2003). Overview of applied solid-state fermentation in Brazil. *Biochemical Engineering Journal*, 13(2): 205-218.
- Soccol C. R., Vandenberghe L. P. S., Rodrigues C. & Pandey A. (2006). New Perspectives for Citric Acid Production and Application. *Food Technology and Biotechnology Journal*, 44(2), 141-149.
- Sogin M. L., Morrison H. G., Huber J. A., Welch D. M., Huse S. M., Neal P. R., Arrieta J. M. & Herndl G. J. (2006). Microbial diversity in the deep sea and the underexplored “rare biosphere”. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(32): 12115-12120.
- Stajich J. E., Berbee M. L., Blackwell M., Hibbett D. S., James T. Y., Spatafora J. W. & Taylor J. W. (2009). The Fungi. *Current Biology*, 19(18): R840-R845.
- Tabuc C. (2007). Flore fongique de differents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de Doctorat, UFR de Pathologie, Mycologie, Génétique et Nutrition, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, (Toulouse, France) 189 p.
- Thakre N., Prajapati A. K., Mahapatra S. P., Kumar A., Khapre A. & Pal D. (2016). Modeling and optimization of reactive extraction of citric acid. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 61(7): 2614-2623.
- Thompson P. B. & Kaplan D. M. (2012). Fermented food ethics (Encyclopedia of Food and Agricultural Ethics). Springer Verlag. 433 p.
- Trade hub. (2017). Filière Mangué : Un symposium pour dynamiser la filière mangué et générer des richesses. Rapport annuel, *FIRCA*, Korogho, Côte d'Ivoire 28 p.

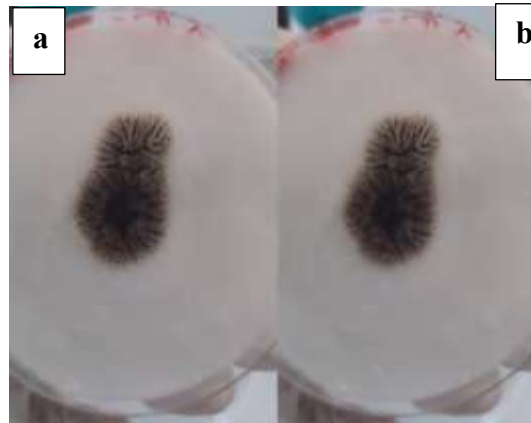
- Tran C. T., Sly L. I. & Mitchell D. A. (1998). Selection of a strain of *Aspergillus* for the production of citric acid from pineapple waste in solid-state fermentation. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 14(3): 399-404.
- Trueb L., Carron P.-N. & Saviuc P. (2013). Intoxication par les champignons. *Revue Médicale Suisse*, 9(394): 1465-1472.
- 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.
- Upton D. J. (2017). In silico guided metabolic engineering of *Aspergillus niger* for sustainable organic acid production. Thèse de Doctorat, UFR de Biologie, Université of York, Toronto, Canada, 404 p.
- Vandenbergh L. P. S., Soccol C. R., Pandey A. & Lebeault J.-M. (2000). Solid-state fermentation for the synthesis of citric acid by *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology*, 74(2): 175-178.
- Varga J., Frisvad J. C. & Samson R. A. (2011). Two new aflatoxin producing species, and an overview of *Aspergillus* section Flavi. *Studies in Mycology* 69: 57-80.
- Vandenbergh L. P. S., Soccol C. R., Pandey A. & Lebeault J.-M. (2000). Solid-state fermentation for the synthesis of citric acid by *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology*, 74(2): 175-178.
- Vipul C., Vivak K., Kavindra S., Ratnesh K. & Vikrant K. (2019). Pineapple (*Ananas cosmosus*) product processing: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(3): 4642-4652.
- Wafaa M. H., Abeer A. M., Hussein A. H., Amra B., Kirill G. T., Miroslava K. & Ronald M. R. (2021). Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.), Waste Streams, Characterisation and Valorisation : An Overview. *Open Journal of Ecology*, 11(9): 610-634.
- Wali N. (2019). Pineapple (*Ananas comosus*). Elsevier, Vol. 3, pp 367-373.
- Wang B., Li H., Zhu L., Tan F., Li Y., Zhang L., Ding Z. & Shi G. (2017). High-efficient production of citric acid by *Aspergillus niger* from high concentration of substrate based on the staged-addition glucoamylase strategy. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 40(6): 891-899.
- Wang B., Zhao S., Tan F., Li H., Chu R., Wang X., Sun H. & Zhang M. (2020). A novel green production process of citric acid on the pilot scale by directly recycling its extraction effluent. *Journal of Cleaner Production*, 277: 124068.

