



Article original

## Caractérisation physico-chimique et microbiologique des grignons d'olive de 26 huileries traditionnelles de la région de Beni Mellal (Maroc)

*Physicochemical and microbiological characterization of the olive residue of 26 traditional oil mills in Beni Mellal (Morocco)*

Z.MENNANE1\* S.TADA2.I.AKI3 M. FAID3, S.HASSANI1, S.SALMAOUI2

1. Laboratoire de bactériologie générale. Institut National d'hygiène
2. Département des sciences biologique et agronomique, faculté des sciences et technique Beni Mellal
3. Département de Technologie Alimentaire Institut agronomique et vétérinaire Hassan 2

\*auteur correspondant

E-mail : zakaria92t@yahoo.fr

### RESUME :

En vue de déterminer la composition physico-chimique et microbiologique des grignons d'olives, des analyses sur vingt six échantillons ont été effectuées au laboratoire. Les analyses physico-chimiques réalisées sont : la matière sèche, les cendres, la matière azotée totale, la matière grasse et les fibres. Les analyses microbiologiques portent sur la numération des levures, des bactéries lactiques, et de la flore mésophile aérobie totale. Les résultats montrent que la composition chimique des grignons est intéressante sur le plan nutritionnel et l'analyse microbiologique montre une charge importante en micro-organismes d'intérêt technologiques (les levures et la flore lactique). L'analyse physicochimique montre des moyennes de 65,13% , 5,8% , 4,16% , 9,4% et 59 % respectivement pour la matière sèche, les cendres, la matière azotée, la matière grasse et les fibres Ensuite un essai de valorisation par voie biotechnologique à été réalisé au laboratoire. Durant cet essai, des analyses microbiologiques ont été effectuées en vue de sélectionner les meilleures souches capables de pousser sur les grignons. Le résultat de la valorisation montre que les grignons peuvent être transformés par fermentation, pour produire une biomasse probiotique.

**MOTS CLES:** grignon, microbiologie, physicochimie, valorisation

### ABSTRACT:

Twenty six random samples of olive residue were collected from 26 traditional oil mills. Samples were analyzed for microbiological and physico-chemical properties. The former included Total Plate Count (TPC), Lactic acid bacteria (LAB) and Yeasts. The results showed higher counts for all the The microbial profiles found ( LAB and yeasts)

The second included the dry matter (DM), total nitrogen (TN), Determination of the fat content (FC) and fibres.

The results of physicochemical characteristics indicated that the average values were as follows DM: 65,13% , Ashes: 5,8%, TN: 4,16%, FC: 9,4% and 59 %ADF with 36, 17 %d'ADL

(Acid detergent lignin). The test of valorization of the olive residue can be transformed by fermentation, to produce a probiotic biomass

**KEYWORDS:** olive residue, microbiology, physical chemistry, recovery



## INTRODUCTION :

Les industries agricoles et alimentaires engendrent des quantités appréciables de sous produits qui sont pour la plupart peu ou pas valorisés et dont le rejet dans la nature constitue une grande menace pour l'environnement. La disponibilité de ces résidus dépasse un million de tonne par année. La majorité de ces résidus sont caractérisés par une faible valeur alimentaire de part leur composition chimique lignocellulosique et leur faible teneur en protéine.

Au Maroc la culture oléicole occupe un espace de 547600 hectares (MAP 2008) avec une production de 7653800 qa des olives (MAP 2008)

L'industrie de transformation des olives dépassent actuellement 16000 unités traditionnelles (Maâsras) avec une capacité annuelle de trituration de 170 000 t d'olives. Les taux d'extraction d'huile restent faibles et ne dépassent guère les 14 %. (*Agri.Med 2005*)

Les régions à potentiel important de production sont Fès, Taounate, Taza, Marrakech, Agadir, Essaouira et Azilal. Les grignons peuvent être valorisés pour la production du carbone et d'autres substances ou bien utilisés comme un composant dans l'alimentation animale (Alalaoui I 1998) Ils sont utilisés aussi comme des filtres pour la désinfection des eaux contaminés par les nitrates (Z.Salem, 2007) et également utilisés comme un composant d'un fertilisant pour la culture des pommes de terre en Tunisie (F.Sellami, 2008). En Espagne les chercheurs ont montré l'importance des éléments actifs présents dans le grignon pour l'utilisation agricole et pharmaceutique (E.Aranda, 2007).