- Wassenaar T., Queste J. & Paillat J.-M. (2016). Le recyclage agricole des résidus organiques : Une ressource naturelle pour en préserver d'autres. *Agronomie Environnement & Sociétés*, 6(1): 1-15.
- West T. P. (2023). Citric Acid Production by *Aspergillus niger* Using Solid-State Fermentation of Agricultural Processing Coproducts. *Applied Biosciences*, 2(1): 1-1.
- Weyda I., Lübeck M., Ahring B. K. & Lübeck P. S. (2014). Point mutation of the xylose reductase (XR) gene reduces xylitol accumulation and increases citric acid production in *Aspergillus carbonarius*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 41(4): 733-739.
- Woinaroschy A., Nica A., Ofișeru I. D. & Lavric V. (2010). Kinetic Models for Citric Acid Production. *Revista de chimie*, 61(10): 978-982.
- World Bank, Ecofys, & United Nations Environment Programme. (2018). Financing Climate Futures : Rethinking Infrastructure. 1^{re} éd., Volume 1-1. OECD Publishing, Paris (France), 132 p.
- Yadav A. N., Kaur T., Devi R., Kour D., Yadav N., Abdel-Azeem A. M., Yadav A. & Ahluwalia S. A. (2021). Bioprospecting for Biomolecules from Industrially Important Fungi : Current Research and Future Prospects. *Springer International Publishing*, 1: 767-791.
- Yafetto L. (2022). Application of solid-state fermentation by microbial biotechnology for bioprocessing of agro-industrial wastes from 1970 to 2020 : A review and bibliometric analysis. *Heliyon*, 8(3): e09173.
- Yaouba A. & Mpounze E. G. (2017). Isolation and Pathogenicity Evaluation of Postharvest Fungal of Some Fruits in Cameroon. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 2(1): 56-60.
- Yeung Y.-G. & Stanley E. R. (2010). Rapid Detergent Removal From Peptide Samples With Ethyl Acetate For Mass Spectrometry Analysis. *Current protocols in protein science*, 1: 1-6.
- Zhang L., Zheng X., Cairns T. C., Zhang Z., Wang D., Zheng P. & Sun J. (2020). Disruption or reduced expression of the orotidine-5'-decarboxylase gene pyrG increases citric acid production : A new discovery during recyclable genome editing in *Aspergillus niger*. *Microbial Cell Factories*, 19(1): 76.
- Zounia, B. L. O. (2019). Evaluation de l'activité de l'huile essentielle de Schinus molle vis-à-vis d'*Aspergillus niger*, moisissure du blé de stockage non traité. Mémoire de Master,

UFR Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi (Bordj Bou Arreridj, Algérie), 152 p.

Zwiercheczewski de Oliveira P., Vandenberghe L. P. de S., Rodrigues C., Soccol C. R., & Pereira G. V. de M. (2024). Exploring cocoa pod husks as a potential substrate for citric acid production by solid-state fermentation using *Aspergillus niger* mutant strain *ResearchGate*, 113(3): 107-112.

ANNEXES



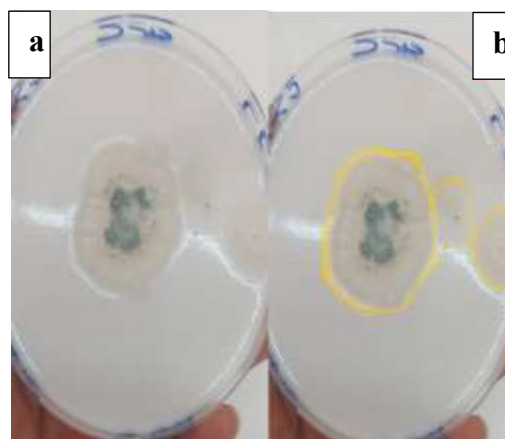
Annexe 1: Souche de *Aspergillus* sp₁. (Groupe 1) non productrice d'aflatoxine

L'image a présente la souche avant exposition à la vapeur d'ammoniaque tandis que l'image b présente la souche après exposition à la vapeur d'ammoniaque (Aucune variation de couleur n'est observée).



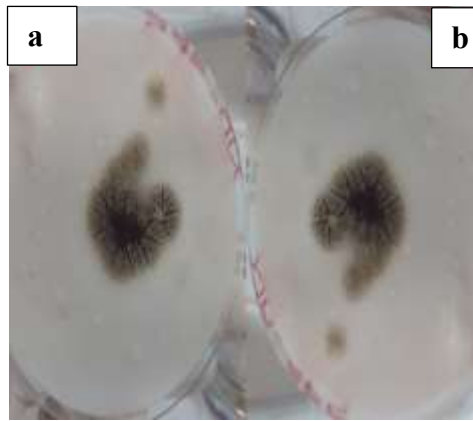
Annexe 2: Souche de *Aspergillus* sp₂. (Groupe 2) productrice d'aflatoxine

L'image a présente la souche avant exposition à la vapeur d'ammoniaque tandis que l'image b présente la souche après exposition à la vapeur d'ammoniaque (variation de couleur observée).

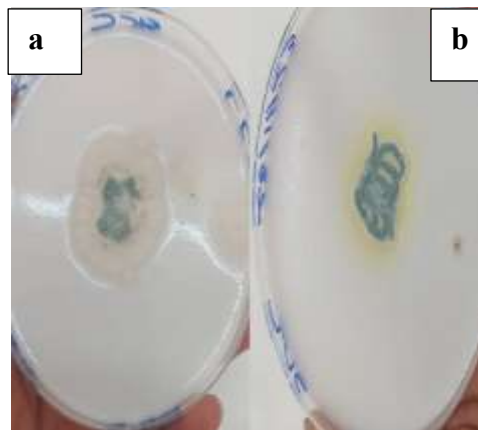


Annexe 3: Souche de *Aspergillus* sp₃. (Groupe 3) productrice d'aflatoxine

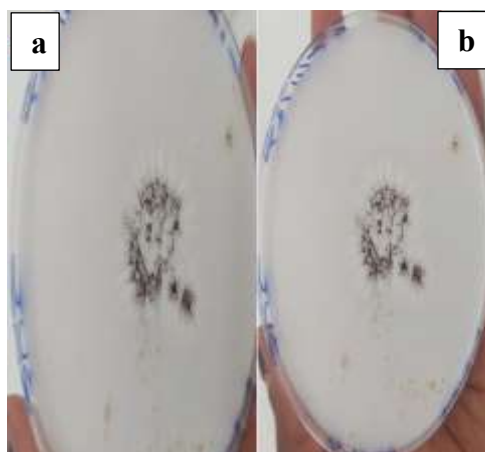
L'image a présente la souche avant exposition à la vapeur d'ammoniaque tandis que l'image b présente la souche après exposition à la vapeur d'ammoniaque (variation de couleur observée).



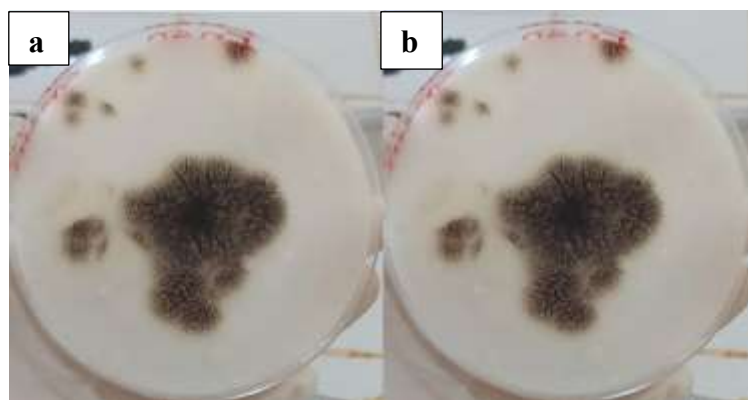
Annexe 4: Souche de *Aspergillus* sp₄. (Groupe 4) non productrice d'aflatoxine
L'image a présente la souche avant exposition à la vapeur d'ammoniaque tandis que l'image b présente la souche après exposition à la vapeur d'ammoniaque (Aucune variation de couleur n'est observée)



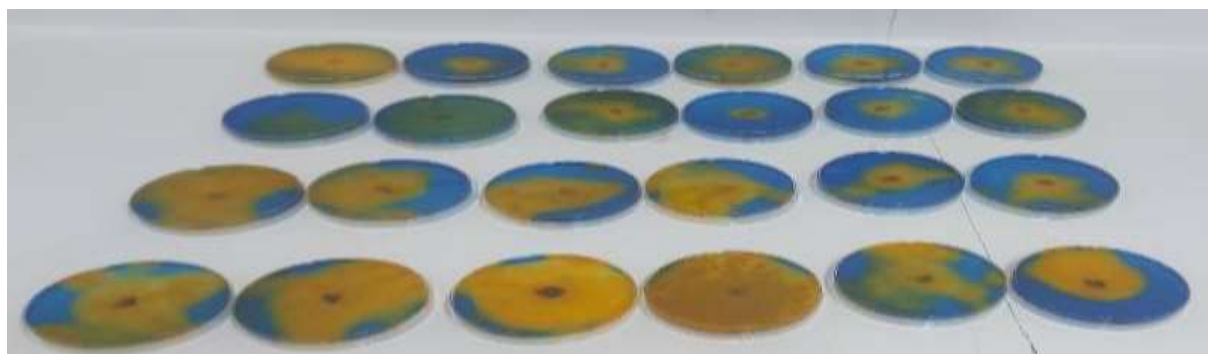
Annexe 5: Souche de *Aspergillus* sp₅. (Groupe 5) productrice d'aflatoxine
L'image a présente la souche avant exposition à la vapeur d'ammoniaque tandis que l'image b présente la souche après exposition à la vapeur d'ammoniaque (variation de couleur observée).