Les huileries et les maâsras génèrent des quantités importantes des grignons d'olives qui sont brûlés avant ou après épuisement à l'hexane (Ahmed TRIGUI 2008). Les grignons demeurent riches en matière grasse (10%), en fibres (40%) et bien d'autres éléments empêchant leur utilisation comme aliment pour le bétail. La fermentation en milieu solide s'est révélée la technique la plus adaptée du fait qu'elle ne nécessite que des équipements rustiques déjà disponibles dans le milieu rural et donne, par contre, des résultats très satisfaisants.

L'utilisation du grignon est limitée par plusieurs contraintes : qui sont d'une part la variabilité de la composition chimique en raison de la diversité des origines des olives, des procédés et de la présence de différents types d'unités d'extraction d'huile d'olive d'autre part l'absence d'infrastructures de traitement et de circuits de collecte et enfin le manque de données quant à leur disponibilité, leur utilisation et leur destination prioritaire.

Tous ces facteurs font du grignon d'olive un sous-produit très peu valorisé au niveau national. Cette étude a pour objectif de caractériser de point de vue physico-chimique et microbiologique vingt six échantillons de grignons d'olives de la région de Beni Mellal, avec un essai de valorisation par voie biotechnologique réalisé au laboratoire.

## MATERIEL ET METHODES :

### 1. Echantillonnage

26 échantillons de grignons d'olives ont été prélevés à partir de différents maasra traditionnelles de la région de Beni Mellal

### 2. Prélèvements : conditions, quantité, période.

Les échantillons ont été acheminés au laboratoire dans une glacière à 4°C la période de collecte est entre avril et juin 2000.

### 3. Analyse physico-chimiques (réf des normes des essais utilisés)

**3.1. L'Extrait sec total.** Obtenu par étuvage d'une masse pesée du fromage à 105°C / 12h. NM ISO 5534-2001

**3.2 Les cendres :** L'extrait sec est pré calciné, et incinéré dans un four électrique à 500°C / 5h à 6h. **NM ISO 749-2007**

**3.3 La Matière azoté totale** (Méthode de kjeldahl) : A été déterminée par la méthode de Kjeldahl **NM 08.3.030-2001**

**3.4 La matière grasse:** Elle est déterminée en utilisant la méthodes de soxhlet **NM 08.5.054-1996**

**3.5 Les fibres :** Les différentes analyses de détermination de la teneur en constituants pariétaux ont été effectués selon la méthodes de Van Soest et Goering Hk(1970) Réf ???.

### 4. Analyses microbiologiques (réf des normes des essais utilisés)

**4.1 Flore mésophile aérobie totale (FMAT):**

Le dénombrement de la FMAT à été effectué après dilutions appropriées de l'échantillon dans le



bouillon eau peptonée tamponnée puis ensemencement sur milieu Plate Count Agar (PCA) et incubation à 30 °C pendant 72 heures. (NM ISO 4833-2008).

**4.2 Bactéries lactiques :**

L'isolement des bactéries lactiques et effectués sur milieu de Man Rogosa et Sharpe (MRS). L'incubation est effectuée à 30°C pour les espèces mésophiles et à 45°C pour les espèces thermophiles pendant 48 h. Après incubation, les colonies rondes ou lenticulaires sont dénombrées. (NM ISO 15214-2007)

**4.3 Levures :**

La méthode consiste à ensemencer le milieu Potato Dextrose Agar (PDA)(idem Lactobaciles) fortement acidifié (pH 3-3.5) par l'acide lactique. Le dénombrement est effectué après 3 jours d'incubation à 30°C (NM 08.0.123-2005).

**5. Essai de valorisation des grignons d'olive:**

Deux échantillons de grignons ont été placés dans deux petits sceaux puis ensemencés par un ferment des bactéries lactiques et levures et une solution qui contienne un mélange composé de miel de sucre, de l'eau et de Nacl. En vue de suivre les transformations subies par les grignons, des mesures quotidiennes de pH et des analyses microbiologiques effectuées chaque semaine ont été faites pour les deux échantillons.