Annexe 6: Souche de *Aspergillus* sp₆. (Groupe 6) non productrice d'aflatoxine
L'image a présente la souche avant exposition à la vapeur d'ammoniaque tandis que l'image b présente la souche après exposition à la vapeur d'ammoniaque (Aucune variation de couleur n'est observée).



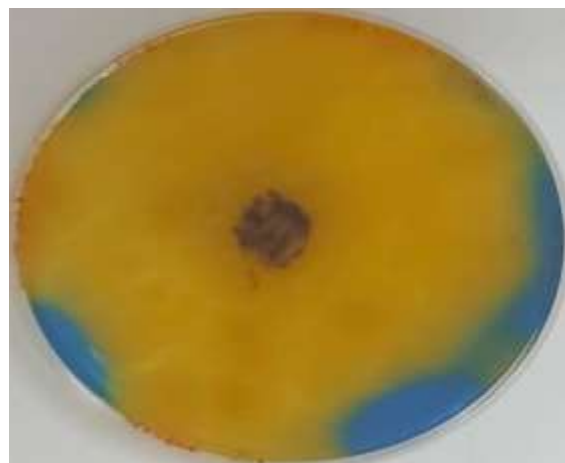
Annexe 7 : Souche de *Aspergillus* sp7. (Groupe 7) non productrice d'aflatoxine
L'image a présente la souche avant exposition à la vapeur d'ammoniaque tandis que l'image b présente la souche après exposition à la vapeur d'ammoniaque (Aucune variation de couleur n'est observée).



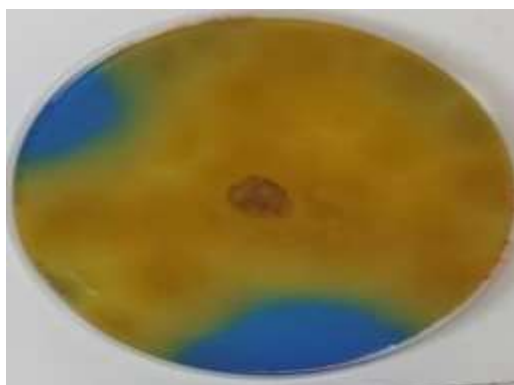
Annexe 8: Capacité des 24 isolats à produire l'acide citrique sur le milieu Czapeck additionné au vert de bromocrésol



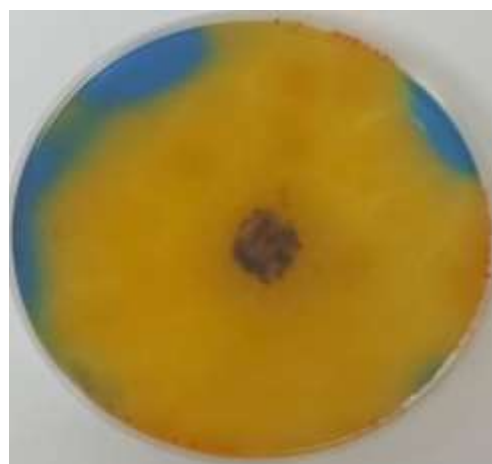
Annexe 9: Production d'acide citrique par
E2