**5.1- pH:** a été mesuré à l'aide d'un appareil à affichage numérique (consort). Le pH mètre est calibré par deux tampons pH 4 et pH 7. NM 00.2.213

**5.2- Analyses micro biologique**

3.2.1- Flore mésophile aérobie totale (FMAT): voir précédemment

3.2.2-Bactéries lactiques :

La recherche des bactéries lactiques et effectués sur les milieux MRS, Hyper saccharose (HS) qui convient au Leuconostoc et APT qui convient au Pediococcus. Les boîtes sont incubées à 21±1°C pour les Leuconostoc et à 45°C pour les Pediococcus

-Levures : voir précédemment

5.2.3- Identification préliminaire des bactéries lactiques:

On utilisant le Test de catalase, la coloration de Gram, croissance a différentes températures (10,

30 et 45°C), test de production de CO<sub>2</sub>, et la croissance a différentes concentrations de NaCl (2 et 6.5%).

**RESULTATS :**

**1- Résultats physico-chimique :**

Les résultats d'analyse chimique des échantillons de grignons d'olive(Tableau I)montrent que les teneurs moyennes trouvées pour la matière sèche, les cendres, la matière azotée totale, la matière grasse et les fibres sont successivement 65,13%, 4,16%,5,8%,9,4%,et 59 % dont 36, 17 d' Acid detergent lignin (ADL).

**2- Résultats microbiologiques.**

Les résultats d'analyse microbiologique des échantillons de grignon d'olive(le tableau II) montrent que la charge en flore mésophile aérobie totale varie de 2.10<sup>4</sup> à 10<sup>7</sup> ufc/ml, en bactéries lactiques varie de10<sup>5</sup> à 7 10<sup>6</sup> ufc/ml et en levures varie de 2. 10<sup>4</sup> à 3 10<sup>6</sup> ufc/ml.

Les résultats d'identification ( voir Tableau II ) ont révélé la présence d'une souche du genre leuconostoc, deux du genre pediococcus et huit lactobacillus.

**Tableau I :** Les résultats d'analyse physicochimique

Echan n= 30) (	Fibres Adl %	Fibres Adf %	Matière Grasse %	Matière azotée %	cenbre %	Matière sèche%
<b>Min</b>	<b>27,9</b>	<b>51,1</b>	<b>7,6</b>	<b>2,9</b>	<b>2,1</b>	<b>51,8</b>
<b>Max</b>	<b>42,9</b>	<b>70,8</b>	<b>11,2</b>	<b>9,34</b>	<b>13</b>	<b>74</b>
<b>Moy</b>	<b>36,17</b>	<b>59</b>	<b>9,4</b>	<b>5,8</b>	<b>4,16</b>	<b>65,13</b>

**3 Essai de valorisation :** Le suivi de l'essai (tableau II) a montré une diminution de pH de 5,00 a 4.52 pour le premier sceau et de 5.05 a 4.70 pour le deuxième. La FMAT a variée de 2.10<sup>6</sup> à 10<sup>4</sup> ufc/ml durant la période de l'expérience pour 1<sup>er</sup> sceau et de 3.10<sup>7</sup> à 10<sup>5</sup> ufc/ml, alors les *Pediococcus* ont subi une augmentation significative de 10<sup>3</sup> à 3.10<sup>5</sup> ufc/ml pour le 1<sup>er</sup> seau et de 10<sup>5</sup> à 8.10<sup>5</sup> ufc/ml pour le deuxième. Ce qui indique la réussite de l'expérience.



**Tableau II:** résultat d'analyse microbiologique de 16 échantillons

Type de micro-organismes	FMAT	Levure	Bactéries lactiques
Charge (ufc/ml)	2.10 <sup>4</sup> à 1.10 <sup>7</sup>	2. 10 <sup>4</sup> à 3 10 <sup>6</sup>	1 10 <sup>5</sup> à 7 10 <sup>6</sup>
Nombre des souches sélectionnés	-	12	11
Genre identifié	-	-	Leuconostoc (une) Pediococcus. (deux) Lactobacillus (huit) .

## DISCUSSION :

### 1- Discussion physico-chimique

Les teneurs moyennes trouvés pour la matière sèche, les cendres, la matière azotée totale, la matière grasse et les fibres sont remarquables.

Les teneurs élevées en cendres nous permettent de conclure qu'ils sont riches en minéraux. Pour la matière grasse les études ont montrées que la plus grande partie se trouve liée à la fraction pariétale ce qui les rend moins disponibles à l'animal.

Les valeurs de la matière grasse sont élevées ceci permet de conclure que les systèmes d'extraction de l'huile par pression dans les différentes Maâsras artisanales de Beni Mellal n'arrivent pas à extraire totalement la matière grasse des olives.

Le grignon est caractérisé par des taux élevés d'ADL la lignine ce qui explique la faible valeur énergétique de ce dernier. Ceci nous amène à penser à des techniques permettant la valorisation des grignons pour être plus utilisés dans l'alimentation du bétail

Les valeurs trouvées pour les différentes composantes correspondent à ceux trouvés par Nefzaoui et al (1984 - 1985),

la matière sèche est supérieure à celle de F. Sellami, 2007 et Z. Salem 2006 et similaire a celle de F. Aloui, 2007 alors les cendres et la matière azotée sont inférieures a celles de F. Aloui 2007

### 2- discussion microbiologique.

La charge de la flore mésophile aérobie totale des échantillons de grignons d'olive (voir tableau II) à atteint des valeurs élevées, cela est probablement favorisé par:

le stockage prolongé au niveau des vergers au contact du sol et à l'exposition des contaminant microbiens, ainsi qu'à la multiplication des microorganismes au niveau des opérations de trituration et de pressage des olives et le stockage prolongé à l'air libre des grignons dans les maâsras.

Pour les bactéries lactiques les souches identifiées (*Leuconostoc*, *Pediococcus* et les *Lactobacillus*) ont un pouvoir fermentaire assez important ce qui facilite les testes de valorisation des grignons par les souches technologiques( levures et bactéries lactiques) Güner Özay, 1995

### 3 Discussion de l'essai de valorisation

L'essai de valorisation (voir Tableau III) a montré une variation significative du pH et de la flore microbiologiques contrôlées (la flore mésophile aérobie, les bactéries lactiques et les levures) ce qui indique le bon déroulement de la fermentation.

L'enrichissement des grignons par (les deux groupes de micro-organismes) nous a donné un produit fini riche en biomasse probiotique mixte (Bactérie lactique + Levure) qui est bénéfique dans l'alimentation animale, en effet ces micro-organismes sécrètent un grand nombre de substance (Vitamines, Antibiotiques ...) (Philippe Seksik 2007) qui augmentent la valeur nutritionnelle et hygiénique des grignons. Donc c'est plus intéressant d'utiliser les grignons enrichis en biomasse probiotique dans l'alimentation du bétail et parmi les effets positifs de ces probiotiques est l'augmentation de la digestibilité de l'aliment.

L'essai de valorisation des grignons d'olive a montré que ces deniers peuvent être transformés par fermentation, pour produire une biomasse probiotique ou bien pour productions des enzymes à intérêt industriel c'est le cas du travail de J. Cordova (1998). L'enrichissement des déchets alimentaires par des moyens biotechnologiques s'avère un moyen adéquat pour une valorisation des déchets indigestibles tel que les grignons d'olive.



**Tableau III** : résultat de test de valorisation

Levure 10 <sup>5</sup> ufc/ml	Lactobacillus 10 <sup>4</sup> ufc/ml	Pediococcus 10 <sup>3</sup> ufc/ml	Leuconostoc 10 <sup>3</sup> ufc/ml	FMAT 10 <sup>4</sup> ufc/ml	pH	Echant.	
10	100	1	60	200	5.00	Sceau 1	1ère jour
2	100	100	60	3000	5.05	Sceau 2	
8	30	20	4000	20	4.6	Sceau 1	8ème jour
4	500	300	300	200	4.81	sceau 2	
20	1000	300	100	1	4.52	sceau 1	15 ème jour
10	800	800	40	10	4.7	sceau 2	

### Conclusion

L'étude que nous avons réalisée sur les grignons d'olive a permis de dégager les conclusions suivantes :

Les caractéristiques chimiques de ces sous-produits de l'olivier sont comparables aux données apportées par certaine littérature. On remarque une teneur en matière grasse importante relativement à la teneur initiale en huile dans les olives. La teneur en azote est relativement élevée cependant, la plus grande partie est liée à la fraction pariétale. La teneur importante en fibre est représentée en majorité par la lignine.

La composition chimique des grignons s'avère intéressante sur le plan nutritionnel. Sa faible digestion due à la présence des fibres qui reste une contrainte importante.

Les résultats des analyses microbiologiques montrent que les grignons sont chargés en micro-organismes tel que : les levures et les bactéries lactiques (surtout les lactobacilles) qui représentent un intérêt technologique.