Annexe 11: Production d'acide citrique par
E3



Annexe 10: Production d'acide citrique par
E1



Annexe 12: Production d'acide citrique par
E4

**PUBLICATIONS ET
COMMUNICATION**

Résumé

Le travail a porté sur la valorisation des sous-produits et déchets industriels agricoles par des souches locales de *Aspergillus niger* pour la production d'acide citrique en Côte d'Ivoire. La production d'acide citrique (AC) à partir de résidus agricoles représente une alternative durable aux procédés conventionnels, combinant réduction des coûts, gestion des déchets et réponse à la demande industrielle croissante. Cette étude évalue le potentiel des déchets industriels agricoles et sous-produits agricoles pour la production efficace et continue d'acide citrique à partir de souches locales de *A. niger*. Le potentiel de sept résidus agricoles, dont quatre sous-produits (banane plantain, son de riz, anacarde, mangue) et trois déchets agro-industriels (manioc, maïs, ananas), pour la synthèse d'acide citrique en utilisant des souches locales de *Aspergillus niger* a été démontré. Parmi 24 isolats fongiques initiaux, quatre isolats non toxigènes (E1, E2, E3, E4) appartenant respectivement aux groupes 1, 4, 6 et 7 ont été sélectionnés après isolement et confirmation de l'absence d'aflatoxines sur milieu Coconut Extract Agar et pour leur forte production d'acide citrique, confirmée par des halos jaunes dépassant 15 mm de diamètre sur milieu Czapek-Dox additionné au vert de bromocrésol. L'analyse génomique a révélé que la souche E2 présentait une pureté taxonomique exceptionnelle (92 % de *A. niger*) et une surexpression de gènes clés comme la citrate synthase, la bêta-glucosidase, l'alpha-amylase expliquant ses performances supérieures. Des essais de fermentation à échelle pilote ont évalué l'efficacité des substrats amylicés (maïs, banane) et fruitiers (ananas, anacarde). Les résultats ont montré des rendements record en acide citrique jusqu'à 1,02 g/L d'acide citrique avec des résidus de fruits, et 0,6 g/L d'acide citrique sur les substrats amylicés. Ces résultats sont attribués à la richesse en sucres fermentescibles des résidus et à l'optimisation minérale, où le magnésium joue un rôle stimulateur tandis que l'excès de fer s'avère inhibiteur. Pour l'extraction, l'acétate d'éthyle s'est révélé bien plus efficace que l'éther diéthylique, avec des rendements de purification dépassant 90 % et un rendement massique de 32,5 g/kg pour les déchets d'ananas. Cette approche circulaire valide ainsi la faisabilité d'une production compétitive d'acide citrique en Côte d'Ivoire, combinant la souche élite E2 et des substrats abondants comme l'ananas, l'anacarde, le maïs et la banane plantain. Elle ouvre la voie à une valorisation économique des résidus agricoles, tout en soulignant la nécessité de développer des solvants d'extraction plus écologiques pour renforcer la durabilité du procédé.

Mots clés : Acide citrique, *Aspergillus niger*, résidus agricoles, fermentation en milieu solide.

Abstract

The work focused on the valorization of agricultural by-products and industrial waste by local strains of *Aspergillus niger* for citric acid production in Côte d'Ivoire. The production of citric acid (CA) from agricultural residues represents a sustainable alternative to conventional processes, combining cost reduction, waste management and a response to growing industrial demand. This study assesses the potential of industrial agricultural wastes and by-products for the efficient and continuous production of citric acid from local strains of *A. niger*. The potential of seven agricultural residues, including four by-products (plantain, rice bran, cashew, mango) and three agro-industrial wastes (cassava, maize, pineapple), for citric acid synthesis using local strains of *Aspergillus niger* was demonstrated. Among 24 initial fungal isolates, four non-toxicogenic isolates (E1, E2, E3, E4) belonging respectively to groups 1, 4, 6 and 7 were selected after isolation and confirmation of the absence of aflatoxins on Coconut Extract Agar medium and for their high citric acid production, confirmed by yellow halos exceeding 15 mm in diameter on Czapek-Dox medium supplemented with bromocresol green. Genomic analysis revealed that strain E2 had exceptional taxonomic purity (92% *A. niger*) and overexpression of key genes such as citrate synthase, beta-glucosidase and alpha-amylase, explaining its superior performance. Pilot-scale fermentation trials evaluated the efficiency of starch (corn, banana) and fruit (pineapple, cashew) substrates. Results showed record citric acid yields of up to 1.02 g/L citric acid with fruit residues, and 0.6 g/L citric acid on starchy substrates. These results are attributed to the high fermentable sugar content of the residues and to mineral optimization, with magnesium playing a stimulating role and excess iron an inhibiting one. For extraction, ethyl acetate proved far more effective than diethyl ether, with purification yields in excess of 90% and a mass yield of 32.5 g/kg for pineapple waste. This circular approach thus validates the feasibility of competitive citric acid production in Côte d'Ivoire, combining elite E2 strain with abundant substrates such as pineapple, cashew, maize and plantain. It paves the way for the economic valorization of agricultural residues, while highlighting the need to develop more environmentally-friendly extraction solvents to enhance the sustainability of the process.

Keywords: Citric acid, *Aspergillus niger*, agricultural residues, solid-state fermentation.