L'essai de valorisation des grignons d'olive a montre que ces deniers peuvent être transformés par fermentation, pour produire une biomasse probiotique.

L'enrichissement des déchets alimentaires par des moyens biotechnologiques s'avère un moyen adéquat pour la valorisation des grignons d'olive.



## REFERENCES

- \*Agri.Med : Agriculture, pêche, alimentation et développement durable dans la région méditerranéenne ». édition 2005
- \*Ahmed TRIGUI 2008. Etude en vue de l'élaboration d'un plan d'action pour l'utilisation énergétique des sous produits de l'oliveraie tunisienne ; PNUD-Tunisie/ANME (33/2008)
- \* Aloui. F., Abid .N., Roussos. S., Sayadi. S., 2007 Decolorization of semisolid olive residues of "alperujo" during the solid state fermentation by *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, *Pycnoporus cinnabarinus* and *Aspergillus niger* *Biochemical Engineering Journal* 35 120–125
- \*(Alalaoui I. 1998 : Valorisation des sous produits des industries alimentaires par biotransformation en milieu solide et enrichissement en protéine., XIII congrès international de génie rural. Rabat, 2-6 février 1998.
- \*Aranda .E, Garcí'a-Romera.I, Ocampo .J.A., Carbone V., Mari. A., A. Malorni , Sannino. F. , De Martino. A., Capasso. R., (2007) Chemical characterization and effects on *Lepidium sativum* of the native and bioremediated components of dry olive mill residue *Chemosphere* 69 :229–239.
- \* El jazoli A. . 1998 : Enrichissement protéique des grignons d'olive par fermentation en milieu solide. Thèse en industrie agro alimentaire. Institut agronomique Hassan 2 Rabat., Maroc
- \* Goering, H. K. and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analyses (Apparatus, procedures, and some applications). U.S.D.A., AgE Handb. 379.
- \*Güner Özay, Mehlika Borcakh 1995 , Effect of brine replacement and salt concentration on the fermentation of naturally black olives . *Food Research International*, Volume 28, Issue 6, 1995, Pages 553-559
- \* J. Cordova ., M. Nemmaoui., M. Ismaïli-Alaoui., , A. Morinc, S., Roussos., M. Raimbault and B. Benjilal., (1998) Lipase production by solid state fermentation of olive cake and sugar cane bagasse: *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* ;Volume 5, Issues 1-4, 15, P 75-78
- \* MAP 2008 : ministre d'agriculture et de pêche maritime Maroc.
- \* Nefzaoui A. et Vanbelle M .., 1984. Publication du laboratoire de Biochimie de la Nutrition (UCL). 80 pp.
- \*NM ISO 749-2007 Tourteaux de graines oléagineuses - Détermination des cendres totales ; (IC 08.5.066) 5p.
- \*NM 08.3.030-2001 Jus de fruits et de légumes - Dosage de l'azote – Méthode de Kjeldahl -09 p.
- \*NM 08.5.054-1996 Tourteaux de graines oléagineuses -Détermination de la teneur en matière grasse -06p
- \*NM 08.3.030-2001 Jus de fruits et de légumes - Dosage de l'azote – Méthode de Kjeldahl - 09 p.
- \*NM 08.5.054-1996 Tourteaux de graines oléagineuses. Détermination de la teneur en matière grasse -06p
- \*NM 00.2.213-2008 : Caractérisation des déchets - Analyse des éluats - Détermination du pH et dosage de As, Ba, Cd, Cl<sup>-</sup>, Co, Cr, Cr VI, Cu, Mo, Ni, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, Pb, S total, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, V et Zn ; Rév18p)
- \* Nefzaoui .A, 1985. Sous produits d'olive. Thèse de Doctorat. Université Catholique de Louvain (Belgique).
- \*Philippe Seksik 2007. **Probiotiques** et maladies inflammatoires chroniques intestinales. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. Volume 42, Supplement 2, P 51-59
- \* Sellami .F, Jarbouï .R, Hachicha. S, Medhioub. K, Ammar .E. (2008) Co-composting of oil exhausted olive-cake, poultry manure and industrial residues of agro-food activity for soil amendment. *Bioresource Technology* 99: 1177–1188
- \* Salem. Z., Lebiq.H., Cherafa H. W .K., Allia .K., (2007) Valorisation of olive pits using biological denitrification. *Desalination* 204 :72–78